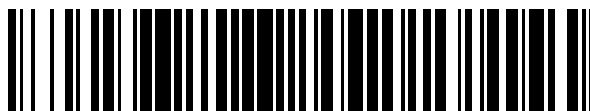


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 391 199**

51 Int. Cl.:
A61K 31/506 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 96 Número de solicitud europea: **06830381 .7**
96 Fecha de presentación: **05.12.2006**
97 Número de publicación de la solicitud: **1959957**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **27.08.2008**

54 Título: **Derivados de pirimidilaminobenzamida para el tratamiento de neurofibromatosis**

30 Prioridad:
06.12.2005 US 742781 P

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
22.11.2012

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
22.11.2012

73 Titular/es:
NOVARTIS AG (100.0%)
LICHTSTRASSE 35
4056 BASEL, CH

72 Inventor/es:
MANLEY, PAUL W.

74 Agente/Representante:
CARVAJAL Y URQUIJO, Isabel

ES 2 391 199 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 pirimidilaminobenzamida para el tratamiento de neurofibromatosis.

Resumen de la invención

5 La presente invención se refiere al uso de derivados de pirimidilaminobenzamida para uso en un método para el tratamiento de, y la preparación de un medicamento para el tratamiento de, tumores cerebrales benignos de neurofibromatosis no cancerosa tipo 1, y realizaciones relacionadas de la invención, todo como se menciona en las reivindicaciones.

10 Antecedentes de la invención

15 WO 2005/049032 se relaciona con la inhibición de la forma mutante de KIT. WO 2004/005281 divulga derivados de pirimidilaminobenzamida y su actividad sobre diferentes tirosina quinasas, incluyendo PDGFR. Badache et al., Oncogene 17(6), p. 795 - 800 (1998) divulga la tirfostina 9 que se enlaza a proteína en forma covalente en su calidad de inhibidora de la proliferación de células de Schwann derivadas de NFS. Weisberg et al., Cancer Cell 7(2), p. 129 - 141 (2005) divulga AMN107 como inhibidor de quinasas. La neurofibromatosis (NF) es un trastorno genético que afecta los huesos, el tejido blando, la piel y el sistema nervioso. Se clasifica en neurofibromatosis tipo 1 (NF1) y neurofibromatosis tipo 2 (NF2), que se presenta aproximadamente en 1 en 3.000 y 1 en 50.000 nacimientos, respectivamente. Los trastornos se presentan como resultado de defectos genéticos, con NF1 que resulta de una mutación sobre un gen localizado en el cromosoma 17 y NF2 en el cromosoma 22.

25 La neurofibromatosis (NF) es un desorden genético que afecta al sistema óseo, tejido suave piel, y nervioso. Se clasifica en la neurofibromatosis tipo 1 (NF1) y neurofibromatosis tipo 2 (NF2), que ocurre en aproximadamente 1 de cada 3.000 y 1 de cada 50.000 nacimientos, respectivamente. Los trastornos se producen como resultado de defectos genéticos, con NF1 resultante de una mutación en un gen localizado en el cromosoma 17 y NF2 en el cromosoma 22.

30 NF1, también conocida como la enfermedad de von Recklinghausen, es una enfermedad hereditaria observada en aproximadamente 1 de cada 4.000 nacidos vivos en los EE.UU. NF1 se caracteriza por una tríada de manchas de color café con leche (decoloraciones de la piel), neurofibromas cutáneos y nódulos de Lisch en el iris. Otras características de este trastorno pueden incluir displasia esquelética, displasias vasculares, problemas de aprendizaje, convulsiones y otros tumores que se originan en la cresta neural, tales como feocromocitomas. Además, alrededor del 10 - 15% de los pacientes con NF1 tienen astrocitomas de bajo grado, y menos comúnmente, ependimomas o meningiomas.

35 NF2, se caracteriza por schwannomas vestibulares bilaterales con síntomas asociados de tinnitus, pérdida de audición y disfunción del equilibrio. Otros hallazgos incluyen schwannomas de otros nervios craneales y periféricos, meningiomas y catarata subcapsular posterior juvenil.

40 Ambas formas de NF se caracterizan por el crecimiento de tumores benignos llamados neurofibromas. Estos tumores pueden crecer en cualquier parte del cuerpo donde haya células nerviosas. Esto incluye nervios justo por debajo de la superficie de la piel, así como los nervios más profundos dentro del cuerpo, la médula espinal y/o el cerebro. Los neurofibromas generalmente se originan en las fibras nerviosas periféricas.

45 En NF1, los neurofibromas crecen más comúnmente sobre la piel o en el nervio del ojo. Un tumor que crece en el nervio del ojo se llama un glioma óptico, y si crece lo suficiente puede causar problemas con la visión, incluso ceguera.

50 Si no se trata, un neurofibroma puede causar un daño severo al nervio lo que conduce a la pérdida de función en el área estimulada por ese nervio, tal como la malformación de los huesos largos, la curvatura de la columna vertebral, baja estatura y deficiencia de la hormona de crecimiento. Los tumores en el nervio óptico puede causar pérdida de la visión, en el tracto gastrointestinal pueden causar sangrado u obstrucción, en el cerebro pueden conducir a dificultades de aprendizaje (problemas del habla), problemas de comportamiento (problemas de aprendizaje o retardo mental), problemas de audición, mayor riesgo de epilepsia.

55 En la actualidad, el único tratamiento disponible para la NF es la cirugía.

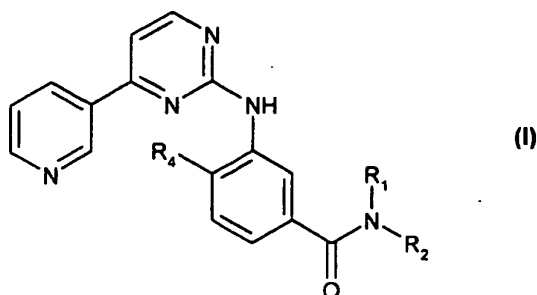
60 El gen para la NF1 codifica neurofibromina, un supresor tumoral postulado para funcionar en parte como una proteína que activa la Ras GTPasa. Ras es un componente secuencia abajo de PDGFR y de señalización de los receptores Kit, que se ha encontrado que se expresa en células positivas para NF1.

Como un inhibidor tanto de PDGFR como de la señalización del receptor Kit, AMN107 tiene el potencial para ser de beneficio en el tratamiento de la NF.

Resumen de la divulgación y de la invención

La presente invención se refiere a las realizaciones mencionadas en las reivindicaciones que se incorporan aquí por referencia.

