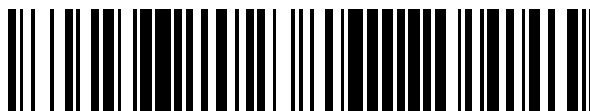


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 661 047**

51 Int. Cl.:

A61P 27/06 (2006.01)

C07D 401/12 (2006.01)

A61K 31/506 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **02.02.2010 PCT/JP2010/051738**

87 Fecha y número de publicación internacional: **12.08.2010 WO10090299**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **02.02.2010 E 10703368 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **20.12.2017 EP 2393552**

54 Título: **Un derivado de cianopirimidina**

30 Prioridad:

03.02.2009 JP 2009022339

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

27.03.2018

73 Titular/es:

**OTSUKA PHARMACEUTICAL CO., LTD. (100.0%)
9, Kandatsukasa-cho 2-chome, Chiyoda-ku
Tokyo 101-8535, JP**

72 Inventor/es:

**SATO, NORIFUMI;
YUKI, YOHEI;
SHINOHARA, HISASHI;
TAKEJI, YASUHIRO;
ITO, KUNI;
MICHIKAMI, DAISAKU;
HINO, KEISUKE y
YAMAZAKI, HIROYUKI**

74 Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

ES 2 661 047 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

Un derivado de cianopirimidina.

Campo técnico

La presente invención se refiere a un nuevo compuesto de cianopirimidina y a una composición y formulación farmacéutica que comprenden el compuesto.

Antecedentes de la técnica

La adenosina es una sustancia que puede exhibir diversas acciones fisiológicas cuando se une a un receptor en una superficie celular. El receptor de adenosina en la superficie celular pertenece a la familia de receptores acoplados a la proteína G, y se clasifica en A1, A2a, A2b y A3. Entre ellos, los receptores de adenosina A1 y adenosina A3 se acoplan a la proteína Gi y su activación resulta en la reducción del nivel de c-AMP intracelular. Además, los receptores de adenosina A2a y adenosina A2b se acoplan a la proteína Gs y su activación resulta en el aumento del nivel de c-AMP intracelular. Cada uno de estos 4 subtipos de receptores de adenosina ha sido clonado.

Ya se ha informado sobre una variedad de estudios sobre agonistas y antagonistas que pueden funcionar con cada uno de los subtipos de receptores de adenosina indicados anteriormente. Entre ellos, se ha informado sobre agonistas del receptor de adenosina A2a que no solo exhiben una acción antihipertensora potente y son útiles como los fármacos mencionados anteriormente, tal como un fármaco antihipertensor, un medicamento para tratar/prevenir la enfermedad isquémica cardíaca o cerebral y un fármaco antiarterioesclerótico, sino que también exhiben acción hipotensora ocular (véase J. Pharmacol. Exp. Ther. 320-326, 273 (1995).

El documento WO 2005/105778 describe compuestos de cianopirimidina que son agonistas del receptor de adenosina A2a. Sin embargo, el documento WO 2005/105778 no describe ningún compuesto de cianopirimidina específico como la presente invención.

Descripción de la invención

(Problema que será resuelto por la invención)

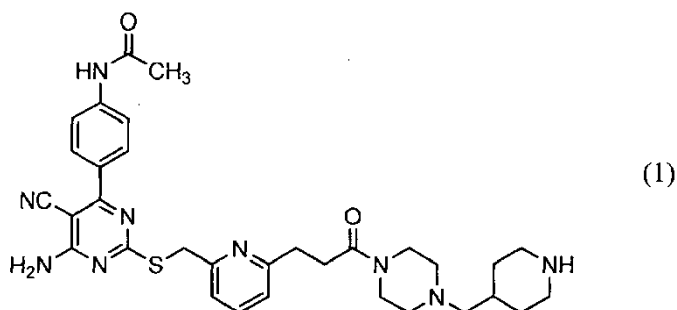
Un objeto de la presente invención es proporcionar un compuesto nuevo que tenga actividad agonista del receptor de adenosina A2a segura y potente.

(Medios para resolver el problema)

Los presentes inventores han estudiado exhaustivamente para alcanzar el objeto indicado anteriormente y han hallado que los siguientes compuestos exhiben acción agonista del receptor de adenosina A2a potente, así como excelente seguridad. Además, los presentes inventores también hallaron que los siguientes compuestos exhiben relajación vascular para la arteria ciliar ocular y neuroprotección en células del ganglio retinal. La presente invención se ha completado mediante estudios adicionales basados en estos hallazgos.

La presente invención proporciona un compuesto de cianopirimidina que se muestra en el siguiente Término 1, una composición y una formulación que comprenden el compuesto, y el compuesto para su uso en un método para el tratamiento o la prevención de una enfermedad ocular.

Término 1. Un compuesto de cianopirimidina de fórmula (1):



o una sal de este.

Término 2. El compuesto de cianopirimidina del término 1 que es N-(4-(6-amino-5-ciano-2-((6-(3-oxo-3-(4-(piperidin-4-ilmetil)piperazin-1-il)propil)piridin-2-il)metiltio)-pirimidin-4-il)fenil)acetamida,

o una sal de este.

Término 3. Una composición farmacéutica que comprende el compuesto del término 1 o 2 o una sal de este, y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

Término 4. La composición farmacéutica del término 3 para uso en el tratamiento o prevención de una enfermedad ocular.

- 5 Término 5. La composición farmacéutica para el uso del término 4, en la que el uso es tratar o prevenir el glaucoma.

Término 6. Uso del compuesto del término 1 o 2 o una sal de este para preparar un medicamento para tratar una enfermedad ocular.

Término 7. Un compuesto del término 1 o 2 o una sal de este para su uso en el tratamiento de una enfermedad ocular.

- 10 Término 8. Una preparación líquida acuosa que comprende la composición farmacéutica del término 3.

Término 9. La preparación líquida acuosa del término 8 que comprende, además, uno o más aditivos seleccionados entre un tampón, un agente isotónico, conservante, un solubilizante y un agente para ajustar el pH farmacéuticamente aceptable.

- 15 Término 10. La preparación líquida acuosa del término 9 en la que el tampón se selecciona entre ácido succínico, ácido bórico, ácido fosfórico y aminoácido, y una sal farmacéuticamente aceptable de este.

Término 11. La preparación líquida acuosa del término 10 en la que el tampón es ácido succínico.

Término 12. La preparación líquida acuosa del término 8 en la que el agente isotónico es uno o dos agentes isotónicos seleccionados entre glucosa, sorbitol, manitol, cloruro de sodio, cloruro de potasio, propilenglicol y glicerina.

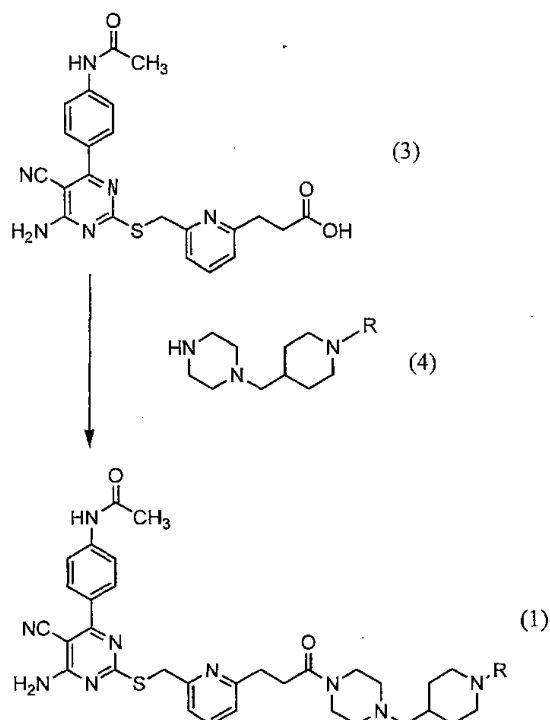
- 20 Término 13. La preparación líquida acuosa del término 9 en la que el conservante se selecciona entre cloruro de benzalconio, cloruro de bencetonio, bromuro de benzododecinio, gluconato de clorhexidina, para-oxibenzoato de metilo, para-oxibenzoato de propilo, clorobutanol y alcohol bencílico.

Término 14. La preparación líquida acuosa de uno cualquiera de los términos 8 a 13 en la que el pH es 5,0 a 9,0.

- 25 Cada grupo definido en la fórmula general mencionada anteriormente se indica de manera específica como se establece a continuación.

Los derivados de pirimidina indicados en la fórmula general (1) mencionada anteriormente se pueden preparar mediante diversos medios. A modo de ejemplo, los derivados se pueden preparar según los siguientes esquemas 1 a 3.

Esquema 1



En los que R es hidrógeno.

El Compuesto (1) se puede preparar al hacer reaccionar el Compuesto (3) o un derivado reactivo de este cuyo grupo carboxílico está activado, y el Compuesto (4) o un derivado reactivo de este cuyo grupo imino está activado.

- 5 La forma reactiva preferible del grupo carboxílico en el Compuesto (3) incluye un haluro de ácido, un anhídrido de ácido, una amida activa y un éster activo. Los ejemplos preferibles de la forma reactiva del grupo carboxílico incluyen un cloruro de ácido; una azida de ácido; un anhídrido mixto de un ácido fosfórico sustituido (p. ej., ácido fosfórico dialquílico, ácido fosfórico fenílico, ácido fosfórico difenílico, ácido fosfórico dibencílico y ácido fosfórico halogendo), un ácido dialquílfosforoso un ácido sulfuroso, un ácido tiosulfúrico, un ácido sulfúrico, un ácido sulfónico (p. ej., ácido metanosulfónico), un ácido alifático (p. ej., ácido acético, ácido propiónico, ácido butírico, ácido isobutírico, ácido pivalico, ácido pentanoico, ácido isopentanoico, ácido 2-etilbutírico, ácido tricloroacético) o ácido aromático (p. ej., ácido benzoico); anhídrido de ácido de simetría; una amida activa de imidazol, imidazol sustituido en 4, dimetilpirazol, triazol o tetrazol; un éster activo (p. ej., éster de cianometilo, éster de metoximetilo, éster de dimetiliminometilo, éster de vinilo, éster de propargilo, éster de p-nitrofenilo, éster de 2,4-dinitrofenilo, éster de triclorofenilo, éster de pentaclorofenilo, éster de mesilfenilo) o un éster con un compuesto N-hidroxi (p. ej., N,N-dimetilhidroxilamina, 1-hidroxi-2-(1H)-piridona, N-hidroxisuccinimida, N-hidroxi-ftalimida, 1-hidroxi-1H-benzotriazol). Se puede seleccionar cualquier compuesto moderado de estos derivados reactivos dependiendo del tipo de Compuesto (3) que se utilizará.

- En caso de que se use el Compuesto (3) como un ácido libre o una sal de este en la reacción mencionada anteriormente, la reacción preferiblemente se puede llevar a cabo en presencia de un agente de condensación. El agente de condensación incluye uno convencional y conocido, por ejemplo, N,N'-diclorohexilcarbodiimida; N-ciclohexil-N'-morfolinoetilcarbodiimida; N-ciclohexil-N'-(4-dietilaminociclohexil)carbodiimida; N,N'-dietilcarbodiimida; N,N'-diisopropilcarbodiimida; N-etil-N'-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida o un clorhidrato de estos; N,N'-carbonil bis(2-metilimidazol); pentametilenoaceteno-N-ciclohexilimina; difenilaceteno-N-ciclohexilimina; etoxiacetileno, 1-alcoxi-1-cloroetileno; trialquil fosfita; etil polifosfato; isopropil polifosfato; oxiclورو de fósforo (cloruro de sulfonylo); tricloruro de fósforo; difenil sulfonyl azida; cloruro de tionilo; cloruro de oxalilo; un (alquilo inferior) haloformiato (p. ej., cloroformiato de etilo, cloroformiato de isopropilo); trifenilfosfina; sal de 2-etil-7-hidroxibencisoxazolio; ion mixto de hidróxido de 2-etil-5-(m-sulfofenil) isoxazolio; hexafluorofosfato de benzotriazol-1-iloxi-tris-(dimetilamino)fosfonio; 1-(p-clorobencenosulfonyloxi)-6-cloro-1H-benzotriazol; reactivo de Vilsmeier que se prepara al hacer reaccionar N,N-dimetilformamida con cloruro de tionilo, fosgeno, cloroformiato de triclorometilo u oxiclورو de fósforo. Más preferiblemente, la reacción se lleva a cabo en presencia del agente de condensación mencionado anteriormente y en conexión con un agente de esterificación activo tal como N-hidroxisuccinimida, N-hidroxi-ftalimida y 1-hidroxi-1H-benzotriazol.