La presente divulgación también describe el uso de compuestos de pirimidilaminobenzamida de fórmula (I) (en lo sucesivo, "DERIVADOS DE PIRIMIDILAMINO BENZAMIDA"):



en donde

R₁ representa hidrógeno, alquilo inferior, alcoxi inferior-alquilo inferior, aciloxi-alquilo inferior, carboxi-alquilo inferior, alcocarbonilo inferior-alquilo inferior o fenil-alquilo inferior;

R₂ representa hidrógeno, alquilo inferior, opcionalmente sustituido por uno o más radicales idénticos o diferentes R₃, cicloalquilo, benzocicloalquilo, heterociclilo, un grupo arilo, o un grupo heteroarilo mono o bicíclico que contiene 0, 1, 2 o 3 átomos de nitrógeno en el anillo y 0 o 1 átomo de oxígeno y 0 o 1 átomo de azufre, donde dichos grupos en cada caso no están sustituidos o están mono o polisustituidos; y

R₃ representa hidroxilo, alcoxi inferior, aciloxi, carboxi, alcocarbonilo inferior, carbamoilo, carbamoilo *N*-monosustituido o carbamoilo *N,N*-disustituido, amino, amino mono o disustituido, cicloalquilo, heterociclilo, un grupo arilo, o un grupo heteroarilo mono o bicíclico que contiene 0, 1, 2 o 3 átomos de nitrógeno en el anillo y 0 o 1 átomo de oxígeno y 0 o 1 átomo de azufre, donde dichos grupos en cada caso no están sustituidos o están mono o polisustituidos.

R₁ y R₂, juntos, representan alquileno con 4 átomos de carbono, 5 o 6, opcionalmente mono- o di-sustituido por alquilo inferior, cicloalquilo, heterociclilo, fenilo, hidroxilo, alcoxi inferior, amino, amino mono o disustituido, oxo, piridilo, pirazinilo o pirimidinilo; benzalquileno con 4 o 5 átomos de carbono; oxaalquileno con 1 oxígeno y 3 o 4 átomos de carbono; o azaalquileno con 1 nitrógeno y 3 o 4 átomos de carbono en donde el nitrógeno no está sustituido o está sustituido por alquilo inferior, fenil-alquilo inferior, alcocarbonilo inferior-alquilo inferior, carboxi-alquilo inferior, carbamoilo-alquilo inferior, carbamoilo *N*-monosustituido o *N,N*-disustituido-alquilo inferior, cicloalquilo, alcocarbonilo inferior, carboxi, fenilo, fenilo sustituido, piridinilo, pirimidinilo o pirazinilo;

R₄ representa hidrógeno, alquilo inferior o halógeno; y

un *N*-óxido o una sal farmacéuticamente aceptable de dicho compuesto para la preparación de una composición farmacéutica para el tratamiento de enfermedades mieloproliferativas inducidas por FIP1 L1-PDGFR α o por TEL-PDGFR β , especialmente para el tratamiento curativo y/o profiláctico de leucemia mielomonocítica, síndrome hipereosinofílico, leucemia eosinofílica crónica y síndrome hipereosinofílico con resistencia al imatinib o leucemia mielomonocítica con resistencia al imatinib.

La presente divulgación se refiere además al uso de compuestos de fórmula (I) para el tratamiento o la prevención de enfermedades mieloproliferativas inducidas por FIP1 L1-PDGFR α o por TEL-PDGFR β , especialmente para el tratamiento curativo y/o profiláctico de leucemia mielomonocítica, leucemia eosinofílica crónica, síndrome hipereosinofílico y síndrome hipereosinofílico con resistencia al imatinib.

Los términos generales usados aquí anteriormente y en lo sucesivo preferiblemente tienen dentro del contexto de esta divulgación los siguientes significados, a menos que se indique otra cosa:

Donde se menciona más arriba y más adelante fórmula (I), esta puede ser reemplazada con fórmula (II), definiendo entonces las realizaciones de la invención cubiertas por las reivindicaciones.

El prefijo "inferior" denota un radical que tiene hasta y que incluye un máximo de 7 átomos de carbono, especialmente hasta y que incluye un máximo de 4 átomos de carbono, siendo los radicales en cuestión ya sea lineales o ramificados con ramificación simples o múltiples.

Cuando se utiliza la forma plural para compuestos, sales y similares, se entiende que significa también un solo compuesto, sal o similar.

5 Cualquiera de los átomos de carbono asimétricos pueden estar presentes en configuración (R), (S) o (R,S), preferiblemente en configuración (R) o (S). Los compuestos por lo tanto pueden estar presentes como mezclas de isómeros o como isómeros puros, preferiblemente como enantiómeros-diestereómeros puros.

10 La invención se refiere también a tautómeros posibles de los compuestos de fórmula (I).

Alquilo inferior es preferiblemente alquilo desde e incluyendo 1 hasta e incluyendo 7, preferiblemente desde e incluyendo 1 hasta e incluyendo 4, y es lineal o ramificado; preferiblemente, alquilo inferior es butilo, tal como n-butilo, sec-butilo, isobutilo, tert-butilo, propilo, tal como n-propilo o isopropilo, etilo o metilo. Preferentemente alquilo inferior es metilo, propilo o tert-butilo.

15 Acilo inferior es preferiblemente formilo o alquilcarbonilo inferior, en particular, acetilo.

20 Un grupo arilo es un radical aromático que se enlaza a la molécula a través de un enlace localizado en un átomo de carbono del anillo aromático del radical. En una realización preferida, arilo es un radical aromático que tiene 6 - 14 átomos de carbono, especialmente fenilo, naftilo, tetrahidronaftilo, fluorenilo o fenantrenilo y está no sustituido o sustituido con 1 o más, preferiblemente hasta 3, especialmente 1 o 2 sustituyentes, especialmente seleccionados entre amino, amino mono o disustituido, halógeno, alquilo inferior, alquilo inferior sustituido, alquenilo inferior, alquinilo inferior, fenilo, hidroxilo, hidroxilo eterificado o esterificado, nitro, ciano, carboxi, carboxi esterificado, alcanilo, benzoilo, carbamoilo, carbamoilo N-monosustituido o N,N-disustituido, amidino, guanidino, ureido, mercapto, sulfuro, alquiltio inferior, feniltio, fenil-alquiltio inferior, alquilfeniltio inferior, alquilsulfinito inferior, fenilsulfinito, fenil-alquilsulfinito inferior, alquilfenilsulfinito inferior, alquilsulfonilo inferior, fenilsulfonilo, fenil-alquilsulfonilo inferior, alquilfenilsulfonilo inferior, halógeno-alquilmercapto inferior, halógeno-alquilsulfonilo inferior, tal como especialmente trifluorometanosulfonilo, dihidroxiboro (-B(OH)₂), heterociclilo, un grupo heteroarilo mono o bicíclico y dioxi alquilenilo inferior enlazado a átomos de C adyacentes del anillo, tal como dioxi metileno. Arilo es más preferiblemente fenilo, naftilo o tetrahidronaftilo, que en cada caso está no sustituido o sustituido independientemente por 1 o 2 sustituyentes seleccionados entre el grupo que comprende halógeno, especialmente flúor, cloro o bromo; hidroxilo; hidroxilo eterificado por alquilo inferior, por ejemplo, por metilo, por halógeno-alquilo inferior, por ejemplo, trifluorometilo, o por fenilo; dioxi alquilenilo inferior enlazado a dos átomos de C adyacentes, por ejemplo, dioxi metileno, alquilo inferior, por ejemplo metilo o propilo; halógeno-alquilo inferior, por ejemplo, trifluorometilo; hidroxilo -alquilo inferior, por ejemplo, hidroximetilo o 2-hidroxi-2-propilo; alcoxi inferior-alquilo inferior; por ejemplo, metoximetilo o 2-metoxietilo; alcoxycarbonilo inferior-alquilo inferior, por ejemplo, metoxycarbonilmetilo; alquinilo inferior, tal como 1-propinilo; carboxi esterificado, especialmente alcoxycarbonilo inferior, por ejemplo, metoxycarbonilo, n-propoxi carbonilo o iso-propoxi carbonilo; carbamoilo N-monosustituido, en particular, carbamoilo monosustituido por alquilo inferior, por ejemplo, metilo, n-propilo o iso-propilo; amino; alquilamino inferior, por ejemplo, metilamino; di-alquilamino inferior, por ejemplo, dimetilamino o dietilamino; alquilenilo inferior-amino, por ejemplo pirrolidino, o piperidino; oxaalquilenilo inferior-amino, por ejemplo, morfolino, azaalquilenilo inferior-amino, por ejemplo, piperazino, acilamino, por ejemplo, acetilamino o benzoilamino; alquilsulfonilo inferior, por ejemplo, metilsulfonilo; sulfamoilo; o fenilsulfonilo.

45 Un grupo cicloalquilo es preferiblemente ciclopropilo, ciclopentilo, ciclohexilo o cicloheptilo, y puede estar no sustituido o sustituido por 1 o más, especialmente 1 o 2 sustituyentes seleccionados del grupo definido anteriormente como sustituyentes para arilo, más preferiblemente por alquilo inferior, tal como metilo, alcoxi inferior, tal como metoxi o etoxi, o hidroxilo, y además por oxo o fusionado a un anillo benzo, tal como en benzciclopentilo o benzciclohexilo.

50 Alquilo sustituido es alquilo como se definió anteriormente, especialmente alquilo inferior, preferiblemente metilo; en donde 1 o más, especialmente hasta 3 sustituyentes pueden estar presentes, principalmente del grupo seleccionado entre halógeno, especialmente flúor, amino, N-alquilamino inferior, N,N-di-alquilamino inferior, N-alquil amino inferior, hidroxilo, ciano, carboxi, alcoxycarbonilo inferior y fenil-alcoxycarbonilo inferior. Se prefiere especialmente trifluorometilo.

60 Amino mono o di-sustituido es especialmente amino sustituido por 1 o 2 radicales seleccionados independientemente uno de otro entre alquilo inferior, tal como metilo; hidroxilo-alquilo inferior, tal como 2-hidroxietilo; alcoxi inferior - alquilo inferior, tal como metoxi etilo, fenilo-alquilo inferior, tal como bencilo o 2-feniletilo; alcanilo inferior, tal como acetilo; benzoilo; benzoilo sustituido, en donde el radical fenilo está especialmente sustituido por 1 o más, preferiblemente 1 o 2 sustituyentes seleccionados entre nitro, amino, halógeno, N-alquilamino inferior, N,N-di-alquilamino inferior, hidroxilo, ciano, carboxi, alcoxycarbonilo inferior, alcanilo inferior y carbamoilo; y fenil-alcoxycarbonilo inferior, en donde el radical fenilo está no sustituido o especialmente sustituido por 1 o más, preferiblemente 1 o 2 sustituyentes seleccionados entre nitro, amino, halógeno, N-alquilamino inferior, N,N-di-alquilamino inferior, hidroxilo, ciano, carboxi, alcoxycarbonilo inferior, alcanilo inferior, y carbamoilo; y es preferiblemente N-alquilamino inferior, tal como N-metilamino, hidroxilo-alquilamino inferior, tal como 2-hidroxietilamino

o 2-hidroxipropilo, alcoxi inferior - alquilo inferior, tal como metoxi etilo, fenilo-alquilamino inferior, tal como bencilamino, *N,N*-di-alquilamino inferior, *N*-fenil-alquilo inferior-*N*-alquilamino inferior, *N,N*-di-alquilfenilamino inferior, alcanoilamino inferior, tal como acetilamino, o un sustituyente seleccionado del grupo que comprende benzoilamino y fenil-alcoxicarbonilamino inferior, en donde el radical fenilo en cada caso está no sustituido o especialmente sustituido por nitro o amino, o también por halógeno, amino, *N*-alquilamino inferior, *N,N*-di-alquilamino inferior, hidroxilo, ciano, carboxi, alcoxicarbonilo inferior, alcanoilo inferior, carbamoilo o aminocarbonilamino. Amino disustituido es también alquileno inferior-amino, por ejemplo, pirrolidino, 2-oxopirrolidino o piperidino; oxaalquileno inferior-amino, por ejemplo, morfolino, o azaalquileno inferior-amino, por ejemplo piperazino, o piperazino *N*-sustituido, tal como *N*-metilpiperazino o *N*-metoxicarbonilpiperazino.

Halógeno es especialmente flúor, cloro, bromo, o yodo, especialmente flúor, cloro o bromo.