El derivado reactivo preferible del grupo imino en el Compuesto (4) incluye un grupo imino tipo base de Schiff o un tautómero tipo enamina de este que se genera al hacer reacción el Compuesto (4) y un compuesto carbonilo tal como aldehído y cetona; un derivado de sililo que se genera al hacer reaccionar el Compuesto (4) y un compuesto sililo tal como bis(trimetilsilil)acetamida, mono(trimetilsilil)acetamida y bis(trimetilsilil)urea; un derivado que se genera al hacer reaccionar el Compuesto (4) y tricloruro de fósforo o fosgeno.

La reacción se lleva a cabo, en general, en un disolvente convencional que no afecta de manera adversa la reacción, por ejemplo, agua; un disolvente de alcohol tal como metanol, etanol, isopropanol, n-butanol, trifluoroetanol y etilenglicol; un disolvente de cetona tal como acetona y metil etil cetona; un disolvente de éter tal como tetrahidrofurano, dioxano, éter dietílico, éter diisopropílico y diglima; un disolvente de éster tal como acetato de metilo y acetato de etilo; un disolvente polar aprótico tal como acetonitrilo, N,N-dimetilformamida y dimetilsulfóxido; un disolvente de hidrocarburo tal como n-pentano, n-hexano, n-heptano y ciclohexano; un disolvente de hidrocarburo halogenado tal como cloruro de metileno y cloruro de etileno; u otros disolventes orgánicos. Además, la reacción se puede llevar a cabo en una mezcla de los disolventes convencionales mencionados anteriormente.

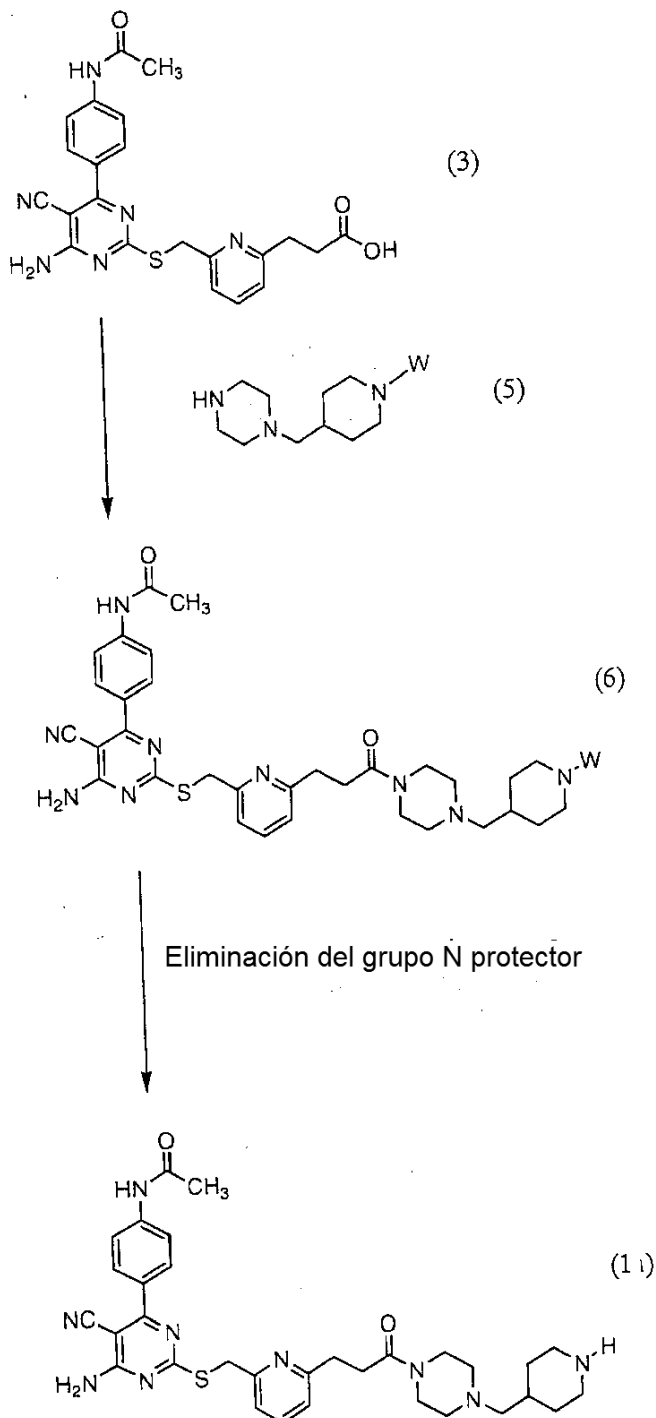
La reacción indicada anteriormente se puede llevar a cabo en presencia de una base. La base incluye una variedad de bases inorgánicas u orgánicas conocidas. La base inorgánica usada en la presente memoria incluye, por ejemplo, de metal alcalino tal como sodio y potasio; de hidrógeno carbonato de metal alcalino tal como hidrógeno carbonato de litio, hidrógeno carbonato de sodio e hidrógeno carbonato de potasio; de hidróxido de metal alcalino tal como hidróxido de litio, hidróxido de sodio, hidróxido de potasio e hidróxido de cesio; de carbonato de metal alcalino tal como carbonato de litio, carbonato de sodio, carbonato de potasio y carbonato de cesio; de alcóxido inferior de metal alcalino tal como metóxido de sodio y etóxido de sodio; de compuesto hidruro de metal alcalino tal como hidruro de sodio e hidruro de potasio. La base orgánica usada en la presente memoria incluye, por ejemplo, trialkilamina tal como trimetilamina, trietilamina y N-etil diisopropilamina; piridina; quinolina; piperidina; imidazol; picolina; dimetilaminopiridina; dimetilanilina; N-metilmorfolina; 1,5-diazabicyclo[4.3.0]non-5-eno (DBN); 1,4-diazabicyclo[2.2.2]octano (DABCO) y 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-eno (DBU). Y, la base también se puede utilizar como disolvente cuando es líquida. La base se puede utilizar como un ingrediente simple o en cualquier combinación de dos o más ingredientes. La cantidad de compuesto básico usado en la presente memoria es generalmente 0,1 a 10 mol por 1 mol de Compuesto (3), preferiblemente 0,1 a 3 mol por 1 mol de Compuesto (3).

La relación entre el Compuesto (3) y el Compuesto (4) usada en el Esquema 2 mostrado anteriormente es al menos 1 mol, preferiblemente 1 a 5 moles de Compuesto (3) por 1 mol de Compuesto (4).

La temperatura de reacción no está limitada y, en general, la reacción se puede llevar a cabo con enfriamiento, a temperatura ambiente o con calentamiento. Preferiblemente, la reacción indicada anteriormente se puede llevar a cabo a temperatura ambiente a 100 °C durante 30 minutos a 30 horas, preferiblemente 30 minutos a 5 horas.

El Compuesto (3) utilizado como material de partida en la reacción indicada anteriormente es un compuesto conocido y el proceso del compuesto se describe a continuación (Esquema 3).

Esquema 2



En el que W es un grupo N protector.

El Compuesto (6) se puede preparar al hacer reaccionar el Compuesto (3) y el Compuesto (5) de manera similar al Esquema 2. Además, el Compuesto (1) se puede preparar mediante la eliminación del grupo N protector.

- 5 El grupo N protector utilizado en la presente memoria como W incluye, por ejemplo, un grupo (alcoxi inferior)carbonilo, un grupo alcanilo inferior y un grupo (alquilo inferior) sustituido con arilo.

El grupo (alcoxi inferior)carbonilo utilizado en la presente memoria incluye un grupo alcóxicarbonilo de cadena lineal o ramificada que contiene 1 a 6 carbonos, por ejemplo, metóxicarbonilo, etóxicarbonilo, propóxicarbonilo, butóxicarbonilo, terc-butoxicarbonilo, pentíloxicarbonilo y hexíloxicarbonilo.

El grupo alcanoilo inferior utilizado en la presente memoria incluyen un grupo alcanoilo de cadena lineal o ramificada que contiene 1 a 6 carbonos, por ejemplo, formilo, acetilo, propionilo, butirilo, isobutirilo, pentanoilo, terc-butilcarbonilo y hexanoilo.

El grupo (alquilo inferior) sustituido con arilo utilizado en la presente memoria incluye, por ejemplo, bencilo, 2-fenilo, 1-fenilo, 3-fenilo, 4-fenilo, 5-fenilo, 6-fenilo, difenilmetilo y tritilo, y un grupo alquilo de cadena lineal o ramificada que contiene 1 a 6 carbonos que está sustituido con 1 a 3 grupos fenilo. El sustituyente en los grupos fenilo incluye, por ejemplo, un grupo alquilo de cadena lineal o ramificada que contiene 1 a 6 carbonos que puede estar opcionalmente sustituido con 1 a 3 grupos seleccionados del grupo que consiste en un átomo de halógeno y un grupo hidroxilo (p. ej., metilo, etilo, propilo, n-butilo, sec-butilo, terc-butilo, n-pentilo, n-hexilo, hidroximetilo, 2-hidroxietilo, 1-hidroxietilo, 3-hidroxipropilo, 2,3-dihidroxipropilo, 4-hidroxibutilo, 1,1-dimetil-2-hidroxietilo, 5,5,4-trihidroxipentilo, 5-hidroxipentilo, 6-hidroxihexilo, 1-hidroxiiisopropilo, 2-metil-3-hidroxipropilo, trifluorometilo, triclorometilo, clorometilo, bromometilo, fluorometilo, yodometilo, difluorometilo, dibromometilo, 2-cloroetilo, 2,2,2-trifluoroetilo, 2,2,2-tricloroetilo, 3-cloropropilo, 2,3-dicloropropilo, 4,4,4-triclorobutilo, 4-fluorobutilo, 5-cloropentilo, 3-cloro-2-metilpropilo, 5-bromohexilo, 5,6-diclorohexilo, 3-hidroxi-2-cloropropilo); un grupo alcoxi de cadena lineal o ramificada que contiene 1 a 6 carbonos que puede estar opcionalmente sustituido con 1 a 3 grupos seleccionados del grupo que consiste en un átomo de halógeno y un grupo hidroxilo (p. ej., metoxi, etoxi, propoxi, n-butoxi, sec-butoxi, terc-butoxi, n-pentiloxi, n-hexiloxi, hidroximetoxi, 2-hidroxietoxi, 1-hidroxietoxi, 3-hidroxipropoxi, 2,3-dihidroxipropoxi, 4-hidroxibutoxi, 1,1-dimetil-2-hidroxietoxi, 5,5,4-trihidroxipentiloxi, 5-hidroxipentiloxi, 6-hidroxihexiloxi, 1-hidroxiiisopropoxi, 2-metil-3-hidroxipropoxi, trifluorometoxi, triclorometoxi, clorometoxi, bromometoxi, fluorometoxi, yodometoxi, difluorometoxi, dibromometoxi, 2-cloroetoxi, 2,2,2-trifluoroetoxi, 2,2,2-tricloroetoxi, 3-cloropropoxi, 2,3-dicloropropoxi, 4,4,4-triclorobutoxi, 4-fluorobutoxi, 5-cloropentiloxi, 3-cloro-2-metilpropoxi, 5-bromohexiloxi, 5,6-diclorohexiloxi, 3-hidroxi-2-cloropropoxi); y un átomo de halógeno (p. ej., átomos de flúor, bromo, cloro, yodo). En caso de que haya 2 o más sustituyentes en el grupo fenilo, los sustituyentes pueden ser idénticos o diferentes.

La eliminación del grupo N protector: W se puede llevar a cabo a través de un modo convencional tal como hidrólisis e hidrogenación. La reacción se lleva a cabo, en general, en un disolvente convencional que no afecta de manera adversa la reacción, por ejemplo, agua; un disolvente de alcohol tal como metanol, etanol, isopropanol, n-butanol, trifluoroetanol y etilenglicol; un disolvente de cetona tal como acetona y metil etil cetona; un disolvente de éter tal como tetrahidrofurano, dioxano, éter dietílico, dimetoxietano y diglima; un disolvente de éster tal como acetato de metilo y acetato de etilo; un disolvente polar aprótico tal como acetonitrilo, N,N-dimetilformamida, dimetilsulfóxido y N-metilpirrolidona; un disolvente de hidrocarburo halogenado tal como cloruro de metileno y cloruro de etileno; u otros disolventes orgánicos. Además, la reacción se puede llevar a cabo en una mezcla de los disolventes convencionales mencionados anteriormente.

(i) Hidrólisis:

La hidrólisis se lleva a cabo, preferiblemente, en presencia de una base o un ácido, incluido un ácido de Lewis.

La base utilizada en la presente memoria incluye bases inorgánicas y bases orgánicas convencionales. La base inorgánica preferible incluye, por ejemplo, un metal alcalino tal como sodio y potasio; un metal alcalinotérreo tal como magnesio y calcio; y un hidróxido, carbonato o hidrógeno carbonato del metal alcalino o el metal alcalinotérreo. La base orgánica preferible incluye, por ejemplo, una trialkilamina tal como trimetilamina y trietilamina; picolina y 1,5-diazabicyclo[4,3,0]non-5-eno.

El ácido utilizado en la presente memoria incluye ácidos orgánicos y ácidos inorgánicos convencionales. El ácido orgánico preferible incluye, por ejemplo, un ácido alifático tal como ácido fórmico, ácido acético y ácido propiónico; y ácido trihaloacético como ácido tricloroacético y ácido trifluoroacético. El ácido inorgánico preferible incluye, por ejemplo, ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, cloruro de hidrógeno y bromuro de hidrógeno. El ácido de Lewis utilizado en la presente memoria incluye, por ejemplo, eterato de trifluoruro de boro, tribromuro de boro, cloruro de aluminio y cloruro férrico.

En caso de que se utilice ácido trihaloacético o un ácido de Lewis como el ácido, la reacción preferiblemente se lleva a cabo en presencia de un sequestrante de cationes tal como anisol y fenol.

La cantidad de la base o ácido utilizada en la presente memoria no está limitada, siempre que la cantidad sea suficiente para la hidrólisis.

La temperatura de reacción es generalmente 0 a 120 °C, preferiblemente temperatura ambiente hasta 100 °C y, más preferiblemente, temperatura ambiente hasta 80 °C. El tiempo de reacción es generalmente 30 minutos a 24 horas, preferiblemente 30 minutos a 12 horas y, más preferiblemente, 1 a 8 horas.

(ii) Hidrogenación:

La hidrogenación utilizada en la presente memoria se puede llevar a cabo por medio de una hidrogenación convencional/conocida. La hidrogenación convencional incluye, por ejemplo, reducción química y reducción catalítica.

El agente reductor preferible utilizado en la reducción química incluyen un hidruro tal como yoduro de hidrógeno, sulfuro de hidrógeno, hidruro de litio aluminio, borohidruro de sodio y cianoborohidruro de sodio; o un metal tal como estaño, zinc y hierro; o una combinación de un compuesto metálico (p. ej., cloruro de cromo, acetato de cromo) y un ácido orgánico o inorgánico (p. ej., ácido fórmico, ácido acético, ácido propiónico, ácido trifluoroacético, ácido p-toluenosulfónico, ácido clorhídrico, ácido bromhídrico).

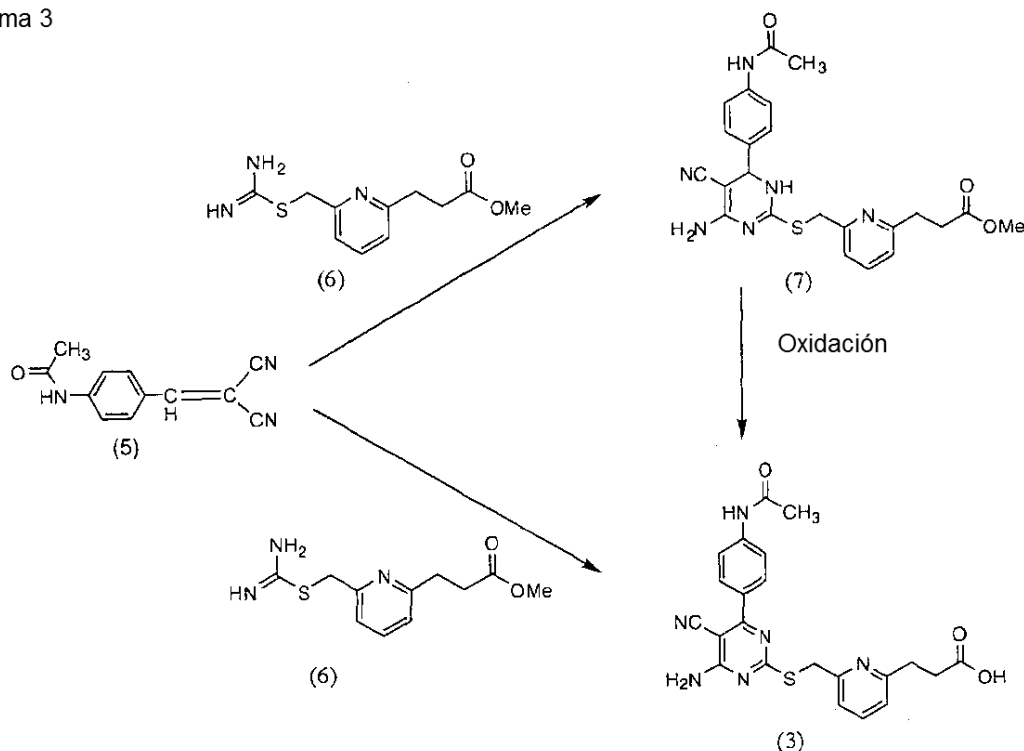
El catalizador preferible utilizando en la reducción catalítica incluye un catalizador de platino tal como una placa de platino, platino espongiforme, negro de platino, platino coloidal, dióxido de platino y alambre de platino; un catalizador de paladio tal como paladio espongiforme, negro de paladio, óxido de paladio, carbón sobre paladio, sulfato de paladio/bario y carbonato de paladio/bario; un catalizador de níquel tal como níquel reducido, óxido de níquel y níquel de Raney; un catalizador de cobalto tal como cobalto reducido y cobalto de Raney y un catalizador de hierro tal como hierro reducido.

El ácido utilizado en la reducción química también se puede utilizar como disolvente cuando es líquido.

La cantidad de agente reductor o catalizador utilizado en la reducción catalítica puede ser una cantidad utilizada en general.

La temperatura de reacción es generalmente 0 a 120 °C, preferiblemente temperatura ambiente hasta 100 °C y, más preferiblemente, temperatura ambiente hasta 80 °C. El tiempo de reacción es generalmente 30 minutos a 24 horas, preferiblemente 30 minutos a 10 horas y, más preferiblemente, 30 minutos a 4 horas.

Esquema 3



El Compuesto (3) se puede preparar al hacer reaccionar el Compuesto (5) y el Compuesto (6). La reacción se lleva a cabo según la referencia (El-Sharabsy, S.A.; Abdel Gawad, S. M.; Hussain, S. M.; J.Prakt. Chem., 1989, 331 (2), 207) o un método similar a este.

La reacción se lleva a cabo, en general, en un disolvente convencional que no afecta de manera adversa la reacción, por ejemplo, agua; un disolvente de alcohol tal como metanol, etanol, isopropanol, n-butanol, trifluoroetanol y etilenglicol; un disolvente de cetona tal como acetona y metil etil cetona; un disolvente de éter tal como tetrahydrofurano, dioxano, éter dietílico y diglima; un disolvente de éster tal como acetato de metilo y acetato de etilo; un disolvente polar aprótico tal como acetonitrilo, N,N-dimetilformamida y dimetilsulfóxido; un disolvente de hidrocarburo halogenado tal como cloruro de metileno y cloruro de etileno; u otros disolventes orgánicos. Además, la reacción se puede llevar a cabo en una mezcla de los disolventes convencionales mencionados anteriormente.

La reacción indicada anteriormente se puede llevar a cabo sin un compuesto catalítico o en presencia de un catalizador ácido. En general, la reacción se lleva a cabo, preferiblemente, en presencia de un compuesto básico. El compuesto básico incluye bases inorgánicas y orgánicas generales.

- La base inorgánica usada en la presente memoria incluye, por ejemplo, de metal alcalino tal como sodio y potasio; de hidrógeno carbonato de metal alcalino tal como hidrógeno carbonato de litio, hidrógeno carbonato de sodio e hidrógeno carbonato de potasio; de hidróxido de metal alcalino tal como hidróxido de litio, hidróxido de sodio, hidróxido de potasio e hidróxido de cesio; de carbonato de metal alcalino tal como carbonato de litio, carbonato de sodio, carbonato de potasio y carbonato de cesio; de (alcóxido inferior) de metal alcalino tal como metóxido de sodio y etóxido de sodio; de compuesto hidruro de metal alcalino tal como hidruro de sodio e hidruro de potasio.
- La base orgánica usada en la presente memoria incluye, por ejemplo, trialkilamina tal como trimetilamina, trietilamina y N-etil diisopropilamina; piridina; quinolina; piperidina; imidazol; picolina; dimetilaminopiridina; dimetilnilina; N-metilmorfolina; DBN, DABCO y DBU.
- El compuesto básico se puede utilizar como un ingrediente simple o en cualquier combinación de dos o más ingredientes.
- La cantidad de compuesto básico usado en la presente memoria es generalmente una cantidad catalítica hasta 10 veces/mol de Compuesto (5), preferiblemente equivalente a 3,5 veces/ mol de Compuesto (5). El compuesto básico también se puede utilizar como disolvente cuando es líquido.
- La relación entre el Compuesto (6) y el Compuesto (5) es al menos 1 mol por 1 mol de Compuesto (6), preferiblemente 1 a 5 moles de Compuesto (5) por 1 mol de Compuesto (6).
- La temperatura de reacción no está limitada y, en general, la reacción se puede llevar a cabo con enfriamiento, a temperatura ambiente o con calentamiento. Preferiblemente, la reacción indicada anteriormente se puede llevar a cabo a reflujo durante 1 a 30 horas.
- Cuando se produce en la reacción la dihidro-forma Compuesto (7) como intermediario, el Compuesto (7) se puede oxidar adicionalmente para proporcionar el Compuesto (8).
- La oxidación del Compuesto (7) se puede llevar a cabo a través de un método convencional utilizado en el campo técnico. El agente de oxidación preferible incluye, por ejemplo, 2,3-dicloro-5,6-diciano-p-benzoquinona (DDQ) y N-bromosuccinimida (NBS).
- La reacción de oxidación se lleva a cabo, en general, pura o en un disolvente convencional que no afecta de manera adversa la reacción, por ejemplo, un disolvente de alcohol tal como metanol, etanol, isopropanol, n-butanol, trifluoroetanol y etilenglicol; un disolvente de cetona tal como acetona y metil etil cetona; un disolvente de éter tal como tetrahidrofurano, dioxano, éter dietílico y diglima; un disolvente de éster tal como acetato de metilo y acetato de etilo; un disolvente polar aprótico tal como acetonitrilo, N,N-dimetilformamida y dimetilsulfóxido; un disolvente de hidrocarburo halogenado tal como cloruro de metileno y cloruro de etileno; u otros disolventes orgánicos. Además, la reacción se puede llevar a cabo en una mezcla de los disolventes convencionales mencionados anteriormente.
- La cantidad de agente de oxidación usado en la presente memoria es generalmente una cantidad catalítica hasta un exceso/mol de Compuesto (7).
- La temperatura de reacción no está limitada y, en general, la reacción se puede llevar a cabo con enfriamiento, a temperatura ambiente o con calentamiento. Preferiblemente, la reacción indicada anteriormente se puede llevar a cabo a reflujo durante 0,5 a 75 horas.
- El Compuesto (7) en el Esquema 3 mostrado anteriormente incluye un isómero alrededor del sitio del enlace doble en el anillo.
- El Compuesto (4) utilizado como material de partida es un compuesto conocido disponible.
- El material de partida utilizado en el esquema mostrado anteriormente puede ser una sal adecuada de este, y los compuestos deseados en cada reacción también pueden ser sales adecuadas.
- Los compuestos deseados de cada proceso que se muestran en cada esquema indicado anteriormente y los compuestos de la invención se pueden aislar o purificar según un método convencional, por ejemplo, al separar un producto de reacción bruto mediante enfriamiento, filtración, concentración y extracción, y luego purificar el producto bruto mediante cromatografía, recristalización.
- La sal preferible del Compuesto (1) es una sal farmacéuticamente aceptable e incluye, por ejemplo, una sal con base inorgánica tal como sal de metal (p. ej., una sal de metal alcalino tal como sal de sodio y sal de potasio, una sal de metal alcalinotérreo, tal como sal de calcio o sal de magnesio), sal de amonio, carbonato de metal alcalino (p. ej., carbonato de litio, carbonato de potasio, carbonato de sodio, carbonato de cesio), hidrógeno carbonato de metal alcalino (p. ej., hidrógeno carbonato de litio, hidrógeno carbonato de sodio, hidrógeno carbonato de potasio) e hidróxido de metal alcalino (p. ej., hidróxido de litio, hidróxido de sodio, hidróxido de potasio, hidróxido de cesio);

una sal con base orgánica tal como trialkil(inferior)amina (p. ej., trimetilamina, trietilamina, N-etil-diisopropilamina), piridina, quinolina, piperidina, imidazol, picolina, dimetilaminopiridina, dimetilalanilina, N-alkil(inferior)-morfolino (p. ej., N-metilmorfolina), DBN, DBU y DABCO;

una sal de ácido inorgánico tal como clorhidrato, bromhidrato, yodhidrato, sulfato, nitrato, fosfato; y

- 5 una sal de ácido orgánico tal como formiato, acetato, propionato, oxalato, malonato, succinato, fumarato, maleato, lactato, malato, citrato, tartrato, carbonato, picrato, metanosulfonato, etanosulfonato y p-toluenosulfonato, glutamato.