Hidroxilo eterificado es especialmente alquiloxi C₈ - C₂₀, tal como *n*-deciloxi, alcoxi inferior (preferido), tal como metoxi, etoxi, isopropiloxi o *tert*-butiloxi, fenil-alcoxi inferior, tal como benciloxi, feniloxi, halógeno -alcoxi inferior, tal como trifluorometoxi, 2,2,2 trifluoroetoxi o 1,1,2,2-tetrafluoroetoxi, o alcoxi inferior que está sustituido por heteroarilo mono o bicíclico que comprende 1 o 2 átomos de nitrógeno, preferiblemente alcoxi inferior que está sustituido por imidazolilo, tal como 1*H*-imidazol-1-ilo, pirrolilo, bencimidazolilo, tal como 1-bencimidazolilo, piridilo, especialmente 2, 3 o 4-piridilo, pirimidinilo, especialmente 2-pirimidinilo, pirazinilo, isoquinolinilo, especialmente 3-isoquinolinilo, quinolinilo, indolilo o tiazolilo.

Hidroxilo esterificado es especialmente alcanoiloxi inferior; benzoiloxi; alcoxicarboniloxi inferior, tal como *tert*-butoxicarboniloxi; o fenil-alcoxicarboniloxi inferior, tal como benciloxicarboniloxi.

El carboxi esterificado es especialmente alcoxicarbonilo inferior, tal como *tert*-butoxicarbonilo, iso-propoxicarbonilo, metoxicarbonilo o etoxicarbonilo, fenil-alcoxicarbonilo inferior o feniloxicarbonilo.

Alcanoilo es principalmente alquilcarbonilo, especialmente alcanoilo inferior, por ejemplo, acetilo.

Carbamoilo *N*-monosustituido o *N,N*-disustituido está especialmente sustituido por 1 o 2 sustituyentes independientemente seleccionados de alquilo inferior, fenil-alquilo inferior e hidroxilo-alquilo inferior, o alquileno inferior, oxa-alquileno inferior o aza-alquileno inferior opcionalmente sustituido en el átomo de nitrógeno terminal.

Un grupo heteroarilo mono o bicíclico que comprende 0, 1, 2 o 3 átomos de nitrógeno en el anillo y 0 o 1 átomo de oxígeno y 0 o 1 átomo de azufre, grupos que en cada caso están no sustituidos o mono o poli-sustituidos, se refiere a una unidad estructural heterocíclica que está insaturada en el anillo que enlaza al radical heteroarilo al resto de la molécula en la fórmula (I) y es preferiblemente un anillo, en donde en el anillo de enlazamiento, pero opcionalmente también en cualquier anillo unido al mismo, al menos 1 átomo de carbono está reemplazado por un heteroátomo seleccionado del grupo que consiste en nitrógeno, oxígeno y azufre; donde el anillo de enlazamiento tiene preferiblemente 5 a 12 átomos en el anillo, más preferiblemente de 5 o 6 átomos en el anillo; y que puede estar no sustituido o sustituido por 1 o más, especialmente 1 o 2 sustituyentes seleccionados del grupo definido anteriormente como sustituyentes para arilo, más preferiblemente por alquilo inferior, tal como metilo, alcoxi inferior, tal como metoxi o etoxi, o hidroxilo. Preferiblemente, el grupo heteroarilo mono o bicíclico se selecciona entre 2*H*-pirrolilo, pirrolilo, imidazolilo, bencimidazolilo, pirazolilo, indazolilo, purinilo, piridilo, pirazinilo, pirimidinilo, piridazinilo, 4*H*-quinolizínilo, isoquinolilo, quinolilo, ftalazinilo, naftiridinilo, quinoxalilo, quinazolinilo, quinolinilo, pteridinilo, indolizínilo, 3*H*-indolilo, indolilo, isoindolilo, oxazolilo, isoxazolilo, tiazolilo, isotiazolilo, triazolilo, tetrazolilo, furazanilo, benzo[d]pirazolilo, tienilo y furanilo. Más preferiblemente, el grupo heteroarilo mono o bicíclico se selecciona entre el grupo que consiste en pirrolilo; imidazolilo, tal como 1*H*-imidazol-1-ilo; bencimidazolilo, tal como 1-bencimidazolilo; indazolilo, especialmente 5-indazolilo; piridilo, especialmente 2, 3 o 4-piridilo; pirimidinilo, especialmente 2-pirimidinilo; pirazinilo; isoquinolinilo, especialmente 3-isoquinolinilo; quinolinilo, especialmente 4 u 8-quinolinilo; indolilo, especialmente 3-indolilo; tiazolilo; benzo[d]pirazolilo; tienilo y furanilo. En una realización preferida de la invención, el radical piridilo está sustituido por hidroxilo en posición orto con respecto al átomo de nitrógeno y por lo tanto, existe al menos parcialmente en la forma del correspondiente tautómero, que es piridin-(1*H*)2-ona. En otra realización preferida, el radical pirimidinilo está sustituido por hidroxilo, tanto en la posición 2 como en la 4 y por lo tanto existe en varias formas tautómeras, por ejemplo, como pirimidina-(1*H*, 3*H*) 2,4-diona.

Heterociclilo es especialmente un sistema heterocíclico de 5, 6 ó 7 miembros, con 1 o 2 heteroátomos seleccionados del grupo que comprende nitrógeno, oxígeno y azufre, que puede estar insaturado o total o parcialmente saturado, y está no sustituido o sustituido especialmente por alquilo inferior, tal como metilo; fenilo-alquilo inferior, tal como bencilo, oxo o heteroarilo, tal como 2-piperazinilo; heterociclilo es especialmente 2 o 3-pirrolidinilo, 2-oxo-5-pirrolidinilo, piperidinilo, *N*-bencil-4-piperidinilo, *N*-alquilo inferior-4-piperidinilo, *N*-alquilo inferior-piperazinilo, morfolinilo, por ejemplo, 2 o 3-morfolinilo, 2-oxo-1*H*-azepin-3-ilo, 2-tetrahidrofuranilo o 2-metil-1,3-dioxolan-2-ilo.

Las sales son especialmente las sales farmacéuticamente aceptables de compuestos de fórmula (I).