El material de partida utilizado en los esquemas mostrados anteriormente puede ser una sal de este como el Compuesto (1) indicado anteriormente, y los compuestos deseados en cada reacción también pueden ser sales adecuadas.

- 10 Además, los solvatos de los materiales de partida y los compuestos deseados (p. ej., hidrato y etanolato) se incluyen en cada fórmula general. El solvato preferible incluye un hidrato.

Los presentes compuestos de la fórmula general (1) incluyen un isómero tal como un isómero geométrico, estereoisómero e isómero óptico.

- 15 La presente invención también incluye el compuesto de fórmula (1) en donde uno o más átomos incluidos en el compuesto se reemplazan con uno o más isótopos de estos. Los ejemplos del isótopo que se puede incorporar en el presente compuesto incluyen, por ejemplo, isótopos de hidrógeno, carbono, nitrógeno, oxígeno, azufre, flúor y cloro, y en mayor detalle, ^2H , ^3H , ^{13}C , ^{14}C , ^{15}N , ^{17}O , ^{18}O , ^{18}F y ^{36}Cl . El compuesto de etiquetado con isótopo específico que contiene el o los isótopos mencionados anteriormente y/o el o los isótopos de otro u otros átomos, por ejemplo, el compuesto que incluye el radioisótopo o los radioisótopos tales como ^3H y ^{14}C , es útil para un ensayo topográfico del compuesto y/o la sustancia. El compuesto de etiquetado con tritio (es decir, ^3H) o etiquetado con isótopo C-14 (es decir, ^{14}C) es especialmente preferible desde el punto de vista de su facilidad para preparar y su detectabilidad. Además, también se espera que el compuesto que tiene un isótopo o isótopos más pesados tales como deuterio (es decir, ^2H) aporte algunos beneficios terapéuticos tales como la mejora de la estabilidad metabólica (p. ej., semivida aumentada in vivo) y la reducción de la dosificación. Los presentes compuestos que incluyen un átomo o átomos de isótopo se pueden preparar, en general, por medio de los esquemas mencionados anteriormente y/o los siguientes ejemplos, utilizando cualesquiera reactivos de etiquetado con isótopos disponibles.
- 20
- 25

- Los compuestos de la invención y las sales de estos tienen una actividad agonista del receptor de adenosina A2a y, por consiguiente, son útiles como agonista del receptor de adenosina A2a para mamíferos, incluidos seres humanos. Por consiguiente, la presente invención también proporciona composiciones farmacéuticas como medicamento, tal como el agonista del receptor de adenosina A2a.
- 30

De aquí en adelante, la composición farmacéutica se denomina opcionalmente «la presente composición farmacéutica».

- La presente composición farmacéutica se puede preparar para una formulación farmacéutica habitual que comprende una cantidad eficaz de al menos un compuesto seleccionado del grupo que consiste en los compuestos de la invención y las sales de estos, y algunos vehículos farmacéuticamente aceptables. Los vehículos farmacéuticamente aceptables utilizados en la composición farmacéutica de la invención pueden ser un sólido tal como un excipiente o un líquido tal como un diluyente. Los ejemplos de estos vehículos incluyen, por ejemplo, lactosa, estearato de magnesio, almidón, talco, gelatina, agar, pectina, goma arábiga, aceite de oliva, aceite de sésamo, manteca de cacao, etilenglicol y agua purificada.
- 35

- Además, la presente composición farmacéutica se puede preparar en una formulación de unidad de dosificación adecuada para la administración. Los ejemplos incluyen una formulación sólida y líquida adecuada para administración oral tal como un comprimido, pastilla, cápsula, gránulo, polvo y líquido, así como una formulación para administración parenteral tal como inyección (inyección intravenosa, inyección intramuscular), gotas oftálmicas, ungüento oftálmico, supositorio y agente de absorción percutánea. En particular, la formulación farmacéutica preferible es gotas oftálmicas dado que se considera que la composición farmacéutica de la invención se puede utilizar como agente reductor de la presión intraocular, un medicamento para el tratamiento del glaucoma, basado en su actividad agonista del receptor de adenosina A2a.
- 40
- 45

- La presente composición farmacéutica se puede preparar como un líquido acuoso y se puede utilizar, además, como una composición farmacéutica oftálmica. Por ejemplo, la formulación líquida acuosa se puede preparar como se indica a continuación.
- 50

Al presente compuesto (incluida una sal de este, lo mismo de aquí en adelante) se agregan opcionalmente uno o más aditivos seleccionados de un tampón, agente isotónico, conservante, solubilizante y agente de ajuste del pH farmacéuticamente aceptable, según sea necesario, y la formulación acuosa deseada se prepara a través de un proceso convencional.

El tampón utilizado en la preparación líquida acuosa incluye, por ejemplo, un ácido inorgánico tal como ácido bórico y ácido fosfórico; un ácido orgánico tal como un aminoácido y ácido succínico; y una sal farmacéuticamente aceptable. El tampón preferible es ácido succínico, ácido fosfórico y dihidrógenofosfato de sodio. El tampón se puede utilizar como un ingrediente simple o en cualquier combinación de dos o más ingredientes.

- 5 La preparación en donde el ácido succínico o una sal farmacéuticamente aceptable de este se utiliza como tampón puede evitar la precipitación del ingrediente activo durante un almacenamiento a largo plazo dado que la sal del ingrediente activo con ácido succínico tiene una solubilidad elevada.

La concentración del tampón en la preparación líquida acuosa es preferiblemente una concentración mínima para evitar la variación del pH, por ejemplo, no más de 2 % (p/v), preferiblemente, no más de 0,6 % (p/v) y, más
10 preferiblemente, 0,2 % (p/v).

El agente de ajuste de pH en la preparación líquida acuosa incluye, por ejemplo, ácido clorhídrico, ácido sulfúrico, ácido láctico, ácido acético, hidróxido de potasio, hidróxido de sodio, hidróxido de calcio, hidróxido de magnesio, monoetanolamina, trietanolamina, diisopropanolamina, triisopropanolamina y una sal farmacéuticamente aceptable de este. El agente de ajuste de pH preferible incluye ácido clorhídrico e hidróxido de sodio. El agente de ajuste de
15 pH se puede utilizar como un ingrediente simple o en cualquier combinación de dos o más ingredientes.

El agente isotónico en la preparación líquida acuosa es para hacer que la preparación sea isotónica para la lágrima acuosa. El agente isotónico utilizado es un agente convencional para gotas oftálmicas e incluye cloruro de sodio, cloruro de potasio, ácido bórico, borato de sodio, manitol, glicerina, propilenglicol, polietilenglicol, maltosa, sacarosa, sorbitol, glucosa, preferiblemente, glicerina, glucosa, manitol, propilenglicol y sorbitol. Más preferiblemente, es
20 glicerina. El agente isotónico se puede utilizar como un ingrediente simple o en cualquier combinación de dos o más ingredientes.

La preparación en donde se utiliza glicerina como agente isotónico para prevenir la sedimentación del ingrediente activo o sustancias relacionadas con este durante un almacenamiento a largo plazo dado que la glicerina no afecta de manera adversa la solubilidad del ingrediente activo. La presión osmótica de la preparación líquida acuosa que
25 incluye un agente isotónico es, por ejemplo, 170 a 460 mOsm/kg, preferiblemente 229 a 372 mOsm/kg y, más preferiblemente, 256 a 316 mOsm/kg.

El conservante utilizado en la presente memoria incluye, por ejemplo, una sal de amonio cuaternario tal como benzalconio, bencetonio y benzododecinio; un compuesto catiónico tal como clorhexidina; un para-oxibenzoato tal como para-oxibenzoato de metilo y para-oxibenzoato de propilo; y un compuesto alcohólico tal como clorobutanol y alcohol bencílico. El conservante preferible incluye cloruro de benzalconio y bromuro de benzododecinio y, más
30 preferiblemente, clorhidrato de benzalconio y bromuro de benzododecinio en donde la cadena de alquilo está compuesta por solo 12 carbonos.

La presente composición farmacéutica puede comprender un solubilizante, según sea necesario. El solubilizante utilizado en la presente memoria incluye, por ejemplo, un polímero tal como polivinilpirrolidona, macrogol
35 (polietilenglicol), alcohol polivinílico e hidroxipropilmetilcelulosa; un tensioactivo tal como polisorbato, aceite de ricino hidrogenado polioxietileno y polioxipropileno polioxietileno; un alcohol polihídrico tal como propilenglicol; un ácido orgánico tal como ácido benzoico y ácido sórbico; un aminoácido tal como ácido aspártico, histidina, glicina y lisina; y un derivado de xantina tal como cafeína. El solubilizante preferible incluye polivinilpirrolidona, macrogol, alcohol polivinílico, ácido benzoico, ácido sórbico y ácido alginico; especialmente polivinilpirrolidona y macrogol. El
40 solubilizante se puede utilizar como un ingrediente simple o en cualquier combinación de dos o más ingredientes.

El pH de la preparación líquida acuosa que incluye la presente composición farmacéutica es 4 a 9, preferiblemente 5 a 8, especialmente 6 a 7 y, más preferiblemente, 6,3 a 6,9.

La formulación sólida de la presente invención para administración oral tal como un comprimido, polvo y gránulo se puede preparar al mezclar el compuesto de la invención con al menos un vehículo inerte tal como lactosa, manitol,
45 glucosa, hidroxipropilcelulosa, celulosa microcristalina, almidón, polivinilpirrolidona, ácido meta-silícico y aluminato de magnesio, y formular la mezcla según un método convencional. La preparación se puede formular con aditivos adecuados adicionales, por ejemplo, un lubricante tal como estearato de magnesio; un desintegrante tal como celulosa glicolato de calcio; un estabilizador tal como lactosa; un agente solubilizante tal como ácido glutámico y ácido aspártico. También se puede formular, además, con un edulcorante, un sabor, un perfume y un agente
50 conservante. El comprimido y pastilla se pueden recubrir con una película de recubrimiento de azúcar o una película de recubrimiento intragástrico o entérico, utilizando sacarosa, gelatina, hidroxipropilcelulosa y ftalato de hidroxipropilmetilcelulosa, cuando sea necesario.

El medicamento líquido para administración oral tal como una emulsión, disolución, suspensión, jarabe y elixir se puede preparar al disolver o dispensar el compuesto de la invención en un diluyente inerte utilizado en general tal como agua purificada y etanol. El medicamento líquido también puede contener un agente auxiliar tal como un
55 agente humectante y un agente de suspensión, un edulcorante, un sabor, un perfume y un agente conservante.

La inyección para administración parenteral incluye una disolución, suspensión y emulsión acuosa o no acuosa aséptica, y la inyección acuosa se puede preparar según un método convencional, por ejemplo, utilizando agua destilada para inyección y disolución salina como diluyente. La inyección no acuosa se puede preparar según un método convencional, por ejemplo, utilizando un diluyente o vehículo tal como propilenglicol, polietilenglicol o aceite vegetal tal como aceite de oliva; alcoholes tales como etanol; polisorbato 80. La inyección puede contener, además, un agente auxiliar tal como un agente conservante, un agente humectante, un agente emulsionante, un agente de dispersión, un estabilizador (p. ej., lactosa) y un agente solubilizante (p. ej., ácido glutámico y ácido aspártico). La inyección se esteriliza según un método convencional, por ejemplo, mediante filtración con el filtro para retirar bacterias, adición de un agente antimicrobiano o radiación tal como con rayos gamma. Además, la inyección también se puede preparar como una formulación para preparación extemporánea, donde el medicamento sólido aséptico preparado se disuelve con agua aséptica o disolvente aséptico para inyección antes del uso.

El régimen de dosificación para la composición farmacéutica de la presente invención en cada formulación se determinará en cada caso dependiendo de la condición de los pacientes a los cuales se administrará la composición farmacéutica (sujeto para administración), edad y sexo. En general, la dosificación de las gotas oftálmicas que comprenden la composición farmacéutica de la presente invención se puede determinar como la cantidad de manera que las gotas oftálmicas que contienen el compuesto activo en una concentración de 0,0001-10 % (p/v), preferiblemente 0,001-1,0 % (p/v), más preferiblemente 0,01-0,3 % (p/v), se puedan dejar caer o aplicar una a varias veces al día. La cantidad de gotas oftálmicas para un uso es generalmente alrededor de 0,001-1 ml para un adulto.

En el caso del medicamento oral o la inyección de la composición farmacéutica de la invención, la dosificación se puede determinar de manera que el compuesto de la invención se puede administrar en una cantidad de 0,001-1000 mg por día en un adulto. La dosis diaria se puede administrar una vez al día, pero preferiblemente se divide en varias veces. La dosificación indicada anteriormente es solo a modo de guía y, por lo tanto, se puede aumentar o reducir. Según se mencionó anteriormente, es útil determinar la dosificación en cada uso dependiendo de diversas condiciones. Por consiguiente, dependiendo de las condiciones, la dosificación reducida todavía puede exhibir un efecto que es suficiente.

(Efecto de la invención)

Las presentes composiciones farmacéuticas y compuestos pueden tener diversas actividades agonistas del receptor de adenosina A2a tal como hipotensora ocular, flujo sanguíneo aumentado hacia la cabeza del nervio óptico, protección del nervio óptico, vasodilatación, dilatación coronaria, caída de la tensión arterial, inhibición de la aglomeración plaquetaria, efecto antitrombótico, antiinflamación, bronquiectasia e inmunosupresión.

Por lo tanto, las presentes composiciones farmacéuticas y compuestos se pueden adaptar para el tratamiento de una enfermedad ocular tal como el glaucoma (p. ej., glaucoma de tensión normal, glaucoma de hipertensión ocular, glaucoma secundario posquirúrgico), hipertensión ocular, retinopatía diabética, degeneración macular relacionada con la edad (ARMD, por sus siglas en inglés), retinitis pigmentosa (RP) y retinopatía provocada por glaucoma; hipertensión; insuficiencia cardíaca congestiva; afección coronaria; angina; aterosclerosis; enfermedad cardíaca isquémica; isquemia cerebrovascular; lesión por reperfusión; trombosis; epilepsia; rinitis; sinusitis; enfisema; enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC); asma; bronquitis; enfermedad respiratoria; síndrome de insuficiencia respiratoria; choque séptico; fibrosis pulmonar; gastritis; metástasis gástrica; colitis ulcerosa; enfermedad de Crohn; enfermedad colónica inflamatoria; curación de heridas; eccema; hipersensibilidad cutánea; dermatitis; psoriasis; artritis reumatoide crónica; diabetes; esclerosis múltiple y enfermedad autoinmunitaria.

Además, las presentes composiciones farmacéuticas y compuestos se pueden utilizar como agente de diagnóstico para el infarto de miocardio.

De aquí en adelante, la presente invención se ilustra mediante ejemplos de referencia para preparar los compuestos de partida y un ejemplo para preparar los compuestos y formulaciones de la invención y, además, experimentos de las pruebas farmacológicas. Los ejemplos de referencia, ejemplos y experimentos que no están comprendidos en el alcance de las reivindicaciones se incluyen con fines ilustrativos.

Los espectros de resonancia magnética nuclear (RMN, por sus siglas en inglés) en los ejemplos mencionados a continuación se midieron en las siguientes condiciones. Los símbolos abreviados se definen a continuación.

Aparato: JNM-AL300 (JEOL)

Sustancia estándar interna: TMS

s: singlete, d: doblete, t: triplete, q: cuarteto, quint: quinteto, sext: sexteto

Breve descripción de los dibujos

La figura 1 muestra las viabilidades celulares donde el compuesto del ejemplo 1 en 0,25, 0,5 y 1 mM se agregó a células del epitelio de la córnea de conejo.

La figura 2 muestra los efectos del compuesto del ejemplo 1 sobre la arteria ciliar en conejos.

La figura 3 muestra los efectos del compuesto del ejemplo 1 sobre la supervivencia celular en una célula de ganglio retinal de rata.

Mejor modo de poner en práctica la invención

5 Ejemplo de referencia 1

(E)-3-(6-hidroximetilpiridin-2-il)acrilato de metilo

Se disolvió 2-bromopiridina-6-metanol (50,0 g) en N,N-dimetilformamida seca (250 ml). A la disolución se agregaron acrilato de metilo (47,9 ml), cloruro de tetra(n-butil)amonio (73,9 g), hidrógeno carbonato de sodio (47,7 g) y tamices moleculares 3A(1/16) (50,0 g) y, además, se agregó acetato de paladio(II) (2,98 g) a estos en atmósfera de argón. La mezcla se agitó a 80 °C durante 5 horas. Después de enfriar la mezcla de reacción, el precipitado resultante se retiró por filtración y se agregó agua al filtrado, que se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica se lavó con salmuera, se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se concentró al vacío para proporcionar 50,2 g de (E)-3-(6-hidroximetilpiridin-2-il)acrilato de metilo. Polvo marrón.

¹H-RMN (CDCl₃) 7,72 (1H, t, J = 7,5 Hz), 7,68 (1H, d, J = 15,6 Hz), 7,32 (1H, d, J = 7,5 Hz), 7,21 (1H, d, J = 7,5 Hz), 6,97 (1H, d, J = 15,6 Hz), 4,78 (2H, d, J = 4,2 Hz), 3,85 (1H, t, J = 4,2 Hz), 3,83 (3H, s).

Ejemplo de referencia 2

3-(6-hidroximetilpiridin-2-il)propionato de metilo

Se disolvió (E)-3-(6-hidroximetilpiridin-2-il)acrilato de metilo (50,2 g) casi por completo en alcohol isopropílico (502 ml). A la disolución se agregó paladio-(carbón activado) al 5 % (2,51 g) y la mezcla se agitó a 50 °C a presión normal en atmósfera de hidrógeno durante 2,5 horas. Después de enfriar la mezcla de reacción, se retiró por filtración el catalizador y el filtrado se concentró al vacío para proporcionar 50,0 g de 3-(6-hidroximetilpiridin-2-il)propionato de metilo.

Aceite marrón.

¹H-RMN (CDCl₃) 7,58 (1H, t, J = 7,5 Hz), 7,09 (1H, d, J = 7,5 Hz), 7,03 (1H, d, J = 7,5 Hz), 4,71 (2H, s), 4,01 (1H, s a), 3,69 (3H, s), 3,15 (2H, t, J = 7,2 Hz), 2,81 (2H, t, J = 7,2 Hz).

Ejemplo de referencia 3

3-(6-metanosulfoniloximetilpiridin-2-il)propionato de metilo

Se disolvió 3-(6-hidroximetilpiridin-2-il)propionato de metilo (50,0 g) en acetato de etilo (1000 ml). A la disolución se agregó trietilamina (53,5 ml) y la mezcla se agitó a temperatura helada durante 10 minutos. A la mezcla se agregó cloruro de metanosulfonilo (23,8 ml) por goteo en 10 minutos y la mezcla resultante se agitó a temperatura helada durante 30 minutos. A la mezcla de reacción se agregó agua, y la mezcla se transfirió a un embudo de separación y se lavó con hidrógeno carbonato de sodio acuoso saturado y salmuera, se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se concentró al vacío para proporcionar 63,0 g de 3-(6-metanosulfoniloximetilpiridin-2-il)propionato de metilo.

Aceite marrón.

¹H-RMN (CDCl₃) 7,63 (1H, t, J = 7,5 Hz), 7,26 (1H, d, J = 7,5 Hz), 7,19 (1H, d, J = 7,5 Hz), 5,28 (2H, s), 3,67 (3H, s), 3,12 (2H, t, J = 7,2 Hz), 3,07 (3H, S), 2,79 (2H, t, J = 7,2 Hz).

Ejemplo de referencia 4

3-{6-[4-(4-acetilaminofenil)-6-amino-5-ciano-pirimidin-2-il]tiometil}piridin-2-il}propionato de metilo

Se disolvió 4-acetamida-benzaldehído (1000 g) en etanol (16000 ml). A la mezcla se agregaron malononitrilo (607 g) y piperidina (40 g), y la mezcla resultante se agitó a reflujo durante 2 horas. La mezcla de reacción se enfrió hasta temperatura ambiente y después se agitó durante 30 minutos. El cristal precipitado se recogió en un filtro, se lavó con etanol (2000 ml) y se secó para proporcionar 1049 g de N-[4-(2,2-dicianovinil)fenil]acetamida como un polvo amarillo.

Se disolvió 3-(6-metanosulfoniloximetilpiridin-2-il)propionato de metilo (7,0 g) en metanol (75 ml) y después se agregó tiourea (1,85 g) a estos. La mezcla se sometió a reflujo durante 1,5 horas. Después de enfriar la mezcla de reacción, se agregó trietilamina (10,7 ml) a esta y la mezcla se agitó durante un tiempo corto. A continuación, se agregaron metanol (75 ml), la N-[4-(2,2-dicianovinil)fenil]acetamida anterior (4,33 g), y luego N-bromosuccinimida (3,67 g) a estos, la mezcla se agitó durante 1 hora. El cristal precipitado se recogió en un filtro, se lavó con metanol (40 ml) y se secó para proporcionar 5,5 g de 3-{6-[4-(4-acetilaminofenil)-6-amino-5-cianopirimidin-2-il]tiometil}piridin-2-il}propionato de metilo.

Polvo blanco.

¹H-RMN (DMSO-d₆) 10,23 (1H, s), 8,20-7,60 (2H, s a), 7,83 (2H, d, J = 8,7 Hz), 7,72 (2H, d, J = 8,7 Hz), 7,63 (1H, t, J = 7,8 Hz), 7,35 (1H, d, J = 7,8 Hz), 7,15 (1H, d, J = 7,8 Hz), 4,45 (2H, s), 3,57 (3H, s), 2,96 (2H, t, J = 7,2 Hz), 2,74 (2H, t, J = 7,2 Hz), 2,09 (3H, s).

5 Ejemplo de referencia 5

Ácido 3-{6-[4-(4-acetilaminofenil)-6-amino-5-cianopirimidin-2-iltiometil]piridin-2-il}propiónico

Se suspendió 3-{6-[4-(4-acetilaminofenil)-6-amino-5-ciano-pirimidin-2-iltiometil]piridin-2-il}propionato de metilo (5 g) en acetonitrilo que contenía agua al 50 % (150 ml). A la suspensión se agregó hidróxido de litio monohidrato (1,35 g), y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. A continuación, se agregó gradualmente una disolución de ácido cítrico (4,11 g) en agua (20 ml) a la mezcla de reacción, y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas adicionales. El cristal precipitado se recogió en un filtro, se lavó con agua (75 ml) y se secó para proporcionar 5 g de ácido 3-{6-[4-(4-acetilaminofenil)-6-amino-5-cianopirimidin-2-iltiometil]piridin-2-il}propiónico. Polvo blanco.

¹H-RMN (DMSO-d₆) 10,25 (1H, s), 7,84 (2H, d, J = 8,7 Hz), 7,72 (2H, d, J = 8,7 Hz), 7,64 (1H, t, J = 7,8 Hz), 7,36 (1H, d, J = 7,8 Hz), 7,16 (1H, d, J = 7,8 Hz), 4,47 (2H, s), 2,95 (2H, t, J = 7,2 Hz), 2,65 (2H, t, J = 7,2 Hz), 2,09 (3H, s).

Ejemplo de referencia 6

1-terc-butoxicarbonil-4-(piperazin-1-il)metilpiperidina

Se disolvió 1-terc-butoxicarbonil-4-piperidilmetanol (10 g) en acetato de etilo (150 ml). A la disolución se agregó trietilamina (12,8 ml) y la mezcla se agitó a temperatura helada durante un tiempo corto. A la mezcla se agregó lentamente cloruro de metanosulfonilo (5,4 ml) por goteo y la mezcla de reacción se agitó a temperatura helada durante 30 minutos. A la mezcla de reacción se agregó agua, y la mezcla se transfirió a un embudo de separación, se lavó con agua (50 ml) y se extrajo con acetato de etilo (50 ml, dos veces). La capa orgánica combinada se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y concentró al vacío. El residuo se disolvió en acetonitrilo (200 ml) y se agregó piperazina (18 g) a la disolución. La mezcla se agitó a reflujo durante 3 horas. La mezcla de reacción se concentró al vacío, luego la piperazina precipitada se retiró por filtración. Al filtrado se agregó salmuera (50 ml) y acetato de etilo (50 ml) y la mezcla se agitó durante toda la noche. La mezcla se transfirió a un embudo de separación y la capa orgánica se separó, se lavó con salmuera (50 ml, dos veces) y se concentró al vacío. Al residuo se agregó agua (50 ml) y la mezcla se neutralizó con ácido clorhídrico 1N a temperatura helada. Se agregó acetato de etilo (100 ml) a esta y la mezcla se agitó durante un tiempo corto. A continuación, la mezcla se transfirió a un embudo de separación y la capa acuosa se separó. La capa acuosa se basificó intensamente con hidróxido de sodio 5N a temperatura helada. La mezcla se extrajo con acetato de etilo, se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se concentró al vacío para proporcionar 9,96 g de 1-terc-butoxicarbonil-4-(piperazin-1-il)metilpiperidina. Aceite incoloro.