Tales sales se forman, por ejemplo, como sales de adición de ácida, preferiblemente con ácidos orgánicos o inorgánicos, de compuestos de fórmula (I) con un átomo de nitrógeno básico, especialmente las sales

farmacéuticamente aceptables. Los ácidos inorgánicos adecuados son, por ejemplo, ácidos de halógeno, tales como ácido clorhídrico, ácido sulfúrico o ácido fosfórico. Los ácidos orgánicos adecuados son, por ejemplo, ácido carboxílico, fosfónico, sulfónico o sulfámico, por ejemplo, ácido acético, ácido propiónico, ácido octanoico, ácido decanoico, ácido dodecanoico, ácido glicólico, ácido láctico, ácido fumárico, ácido succínico, ácido adípico, ácido pimélico, ácido subérico, ácido azelaico, ácido málico, ácido tartárico, ácido cítrico, aminoácidos, tales como ácido glutámico o ácido aspártico, ácido maleico, ácido hidroximaleico, ácido metilmaleico, ácido ciclohexanocarboxílico, ácido adamantanocarboxílico, ácido benzoico, ácido salicílico, ácido 4-aminosalicílico, ácido ftálico, ácido fenilacético, ácido mandélico, ácido cinámico, ácido metano o etano-sulfónico, ácido 2-hidroxietanosulfónico, ácido etano-1,2-disulfónico, ácido bencenosulfónico, ácido 2-naftalenosulfónico, ácido 1,5-naftaleno -disulfónico, ácido 2, 3 o 4-metilbencenosulfónico, ácido metilsulfúrico, ácido etilsulfúrico, ácido dodecilsulfúrico, ácido *N*-ciclohexilsulfámico, ácido *N*-metil-, *N*-etil o *N*-propil-sulfámico, u otros ácidos protónicos orgánicos, tales como ácido ascórbico.

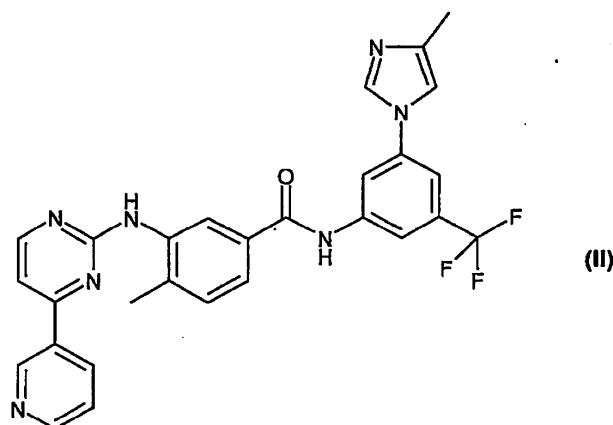
En presencia de radicales cargados negativamente, tales como carboxi o sulfo, las sales también pueden formarse con bases, por ejemplo, sales de amonio o metálicas, tales como sales de metales alcalinos o sales de metales alcalinotérreos, por ejemplo sales de sodio, potasio, magnesio o calcio; o sales de amonio con amoniaco o aminas orgánicas adecuadas, tales como monoaminas terciarias, por ejemplo, trietilamina o tri(2-hidroxietil) amina; o bases heterocíclicas, por ejemplo, *N*-etil-piperidina o *N,N*-dimetilpiperazina.

Cuando un grupo básico y un grupo ácido están presentes en la misma molécula, un compuesto de fórmula (I) también puede formar sales internas.

Para propósitos de aislamiento o purificación también es posible usar sales farmacéuticamente inaceptables, por ejemplo, picratos o percloratos. Para uso terapéutico, se emplean únicamente sales farmacéuticamente aceptables o compuestos libres (cuando sea aplicable en la forma de preparaciones farmacéuticas), y por lo tanto estos son los preferidos.

En vista de la estrecha relación entre los nuevos compuestos en forma libre y aquellos en la forma de sus sales, incluyendo aquellas sales que pueden usarse como productos intermedios, por ejemplo, en la purificación o identificación de los nuevos compuestos, cualquier referencia a los compuestos libres en lo sucesivo y anteriormente, se debe entender que se refiere también a las sales correspondientes, según sea apropiado y conveniente.

Los compuestos dentro del alcance de la fórmula (I) y el proceso para su fabricación se describen en WO 04/005281 publicada el 15 de enero de 2004, que se incorpora a la presente solicitud por referencia. El compuesto para uso o útil de acuerdo con las realizaciones de la invención es 4-metil-3-[[4-(3 -piridinil)-2-pirimidinil] amino] -*N*- [5 - (4-metil-1H-imidazol-1-il)-3-(trifluorometil)fenil]benzamida y *N*-óxidos y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos de fórmula (II):



En cada caso donde aparecen citas de las solicitudes de patentes o publicaciones científicas en particular para los compuestos derivados de PIRIMIDILAMINOBENZAMIDA, el objeto de los productos finales, las preparaciones farmacéuticas y las reivindicaciones se incorporan en la presente solicitud por referencia a estas publicaciones.

La estructura de los agentes activos identificados por números de código, los nombres genéricos o comerciales pueden encontrarse en la edición actual del compendio estándar "The Merck Index" o en bases de datos, por ejemplo, Patentes Internacionales, por ejemplo, IMS World Publications. El contenido correspondiente de los mismos se incorpora aquí por referencia.

Sorprendentemente, se ha encontrado ahora que los DERIVADOS DE PIRIMIDILAMINOBENZAMIDA poseen propiedades terapéuticas, que los hacen particularmente útiles como para tratar tumores cerebrales benignos, no

cancerosos, especialmente neurofibromatosis.

La presente divulgación se refiere por lo tanto al uso de DERIVADOS DE PIRIMIDILAMINOBENZAMIDA para la preparación de un medicamento para el tratamiento de tumores cerebrales benignos no cancerosos, especialmente neurofibromatosis.

La presente divulgación se refiere más particularmente al uso de DERIVADOS DE PIRIMIDILAMINOBENZAMIDA para la preparación de un medicamento para el tratamiento de tumores cerebrales benignos, no cancerosos, especialmente neurofibromatosis.

En otra realización, la presente divulgación proporciona un método para el tratamiento de tumores cerebrales benignos no cancerosos, especialmente NF, que comprende administrar a un mamífero en necesidad de tal tratamiento, una cantidad terapéuticamente efectiva de DERIVADOS DE PIRIMIDILAMINOBENZAMIDA, o de sales farmacéuticamente aceptables o profármacos de los mismos.

La presente divulgación también proporciona un método para tratar mamíferos, especialmente humanos, que sufren de tumores cerebrales benignos no cancerosos, especialmente NF, que comprende administrar a un mamífero que requiera de tal tratamiento, una cantidad inhibidora de 4-metil-3-[[4-(3-piridinil)-2-pirimidinil] amino]-N-[5-(4-metil-1H-imidazol-1-il)-3-(trifluorometil)fenil]benzamida (Compuesto (II)) o una de sus sales farmacéuticamente aceptables.

Preferiblemente, este método se utiliza para tratar NF1 o NF2.

En otra realización, la presente invención se refiere al uso de DERIVADOS DE PIRIMIDILAMINOBENZAMIDA para la preparación de una composición farmacéutica para uso en el tratamiento tumores cerebrales benignos no cancerosos, especialmente NF.