¹H-RMN (CDCl₃) 4,11-4,05 (2H, m), 2,87 (4H, t, J = 4,8 Hz), 2,72-2,64 (2H, m), 2,36 (4H, s a), 2,14 (2H, d, J = 6,9 Hz), 1,74-1,65 (3H, m), 1,45 (9H, m), 1,13-0,99 (2H, m).

Ejemplo de referencia 7

Diclorhidrato de 4-((4-(3-(6-((4-(4-acetamidofenil)-6-amino-5-ciano-pirimidin-2-iltio)metil)piridin-2-il)propanoil)piperazin-1-il)metil)-1-terc-butoxicarbonilpiperidina

Se suspendió ácido 3-{6-[4-(4-acetilaminofenil)-6-amino-5-ciano-pirimidin-2-iltiometil]piridin-2-il}propiónico (2,16 g) en acetona (44 ml). A la suspensión se agregó 1-hidroxi-1H-benzotriazol (781 mg), clorhidrato de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)-carbodiimida (1,1 g) y 1-terc-butoxicarbonil-4-(piperazin-1-il)metilpiperidina (1,5 g) en ese orden y la mezcla se sometió a reflujo durante 1 hora. La acetona se retiró al vacío y luego se agregaron acetato de etilo (30 ml) y agua (30 ml) a esta y la mezcla se agitó durante 30 minutos. La mezcla se transfirió a un embudo de separación, se lavó con hidrógeno carbonato de sodio acuoso saturado y salmuera en ese orden, se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se concentró al vacío. El residuo se disolvió por completo en metanol (25 ml), luego se agregó lentamente ácido clorhídrico conc. (0,85 ml) a estos por goteo a temperatura helada y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. A continuación, se agregó etanol (50 ml) a estos y la mezcla se agitó a 50 °C durante 1 hora. Después de enfriar la mezcla de reacción, el cristal precipitado se recogió en un filtro y se secó para proporcionar 2,95 g de diclorhidrato de 4-((4-(3-(6-((4-(4-acetamidofenil)-6-amino-5-ciano-pirimidin-2-iltio)metil)piridin-2-il)propanoil)piperazin-1-il)metil)-1-terc-butoxicarbonilpiperidina.

Polvo blanco.

¹H-RMN (DMSO-d₆) 10,30 (1H, s), 10,15 (1H, s a), 8,00-7,81 (4H, m), 7,72 (2H, d, J = 8,7 Hz), 7,65 (1H, s a), 7,40 (1H, s a), 4,57 (2H, s), 4,36-4,31 (1H, m), 4,02-3,89 (3H, m), 3,70-3,30 (8H, m), 3,17-2,73 (8H, m), 2,09 (3H, s), 1,99 (1H, m), 1,78-1,73 (2H, m), 1,39 (9H, s).

Ejemplo 1

Triclorhidrato de N-(4-(6-amino-5-ciano-2-((6-(3-oxo-3-(4-(piperidin-4-il-metil)piperazin-1-il)propil)piridin-2-il)metiltio)pirimidin-4-il)fenil)acetamida

5 A diclorhidrato de 4-((4-(3-(6-((4-(4-acetamidafenil)-6-amino-5-cianopirimidin-2-iltio)metil)piridin-2-il)propanoil)-piperazin-1-il)metil)-1-terc-butoxicarbonilpiperidina (40 g) se agregaron 400 ml de cloruro de hidrógeno [1 mol/L en acetato de etilo] y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 24 horas. El precipitado se recogió en un filtro y se lavó con acetato de etilo (80 ml). El precipitado se secó para proporcionar un cristal bruto blanco. El cristal bruto se disolvió en agua (245 ml) a temperatura ambiente y se filtró. Al filtrado se agregó lentamente acetona (875 ml) y la mezcla se agitó con un cristal de siembra de este durante 6 horas. El cristal precipitado se recogió en un filtro, se lavó con acetona (140 ml) y luego se secó para proporcionar 29,8 g de triclorhidrato de N-(4-(6-amino-5-ciano-2-((6-(3-oxo-3-(4-(piperidin-4-il-metil)piperazin-1-il)propil)piridin-2-il)metiltio)pirimidin-4-il)fenil)-acetamida.

Polvo blanco.

15 ¹H-RMN (DMSO-d₆) 11,23 (1H, s a) 10,43 (1H, s) 9,05 (1H, s a) 8,93 (1H, s a) 8,30 (1H, t, J = 7,8 Hz) 7,96 (1H, d, J = 7,8 Hz) 7,81 (2H, d, J = 8,7 Hz) 7,78-7,73 (3H, m) 4,77 (2H, s) 4,36-4,31 (1H, m) 4,02-3,74 (3H, m) 3,53-3,45 (2H, m) 3,26-3,23 (5H, m) 3,02-2,81 (8H, m) 2,10-1,91 (6H, m) 1,50-1,39 (2H, m).

Ejemplo 2

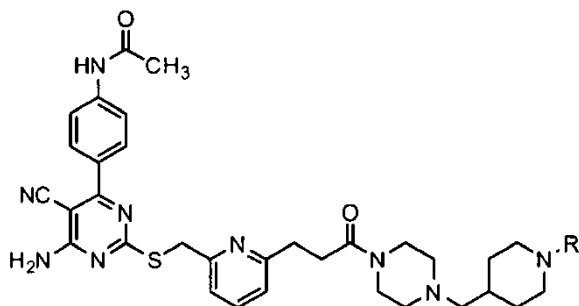
Maleato de N-(4-(6-amino-5-ciano-2-((6-(3-(4-((1-(2-hidroxietil)-piperidin-4-il)metil)piperazin-1-il)-3-oxopropil)piridin-2-il)metiltio)pirimidin-4-il)fenil)acetamida

20 Se disolvió triclorhidrato de N-(4-(6-amino-5-ciano-2-((6-(3-oxo-3-(4-(piperidin-4-il-metil)piperazin-1-il)propil)piridin-2-il)metiltio)-pirimidin-4-il)fenil)acetamida (1,01 g) en N,N-dimetilformamida seca (15 ml). A la disolución se agregó 2-cloroetanol (186 µl), trietilamina (0,6 ml), carbonato de potasio (386 mg) y yoduro de sodio (300 mg), y la mezcla se agitó a 50 °C durante 3 horas. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida y el residuo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (cloruro de metileno : metanol : amoníaco acuoso al 28 % = 100 : 10 : 1) para proporcionar 220 mg de N-(4-(6-amino-5-ciano-2-((6-(3-(4-((1-(2-hidroxietil)piperidin-4-il)-metil)piperazin-1-il)-3-oxopropil)piridin-2-il)metil-tio)pirimidin-4-il)fenil)acetamida. El compuesto se disolvió en metanol (5 ml) y se agregó ácido maleico (38,8 mg) a estos. La mezcla se agitó durante un tiempo corto. La disolución se concentró al vacío para proporcionar 250 mg de maleato de N-(4-(6-amino-5-ciano-2-((6-(3-(4-((1-(2-hidroxietil)piperidin-4-il)metil)piperazin-1-il)-3-oxopropil)piridin-2-il)-metiltio)pirimidin-4-il)fenil)acetamida.

Polvo blanco.

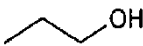
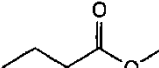
30 ¹H-RMN (DMSO-d₆) 10,25 (1H, s) 7,83 (2H, d, J = 8,7 Hz) 7,71 (2H, d, J = 8,7 Hz) 7,63 (1H, t, J = 7,5 Hz) 7,35 (1H, d, J = 7,5 Hz) 7,15 (1H, d, J = 7,5 Hz), 6,04 (2H, s) 5,76 (1H, s a) 4,47-4,35 (4H, m) 3,71 (2H, s a) 3,45-3,32 (9H, m) 3,11 (2H, s a) 2,97-2,87 (4H, m) 2,73-2,69 (2H, m) 2,36-2,19 (3H, m) 2,09 (3H, s) 1,88-1,83 (3H, m) 1,35-1,31 (2H, m).

Los siguientes ejemplos 3 - 5 se prepararon según un proceso similar al del Ejemplo 2.



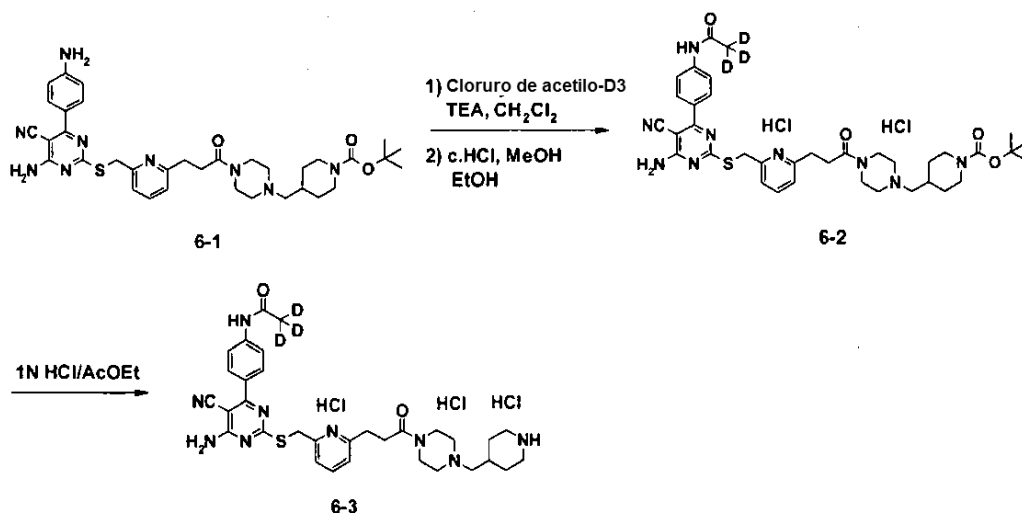
35

Ejemplo	R	Datos de RMN	Sal
1	H	¹ H-RMN (DMSO-d ₆) 11,23 (1H, s a) 10,43 (1H, s) 9,05 (1H, s a) 8,93 (1H, s a) 8,30 (1H, t, J = 7,8 Hz) 7,96 (1H, d, J = 7,8 Hz) 7,81 (2H, d, J = 8,7 Hz) 7,78-7,73 (3H, m) 4,77 (2H, s) 4,36-4,31 (1H, m) 4,02-3,74 (3H, m) 3,53-3,45 (2H, m) 3,26-3,23 (5H, m) 3,02-2,81 (8H, m) 2,10-1,91 (6H, m) 1,50-1,39 (2H, m).	triclorhidrato
2		DMSOd-6 : 10,25 (1H, s) 7,83 (2H, d, J = 8,7 Hz) 7,71 (2H, d, J = 8,7 Hz)	maleato

Ejemplo	R	Datos de RMN	Sal
		7,63 (1H, t, J = 7,5 Hz) 7,35 (1H, d, J = 7,5 Hz) 7,15 (1H, d, J = 7,5 Hz), 6,04 (2H, s) 5,76 (1H, s a) 4,47-4,35 (4H, m) 3,71 (2H, s a) 3,45-3,32 (9H, m) 3,11 (2H, s a) 2,97-2,87 (4H, m) 2,73-2,69 (2H, m) 2,36-2,19 (3H, m) 2,09 (3H, s) 1,88-1,83 (3H, m) 1,35-1,31 (2H, m)	
3		DMSOd-6 : 10,25 (1H, s) 7,83 (2H, d, J = 8,7 Hz) 7,72 (2H, d, J = 8,7 Hz) 7,62 (1H, t, J = 7,8 Hz) 7,34 (1H, d, J = 7,8 Hz) 7,14 (1H, d, J = 7,8 Hz), 4,46 (2H, s) 3,44-3,29 (8H, m) 2,94 (2H, t, J = 7,5 Hz) 2,87-2,83 (2H, m) 2,73-2,66 (2H, m) 2,34 (2H, s a) 2,20-2,18 (4H, m) 2,09 (3H, s) 2,03 (2H, d, J = 7,2 Hz) 1,87 (2H, s a) 1,64-1,43 (4H, m) 1,09-1,01 (2H, m)	
4		CDCl3 : 7,99 (2H, d, J = 8,7 Hz) 7,75-7,60 (2H, m) 7,51 (1H, t, J = 7,5 Hz) 7,27 (1H, d, J = 7,5 Hz) 7,07 (1H, d, J = 7,5 Hz), 5,85 (s a, 2H) 4,65 (1H, t, J = 5,1 Hz) 4,53-4,42 (1H, m) 4,49 (2H, s) 3,59 (1H, t, J = 4,8 Hz) 3,53-3,40 (2H, m) 3,13 (2H, t, J = 6,9 Hz) 3,00-2,90 (2H, m) 2,80 (2H, t, J = 6,9 Hz) 2,73 (1H, t, J = 4,8 Hz) 2,63 (1H, t, J = 4,8 Hz) 2,38-2,25 (4H, m) 2,21 (3H, s) 2,14 (2H, d, J = 7,5 Hz) 2,10-1,97 (2H, m) 1,85-1,60 (2H, m) 1,55-1,40 (1H, m) 1,35-1,15 (2H, m)	
5		DMSOd-6 : 10,25 (1H, s) 7,84 (2H, d, J = 8,7 Hz) 7,72 (2H, d, J = 8,7 Hz) 7,62 (1H, t, J = 7,8 Hz) 7,34 (1H, d, J = 7,8 Hz) 7,14 (1H, d, J = 7,8 Hz) 4,46 (2H, s) 3,59 (3H, s) 3,50-3,25 (4H, m) 2,98-2,76 (3H, m) 2,75-2,50 (3H, m) 2,50-2,40 (4H, m) 2,25-2,13 (4H, m) 2,09 (3H, s) 2,04 (2H, d, J = 7,2 Hz) 1,68-1,55 (2H, m) 1,50-1,35 (1H, m) 1,15-0,98 (2H, m)	

Ejemplo 6

Triclorhidrato de N-(4-(6-amino-5-ciano-2-(6-(3-oxo-3-(4-(piperidin-4-il-metil)piperazin-1-il)propil)piridin-2-il)metiltio)-pirimidin-4-il)fenil)acet-D3-amida (6-3)



5

Diclorhidrato de 4-(4-(3-(6-(4-(4-acet-D3-amidofenil)-6-amino-5-cianopirimidin-2-iltio)metil)piridin-2-il)propanoil)piperazin-1-il)metil)piperidina-1-carboxilato de t-butilo (6-2)

Se disolvió 4-(4-(3-(6-(4-(4-acet-D3-amidofenil)-6-amino-5-cianopirimidin-2-iltio)metil)piridin-2-il)propanoil)-piperazin-1-il)metil)piperidina-1-carboxilato de t-butilo (6-1) (3,4 g) en cloruro de metileno (68 ml). A la disolución se agregó trietilamina (1,4 ml) a temperatura helada y la mezcla se agitó durante un tiempo corto. Se agregó lentamente cloruro de acetil-D3 (532 μ l) a esta por goteo y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante toda la noche. Se agregó agua a este y la mezcla se transfirió a un embudo de separación. La capa acuosa se extrajo con cloruro de metileno (dos veces) y la capa orgánica combinada se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se concentró al vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (cloruro de metileno : metanol = 25 : 1) para proporcionar 3,1 g de 4-(4-(3-(6-(4-(4-acet-D3-amidofenil)-6-amino-5-ciano-pirimidin-2-iltio)metil)piridin-2-il)propanoil)piperazin-1-

10

15

il)metil)piperidina-1-carboxilato de t-butilo. El compuesto se disolvió completamente en metanol (20 ml), a continuación, se agregó lentamente HCl conc. (1,7 ml) a estos por goteo a temperatura helada y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 3 horas. A continuación, se agregó etanol (40 ml) a estos y la mezcla se agitó a 50 °C durante 1 hora. Después de enfriar la mezcla de reacción, el cristal precipitado se recogió en un filtro y se secó para proporcionar 2,06 g de diclorhidrato de 4-((4-(3-(6-((4-(4-acet-D3-amidofenil)-6-amino-5-cianopirimidin-2-iltio)metil)piridin-2-il)propanoil)piperazin-1-il)metil)piperidina-1-carboxilato de t-butilo (6-2).

Polvo blanco.

¹H-RMN (DMSO-d₆) 10,29 (1H, s) 10,15 (1H, s a) 8,00-7,90 (1H, m) 7,82 (2H, d, J = 8,7 Hz) 7,73 (2H, d, J = 8,7 Hz) 7,59 (1H, m) 7,40 (1H, m) 4,57 (2H, s) 4,36-4,31 (1H, m) 4,02-3,89 (3H, m) 3,70-3,30 (8H, m) 3,17-2,73 (8H, m) 1,99 (1H, m) 1,78-1,73 (2H, m) 1,39 (9H, s).

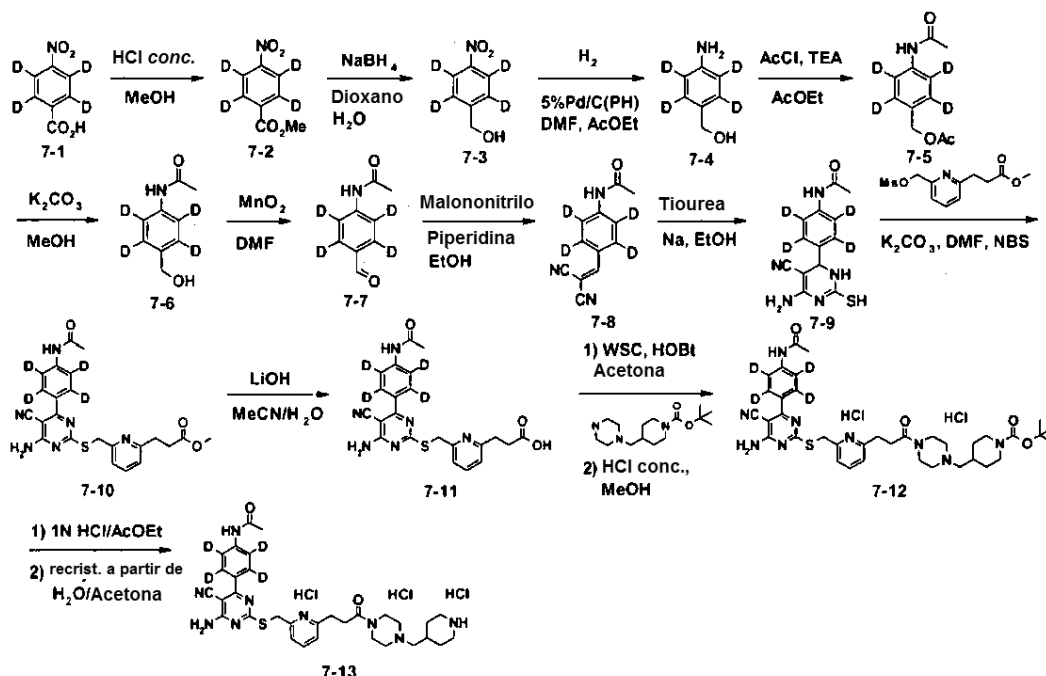
Triclorhidrato de N-(4-(6-amino-5-ciano-2-(6-(3-oxo-3-(4-(piperidin-4-ilmetil)piperazin-1-il)propil)piridin-2-il)metiltio)pirimidin-4-il)fenil)acet-D3-amida (6-3)

A diclorhidrato de 4-(4-(3-(6-(4-(4-aceta-D3-amidofenil)-6-amino-5-cianopirimidin-2-iltio)metil)piridin-2-il)propanoil)piperazin-1-il)metil)piperidina-1-carboxilato de t-butilo (6-2) (2,0 g) se agregaron 20 ml de cloruro de hidrógeno [1 mol/L en acetato de etilo] y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 41 horas. El precipitado se recogió en un filtro y se lavó con acetato de etilo (4,0 ml). El cristal bruto se disolvió en agua (10 ml) a temperatura ambiente y se filtró. Al filtrado se agregó lentamente acetona (40 ml) y la mezcla se agitó con un cristal de siembra de este durante 2 horas. El cristal precipitado se recogió en un filtro, se lavó con acetona (4 ml) y luego se secó para proporcionar 1,75 g de triclorhidrato de N-(4-(6-amino-5-ciano-2-(6-(3-oxo-3-(4-(piperidin-4-ilmetil)piperazin-1-il)propil)piridin-2-il)metiltio)pirimidin-4-il)fenil)acet-D3-amida (6-3).

Polvo blanco.

¹H-RMN (DMSO-d₆) 11,06 (1H, s a) 10,38 (1H, s) 8,94-8,81 (2H, m) 8,16 (1H, t, J = 7,8 Hz) 7,83-7,80 (3H, m) 7,75 (2H, d, J = 8,7 Hz) 7,64 (1H, d, J = 7,8 Hz) 4,70 (2H, s) 4,36-4,31 (1H, m) 4,02-3,74 (3H, m) 3,53-3,45 (2H, m) 3,26-3,23 (5H, m) 3,02-2,81 (8H, m) 2,10-1,91 (3H, m) 1,50-1,39 (2H, m).

Ejemplo 7



4-Nitrobenzoato-2,3,5,6-D4 de metilo (7-2)

Se disolvió ácido 4-nitrobenzoico-D4 (7-1) (5 g) en metanol (100 ml). A la disolución se agregó ácido clorhídrico conc. (1,0 ml) y la mezcla se sometió a reflujo durante 15 horas. La mezcla de reacción se concentró al vacío y luego se agregó agua al residuo. La mezcla se extrajo con cloruro de metileno. La capa orgánica se lavó con hidrógeno carbonato de sodio acuoso, se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se concentró al vacío para proporcionar 5,3 g de 4-nitrobenzoato-2,3,5,6-D4 de metilo (7-2).

Polvo blanco.

¹H-RMN (CDCl₃) 3,99 (3H, s).

Alcohol 4-nitrobencílico-2,3,5,6-D4 (7-3)

Se suspendió 4- nitrobenzoato-2,3,5,6-D4 de metilo (7-2) (5.3 g) en una mezcla de dioxano (53 ml) y agua (53 ml). A la suspensión se agregó borohidruro de sodio (9.4 g), y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 6 horas.

- 5 Después de que se completó la reacción, la mezcla de reacción se acidificó débilmente con HCl 5N y se transfirió a un embudo de separación. La capa acuosa se extrajo con acetato de etilo y la capa orgánica combinada se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se concentró al vacío para proporcionar 3,75 g de alcohol 4-nitrobencílico-2,3,5,6-D4 (7-3). Polvo amarillo.

¹H-RMN (DMSO-d₆) 5,53 (1H, t, J = 5,7 Hz) 4,64 (2H, d, J= 5,7 Hz).

- 10 Alcohol 4-aminobencílico-2,3,5,6-D4 (7-4)

Se disolvió alcohol 4-nitrobencílico-2,3,5,6-D4 (7-3) (3,75 g) en una mezcla de acetato de etilo (37 ml) y dimetilformamida (10 ml). A la disolución se agregó paladio-(carbón activado) al 5 % (400 mg) y la mezcla se agitó a presión de hidrógeno atmosférica durante 6 horas. Después de que se completó la reacción, se retiró por filtración el catalizador y el filtrado se concentró al vacío para proporcionar 2,65 g de alcohol 4-aminobencílico-2,3,5,6-D4 (7-4).

- 15 Aceite amarillo.

¹H-RMN (CDCl₃) 4,56 (2H, s).

Acetato de 4-acetamidobencilo-2,3,5,6-D4 (7-5)

- 20 Se disolvió alcohol 4-aminobencílico-2,3,5,6-D4 (7-4) (2,65 g) en acetato de etilo (53 ml). A la disolución se agregó trietilamina (12,9 ml) a temperatura helada y la mezcla se agitó durante un tiempo corto. Y luego se agregó lentamente cloruro de acetilo (5,5 ml) a estos por goteo y la mezcla se agitó durante 1 hora. Después de que se completó la reacción, se agregó agua a la mezcla de reacción y la mezcla se transfirió a un embudo de separación. La capa acuosa se extrajo con acetato de etilo y la capa orgánica combinada se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se concentró al vacío para proporcionar 4,28 g de acetato de 4-acetamidobencilo-2,3,5,6-D4 (7-5).

Aceite amarillo.

- 25 ¹H-RMN (DMSO-d₆) 4,99 (2H, s) 2,09 (6H, s).

N-(4-(Hidroximetil)fenil-2,3,5,6-D4)acetamida (7-6)

- 30 Se disolvió acetato de 4-acetamidobencilo-2,3,5,6-D4 (7-5) (4,28 g) en metanol (80 ml). A la disolución se agregó carbonato de potasio (2,9 g) y la mezcla se agitó durante 1,5 horas. Después de que se completó la reacción, la mezcla de reacción se filtró. El filtrado se concentró al vacío para proporcionar 3,4 g de N-(4-(hidroximetil)fenil-2,3,5,6-D4)acetamida (7-6).