En la presente descripción, tanto las realizaciones divulgadas como las de la invención, el término "tratamiento" incluye tanto el tratamiento profiláctico como el preventivo, así como el tratamiento curativo o supresor de la enfermedad, incluido el tratamiento de pacientes en riesgo de contraer la enfermedad o que se sospecha que han contraído la enfermedad, así como pacientes enfermos. Este término incluye además el tratamiento para el retraso de la progresión de la enfermedad.

El término "curativo", como se usa aquí, significa la eficacia para tratar episodios en curso que implican tumores cerebrales benignos no cancerosos, especialmente NF.

El término "profiláctico" se refiere a la prevención de la aparición o recurrencia de enfermedades que involucran tumores cerebrales benignos no cancerosos, especialmente NF.

El término "retraso en el avance", como se usa aquí, significa la administración del compuesto activo a pacientes que están en una etapa previa o en una fase temprana de la enfermedad a ser tratada, en la que se diagnostica a los pacientes, por ejemplo, una forma previa de la correspondiente enfermedad o donde dichos pacientes están en una condición, por ejemplo durante un tratamiento médico o una condición resultante de un accidente, bajo la cual es probable que se desarrolle una enfermedad correspondiente.

Este rango imprevisible de propiedades significa que el uso de DERIVADOS DE PIRIMIDILAMINOBENZAMIDA son de particular interés para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de tumores cerebrales benignos no cancerosos, especialmente NF.

Para demostrar que los DERIVADOS DE PIRIMIDILAMINOBENZAMIDA son particularmente adecuados para el tratamiento de tumores cerebrales benignos no cancerosos, especialmente NF con buen margen terapéutico y otras ventajas, se pueden llevar a cabo los ensayos clínicos de una forma conocida para la persona calificada.

La dosificación precisa de los DERIVADOS DE PIRIMIDILAMINOBENZAMIDA que se emplea para inhibir tumores cerebrales benignos no cancerosos, especialmente NF depende de diferentes factores que incluyen al huésped, la naturaleza y la severidad de la afección a tratar, el modo de administración. El compuesto de fórmula (I) se puede administrar por cualquier ruta, incluyendo forma oral, parenteral, por ejemplo, intraperitoneal, intravenosa, intramuscular, subcutánea, intratumoral, o rectal, o por vía enteral. Preferiblemente, el compuesto de fórmula (I) se administra por vía oral, preferiblemente en una dosificación diaria de 1 - 300 mg/kg de peso corporal o, para primates más grandes, una dosificación diaria de 50 - 5000 mg, preferiblemente 500 - 3000 mg. Una dosificación oral diaria preferida es 1 - 75 mg / kg de peso corporal o, para primates más grandes, una dosificación diaria de 10 - 2000 mg, administrados como una dosis única o dividida en múltiples dosis, tales como una dosificación dos veces al día.

Por lo general, se administra inicialmente una pequeña dosis y se incrementa gradualmente la dosificación hasta que se determina la dosificación óptima para el huésped bajo tratamiento. El límite superior de dosificación es el impuesto por los efectos secundarios y puede determinarse por ensayo para el huésped que está siendo tratado.

Los compuestos de fórmula (I) se pueden combinar con uno o más portadores farmacéuticamente aceptables y, opcionalmente, uno o más de otros adyuvantes farmacéuticos convencionales y administrarse por vía enteral, por ejemplo, por vía oral, en forma de tabletas, cápsulas, comprimidos ovalados recubiertos, etc., o en forma parenteral, por ejemplo, intraperitoneal o intravenosa, en forma de soluciones inyectables estériles o suspensiones. Las composiciones enterales y parenterales pueden prepararse por medios convencionales.

Los DERIVADOS DE PIRIMIDILAMINO BENZAMIDA divulgados, o en el caso del compuesto de fórmula (II) de acuerdo con la invención, pueden ser utilizados solos o combinados con al menos otro compuesto farmacéuticamente activo para uso en estas patologías. Estos compuestos activos se pueden combinar en la misma preparación farmacéutica o en la forma de preparaciones combinadas "kit de partes" en el sentido de que los compañeros de la combinación pueden dosificarse independientemente o mediante el uso de diferentes combinaciones fijas con cantidades distinguibles de los compañeros de la combinación, es decir, simultáneamente o en diferentes momentos. Las partes del kit de partes pueden entonces administrarse, por ejemplo, en forma simultánea o cronológicamente escalonada, es decir en diferentes momentos y con intervalos de tiempo iguales o diferentes para cualquier parte del kit de partes. Ejemplos no limitantes de compuestos que pueden ser citados para uso en combinación con DERIVADOS DE PIRIMIDILAMINO BENZAMIDA son fármacos quimioterapéuticos citotóxicos, tales como citosina arabinósida, daunorubicina, doxorubicina, ciclofosfamida, VP-16 o imatinib etc. Además, se podrían combinar DERIVADOS DE PIRIMIDILAMINO BENZAMIDA con otros inhibidores de transducción de señal u otros fármacos dirigidos al oncogén con la expectativa de que se presentaría una sinergia significativa.

La divulgación, o en el caso del compuesto de la fórmula (II) de la invención, se refiere además a la combinación de un DERIVADO DE PIRIMIDILAMINO BENZAMIDA como se ha descrito anteriormente con imatinib para el tratamiento de las enfermedades y condiciones descritas anteriormente en esta memoria. La administración de tal combinación puede efectuarse al mismo tiempo, es decir, en forma de una composición o preparación farmacéutica combinada fija, o en forma secuencial o escalonada. Actualmente se prefiere la administración de un DERIVADO DE PIRIMIDILAMINO BENZAMIDA en una forma de dosificación como se ha descrito aquí anteriormente y de imatinib en su forma comercializada de GLEEVEC® en los EE.UU. / GLIVEC® en Europa y con las dosificaciones previstas para estas formas de dosificación.

El tratamiento de tumores cerebrales benignos no cancerosos, especialmente NF con la combinación anterior puede ser al así llamado tratamiento de primera línea, es decir, el tratamiento de una enfermedad recién diagnosticada sin ninguna quimioterapia anterior o similares, o también puede ser el así llamado tratamiento de segunda línea, es decir, el tratamiento de la enfermedad después de un tratamiento precedente con imatinib o con un DERIVADO de PIRIMIDILAMINO BENZAMIDA, dependiendo de la gravedad o de la etapa de la enfermedad, así como de la condición general del paciente, etc.

Ejemplo I

La eficacia de los compuestos de fórmula I como inhibidores de la actividad de c-Kit y de la tirosina quinasa PDGF-R se puede demostrar de la siguiente manera:

BaF3-Tel-PDGFRbeta y BaF3-KitD816V son derivados de células de linfoma de células pro-B de murino BaF3 [la línea de células BaF3 está disponible en la Colección Alemana de Microorganismos y Cultivos Celulares (DSMZ), Braunschweig, Alemania] que se ha vuelto independiente de IL-3 mediante transducción estable con PDGFβ-R de tipo silvestre activado por fusión de Tel (Golub T. R. et al., Cell 77 (2): 307 - 316, 1994) o c-kit activada por mutación con D816V, respectivamente. Las células se cultivan en medio RPMI-1640 (Animed # 1-14F01-I) suplementado con 2% de L-glutamina (Animed # 5-10K50-H) y 10% de suero fetal de ternera (FCS, Animed # 2-01 F16-I). Las células BaF3 no transfectadas de tipo silvestre se mantuvieron en el medio anterior más 10 U/ml de IL-3 (Interleukina-3 de ratón, Roche # 1380745).

Las células se diluyen en medio fresco hasta una densidad final de 3×10^5 células por ml y se sembraron alícuotas de 50 µl en placas de 96 pozos ($1,5 \times 10^4$ células por pozo). Se añaden 50 µl de soluciones de compuestos 2x. Como control interno, se usa rutinariamente el inhibidor de quinasa PKC412. Las células de control tratadas con DMSO (concentración final de 0,1%) sirven como referencia de crecimiento (establecida como crecimiento del 100%). Además, se determina un valor de blanco de placa rutinariamente en un pozo que contiene sólo 100 µl de medio y sin células. Las determinaciones de IC₅₀ se realizan con base en ocho diluciones seriales de 3 veces del compuesto de prueba, partiendo de 10 µM. Después de la incubación de las células durante 48 h a 37° C y 5% de CO₂, se evalúa el efecto de los inhibidores sobre la viabilidad de las células mediante el ensayo de reducción del colorante de la sal de sodio resazurina (comercialmente conocido como ensayo AlamarBlue) básicamente como se describió anteriormente (O'Brien J. et al., Eur. J. Biochem. 267: 5421 - 5426, 2000). Se añaden 10 µl de AlamarBlue por pozo y se incuban las placas durante 6 horas a 37° C y 5% de CO₂. Después de eso, se mide la fluorescencia utilizando un lector de placas Gemini de 96 pozos (Molecular Devices) con los ajustes siguientes: Excitación 544 nm y Emisión de 590 nm. Los datos en bruto adquiridos se exportan a un formato de archivo de Excel. Para el análisis de los datos, se resta el valor de la placa del blanco de todos los puntos de datos. El efecto antiproliferativo de un compuesto por el AlamarBlue leído se calculó entonces como el porcentaje del valor de las células control

establecido como 100%. Los valores de IC_{50} se determinan mediante el programa de software XLfit. Los compuestos de fórmula I muestran una IC_{50} para c-Kit y PDGF β -R en el intervalo de 0,0003 a 20 μ M, especialmente entre 0,001 y 0,1 μ M.

5 Ejemplo 2

10 El gen KIT humano que codifica 544 - 976 aa fue clonado en el plásmido donante de baculovirus pFB-GST-01. Esta secuencia de codificación fue cortada usando endonucleasas de restricción BamH1 y EcoR1 y ligada a un vector donante Bac-to-Bac pFB-GEX-P1 con extremos compatibles. Posteriormente, las mutaciones deseadas fueron introducidas en el gen KIT (por el Dr. M. Heinrich). Debido a un desplazamiento del marco dentro del plásmido original que se usaba para generar las secuencias de codificación mutantes, se cortaron los insertos de plásmido mutados e insertados en el vector donante Bac-to-Bac pFB-GST-01 usando las enzimas de restricción BamH1-EcoR1 para cada mutante. La secuenciación automatizada confirmó la secuencia correcta que estaba presente para cada plásmido mutante.

15 El ADN del plásmido fue generado a partir de 10 colonias cada una de células DH10Bac transformadas con clones de plásmido mutante de pFB-G01-KIT tal como se describe en materiales y métodos y estos transfectados en células Sf9. Las células transfectadas se sedimentaron y se amplificó el baculovirus recombinante resultante presente en el medio sobrenadante. Se aplicó transferencia tipo Western a los sedimentos de células lisadas para confirmar la expresión de la proteína de fusión GST-c-KIT mediante los clones virales usando anti-KIT y anticuerpos anti-GST para inmunodetección.

20

Mutación de Kit	IC_{50} del Compuesto II (μ M) (promedio)
D816F	>10
D816H	>10
D816N	<10
D816Y	>10
D816V	>10
K642E	<10
Y823D	<1
Del 550-558	<2
Del 557-561	<2
N822K	<10
V654A	>10
N822H	<10
Del 550-558 + V654A	<10
Del 557-561 + V654A	>10

25 Se recolectó el medio que contenía al virus del cultivo de células transfectadas y se utilizó para infección para incrementar su título. El medio que contenía el virus obtenido después de dos rondas de infección se utilizó para la expresión de la proteína a gran escala. Para la expresión de la proteína a gran escala se sembraron placas redondas de cultivo de tejido de 100 cm^2 con 5×10^7 células/placa y se infectaron con 1 ml del medio que contenía el virus (aproximadamente 5 MOI). Después de 3 días, se desprendieron las células de la placa y se centrifugó a 500 rpm durante 5 minutos. Los sedimentos celulares de 10 - 20, placas de 100 cm^2 , se resuspendieron en 50 mL de amortiguador de lisis enfriado con hielo (Tris-HCl 25 mM, pH 7,5, EDTA 2 mM, 1% de NP-40, DTT 1 mM, PMSF 1 mM). Las células se agitaron sobre hielo durante 15 minutos y después se centrifugó a 5000 rpm durante 20 minutos.

30

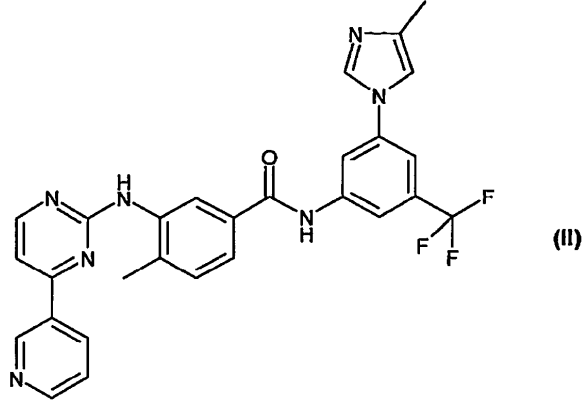
ES 2 391 199 T3

Se cargó el lisado celular centrifugado en una columna de glutatona-Sefarosa de 2 mL (Pharmacia) y se lavó 3 veces con 10 mL de Tris-HCl 25 mM, pH 7,5, EDTA 2 mM, DTT 1 mM, NaCl 200 mM. Se eluyeron luego las proteínas marcadas con GST por medio de 10 aplicaciones (1 mL cada vez) de Tris-HCl 25 mM, pH 7,5, glutatona reducida 10 mM, NaCl 100 mM, DTT 1 mM, 10% de glicerol y se almacenó a -70° C.

5 Se ensayaron las actividades de 200 - 500 ng de la proteína quinasa de los diferentes mutantes de Kit en presencia o en ausencia de inhibidores, Tris-HCl 20 mM, pH 7,6, MnCl₂ 3 mM, MgCl₂ 3 mM, DTT 1 mM, Na₃VO₄ 10 μM, 3 μg/mL de poli (Glu, Tyr) 4 : 1, 1% de DMSO, ATP 1,5 μM (γ[³³P]-ATP 0,1 μCi) . Se llevó a cabo el ensayo (30 μL) en
10 placas de 96 pozos a temperatura ambiente durante 30 minutos y se terminó la reacción mediante la adición de 20 μL de EDTA 125 mM. Posteriormente, se transfirieron 30 μ de la mezcla de reacción a una membrana de PVDF Immobilon (Millipore, Bedford, MA, EE.UU.) previamente remojada durante 5 minutos con metanol, se enjuagó con agua, luego se sumergió durante 5 minutos con H₃PO₄ al 0,5% y se montaron sobre un colector al vacío con la fuente de vacío desconectada. Después de montar todas las muestras, se conectó el vacío y se enjuagó cada pozo con 200 μL H₃PO₄ al 0,5%. Se retiraron las membranas y se lavó 4 veces sobre un agitador con H₃PO₄ al 1,0%, una
15 vez con etanol. Se hizo el recuento de las membranas después del secado a temperatura ambiente, de montarlas en un marco de 96 pozos TopCount de Packard, y de la adición de 10 μL/pozo de Microscint (Packard). Se calcularon los valores de IC₅₀ mediante análisis de regresión lineal del porcentaje de inhibición por duplicado, a 4 concentraciones (habitualmente 0,01, 0,1, 1 y 10 μM). Una unidad de actividad de proteína quinasa se define como 1 nmol de ³³P transferido desde γ[³³P]-ATP al sustrato de proteína / minuto / mg de proteína a temperatura ambiente.

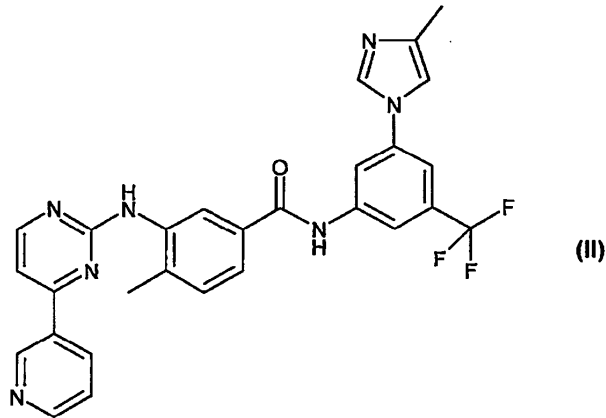
REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula (II), 4-metil-3-[[4-(3-piridinil)-2-pirimidinil]amino]-N-[5-(4-metil-1H-imidazol-1-il)-3-(trifluorometil)fenil] benzamida



5 *N*-óxidos o sales farmacéuticamente aceptables del mismo, para uso en un método para el tratamiento o la prevención de tumores cerebrales benignos de neurofibromatosis no cancerosa tipo 1.

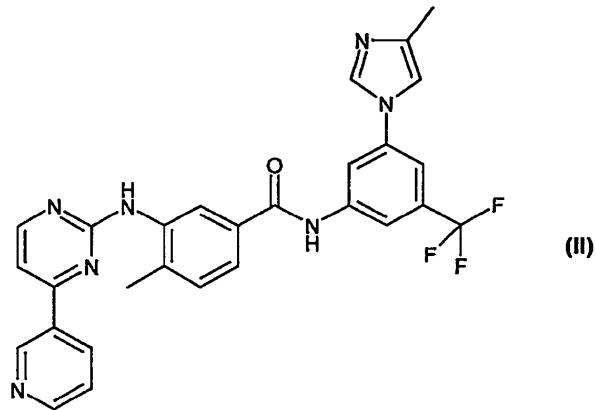
2. El uso de un compuesto de fórmula (II):



o

10 un *N*-óxido o sales farmacéuticamente aceptables del mismo para la preparación de una composición farmacéutica para el tratamiento de tumores cerebrales benignos de neurofibromatosis no cancerosa tipo 1.

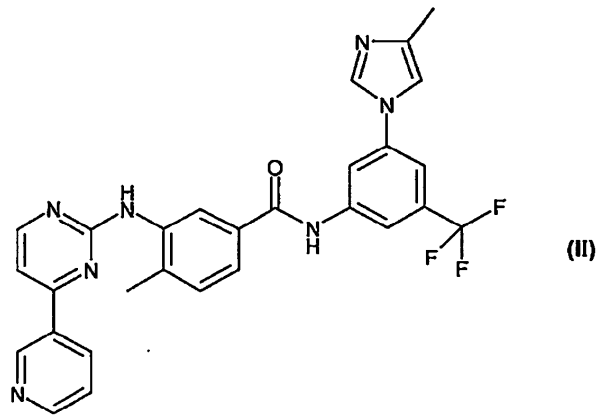
3. Una preparación farmacéutica para uso en un método para el tratamiento de tumores cerebrales benignos de neurofibromatosis no cancerosa tipo 1, que comprende un compuesto de fórmula (II):



o

un *N*-óxido o sales farmacéuticamente aceptables del mismo.

4. Una combinación del compuesto de la fórmula (II):



5

un *N*-óxido o sales farmacéuticamente aceptables del mismo, y al menos otro compuesto farmacéuticamente activo, para uso en el tratamiento de tumores benignos de neurofibromatosis no cancerosa tipo 1.

5. la combinación para uso de acuerdo con la reivindicación 4, en donde el otro compuesto farmacéuticamente activo es imatinib.