Aceite amarillo.

¹H-RMN (DMSO-d₆) 10,07 (1H, s) 4,42 (2H, s) 2,02 (3H, s).

N-(4-Formilfenil-2,3,5,6-D4)acetamida (7-7)

- 35 Se disolvió N-(4-(hidroximetil)fenil-2,3,5,6-D4)acetamida (7-6) (3,4 g) en dimetilformamida (68 ml). A la disolución se agregó dióxido de manganeso (17 g) y la mezcla se agitó a 60 °C durante 6 horas. Después de que se completó la reacción, la mezcla de reacción se filtró. Al filtrado se agregó agua y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se concentró al vacío para proporcionar 2,5 g de N-(4-formilfenil-2,3,5,6-D4)acetamida (7-7).

Polvo blanco.

- 40 ¹H-RMN (CDCl₃) 9,93 (1H, s) 7,50 (1H, s a) 2,23 (3H, m).

N-(4-(2,2-Dicianovinil)fenil-2,3,5,6-D4)acetamida (7-8)

- 45 Se disolvió acetato de N-(4-formilfenil-2,3,5,6-D4)acetamida (7-7) (2,5 g) en etanol (50 ml). A la disolución se agregó malononitrilo (1,1 g) y piperidina (2 gotas) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 8 horas. El cristal precipitado se recogió en un filtro, se lavó con etanol y se secó para proporcionar 2,1 g de N-(4-(2,2-dicianovinil)fenil-2,3,5,6-D4)acetamida (7-8).

Polvo amarillo.

¹H-RMN (DMSO-d₆) 10,52 (1H, s) 8,37 (1H, s) 2,12 (3H, s).

N-(4-(6-Amino-5-ciano-2-mercapto-3,4-dihidropirimidin-4-il)fenil-2,3,5,6-D4)acetamida (7-9)

A 20 ml de una disolución de etanol en la que se disolvió sodio metálico (276 mg) se agregó tiourea (760 mg) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. A continuación, se agregó N-(4-(2,2-dicianovinil)fenil-2,3,5,6-D4)acetamida (7-8) (2,1 g) a estos y la mezcla se agitó a reflujo durante 3 horas. Después de que se completó la reacción, se retiró el etanol a presión reducida. El residuo se disolvió en agua tibia y se acidificó débilmente con ácido acético. El precipitado se recogió en un filtro y se secó para proporcionar 2,91 g de N-(4-(6-amino-5-ciano-2-mercapto-3,4-dihidropirimidin-4-il)fenil-2,3,5,6-D4)-acetamida (7-9).

Polvo amarillo.

¹H-RMN (DMSO-d₆) 9,99 (1H, s) 9,69 (1H, s) 6,13 (2H, m) 4,93 (1H, s) 2,07 (3H, s).

3-(6-(4-(4-acetilaminofenil-2,3,5,6-D4)-6-amino-5-cianopirimidin-2-iltiometil)piridin-2-il)propionato de metilo (7-10)

Se disolvió N-(4-(6-amino-5-ciano-2-mercapto-3,4-dihidropirimidin-4-il)fenil-2,3,5,6-D4)-acetamida (7-9) (2,91 g) en dimetilformamida (60 ml). A la disolución se agregó 3-(6-metanosulfoniloximetilpiridin-2-il)propionato de metilo (2,73 g) y carbonato de potasio (2,76 g), y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante toda la noche. A continuación, se agregó N-bromosuccinimida (1,77 g) a estos y la mezcla se agitó durante 1 hora más. Después de que se completó la reacción, se agregó agua a la mezcla de reacción y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y concentró al vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (cloruro de metileno : metanol = 20 : 1) para proporcionar 3,52 g de 3-(6-(4-(4-acetilaminofenil-2,3,5,6-D4)-6-amino-5-ciano-pirimidin-2-iltiometil)piridin-2-il)propionato de metilo (7-10). Polvo blanco.

¹H-RMN (DMSO-d₆) 10,26 (1H, s) 7,63 (1H, t, J = 7,8 Hz) 7,36 (1H, d, J = 7,8 Hz) 7,16 (1H, d, J = 7,8 Hz) 4,46 (2H, s) 3,57 (3H, s) 2,99 (2H, t, J = 7,2 Hz) 2,73 (2H, t, J = 7,2 Hz) 2,09 (3H, s).

Ácido 3-(6-(4-(4-acetilaminofenil-2,3,5,6-D4)-6-amino-5-ciano-pirimidin-2-iltiometil)piridin-2-il)propiónico (7-11)

Se suspendió 3-(6-(4-(4-acetilaminofenil-2,3,5,6-D4)-6-amino-5-ciano-pirimidin-2-iltiometil)piridin-2-il)propionato de metilo (7-10) (3,52 g) en acetonitrilo que contenía agua al 50 % (100 ml). A la suspensión se agregó hidróxido de litio monohidrato (331 mg), y la mezcla se sometió a reflujo durante 2 horas. A continuación, se agregó gradualmente una disolución de ácido cítrico (1,59 g) en agua (10 ml) a la mezcla de reacción, y la mezcla de reacción se agitó a 50 °C durante 1 hora. Después de enfriar la mezcla de reacción, el cristal precipitado se recogió en un filtro, se lavó con agua y se secó para proporcionar 2,29 g de ácido 3-(6-(4-(4-acetilaminofenil-2,3,5,6-D4)-6-amino-5-cianopirimidin-2-iltiometil)piridin-2-il)propiónico (7-11).

Polvo blanco.

¹H-RMN (DMSO-d₆) 10,25 (1H, s), 7,64 (1H, t, J = 7,8 Hz), 7,36 (1H, d, J = 7,8 Hz), 7,16 (1H, d, J = 7,8 Hz) 4,46 (2H, s) 2,92 (2H, t, J = 7,2 Hz) 2,65 (2H, t, J = 7,2 Hz) 2,09 (3H, s).

Diclorhidrato de 4-(4-(3-(6-(4-(4-acetamidofenil-2,3,5,6-D4)-6-amino-5-cianopirimidin-2-iltio)metil)piridin-2-il)-propanoil)piperazin-1-il)metil)piperidina-1-carboxilato de t-butilo (7-12)

Se suspendió ácido 3-(6-(4-(4-acetilaminofenil-2,3,5,6-D4)-6-amino-5-cianopirimidin-2-iltiometil)piridin-2-il)propiónico (7-11) (2,29 g) en acetona (46 ml). A la suspensión se agregó 1-hidroxi-1H-benzotriazol (820 mg), clorhidrato de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)-carbodiimida (1,16 g) y 4-piperazin-1-ilmetil-piperidina-1-carboxilato de t-butilo (1,43 g) en ese orden y la mezcla se sometió a reflujo durante 1 hora. La acetona se retiró al vacío y luego se agregaron acetato de etilo (23 ml) y agua (23 ml) a esta y la mezcla se agitó durante 30 minutos. La mezcla se transfirió a un embudo de separación. La capa acuosa se lavó con hidrógeno carbonato de sodio acuoso saturado y salmuera en ese orden, se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se concentró al vacío. Después de que se disolvió complementa el residuo en metanol (22,5 ml), se agregó lentamente HCl conc. (1,43 ml) a estos por goteo a temperatura helada y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. A continuación, se agregó etanol (45 ml) a estos y la mezcla se agitó a 50 °C durante 1 hora. Después de enfriar la mezcla de reacción, el cristal precipitado se recogió en un filtro y se secó para proporcionar 2,35 g de diclorhidrato de 4-(4-(3-(6-(4-(4-acetamidofenil-2,3,5,6-D4)-6-amino-5-cianopirimidin-2-iltio)metil)piridin-2-il)-propanoil)piperazin-1-il)metil)piperidina-1-carboxilato de t-butilo (7-12).

Polvo blanco.

¹H-RMN (DMSO-d₆) 10,30 (1H, s) 7,95 (1H, m) 7,65 (1H, m) 7,45 (1H, m) 4,59 (2H, s) 4,40-4,31 (1H, m) 4,10-3,85 (3H, m) 3,70-3,30 (8H, m) 3,17-2,73 (8H, m) 2,09 (3H, s) 1,99 (1H, m) 1,78-1,74 (2H, m) 1,39 (9H, s).

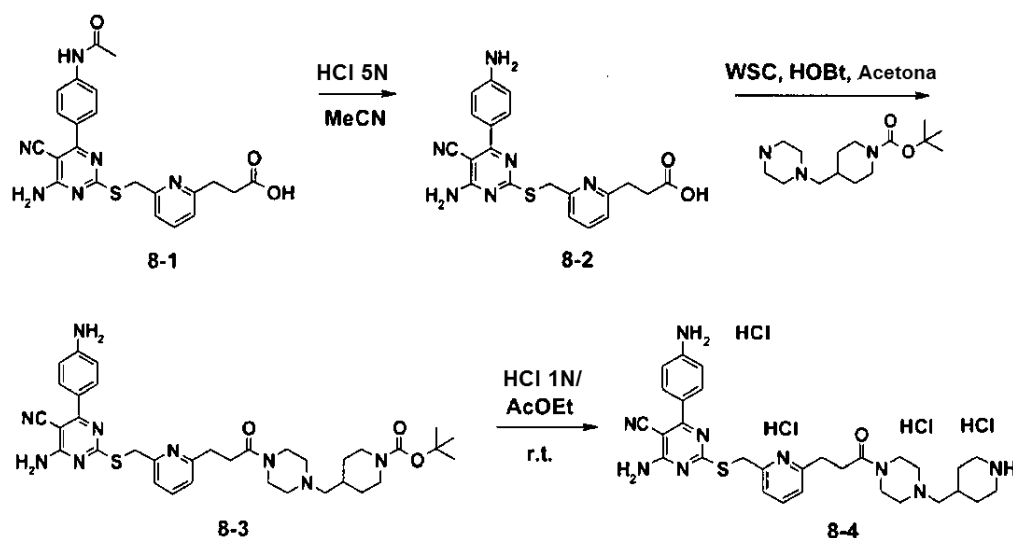
Triclorhidrato de N-(4-(6-amino-5-ciano-2-(6-(3-oxo-3-(4-(piperidin-4-il-metil)piperazin-1-il)propil)piridin-2-il)metiltio)-pirimidin-4-il)fenil-2,3,5,6-D4)acetamida (7-13)

A diclorhidrato de 4-(4-(3-(6-(4-(4-acetaamidofenil-2,3,5,6-D4)-6-amino-5-cianopirimidin-2-iltio)metil)piridin-2-il)-propanoil)piperazin-1-il)metil)piperidina-1-carboxilato de t-butilo (7-12) (2,35 g) se agregaron 23 ml de cloruro de hidrógeno [1 mol/L en acetato de etilo] y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 24 horas. El precipitado se recogió en un filtro y se lavó con acetato de etilo (4,7 ml). El cristal bruto se disolvió en agua (10 ml) a temperatura ambiente y se filtró. Al filtrado se agregó lentamente acetona (40 ml) y la mezcla se agitó con un cristal de siembra de este durante 2 horas. El cristal precipitado se recogió en un filtro, se lavó con acetona (4,7 ml) y luego se secó para proporcionar 1,93 g de triclohidrato de N-(4-(6-amino-5-ciano-2-((6-(3-oxo-3-(4-(piperidin-4-ilmetil)piperazin-1-il)propil)piridin-2-il)metiltio)pirimidin-4-il)fenil-2,3,5,6-D4)-acet-amida (7-13).

Polvo blanco.

¹H-RMN (DMSO-d₆) 11,04 (1H, s a) 10,38 (1H, s) 8,92-8,80 (2H, m) 8,10 (1H, m) 7,79 (1H, m) 7,59 (1H, m) 4,67 (2H, s) 4,37-4,33 (1H, m) 4,07-4,03 (1H, m) 3,70-2,82 (17H, m) 2,10-1,98 (6H, m) 1,48-1,37 (2H, m).

De aquí en adelante, los procesos de los siguientes compuestos se muestran como ejemplos de referencia.



Ácido 3-(6-(4-amino-6-(4-aminofenil)-5-cianopirimidin-2-iltio-metil)piridin-2-il)propiónico (8-2)

Se suspendió ácido 3-(6-(4-(4-acetilaminofenil)-6-amino-5-ciano-pirimidin-2-iltiometil)piridin-2-il)propiónico (8-1) (230 mg) en acetonitrilo (20 ml). A la suspensión se agregó ácido clorhídrico 5N (2 ml) y la mezcla se agitó a 60 °C durante toda la noche. Después de enfriar la mezcla de reacción, se agregó gradualmente ácido cítrico acuoso a esta para neutralizar la mezcla de reacción. El cristal precipitado se recogió en un filtro, se lavó con etanol y se secó para proporcionar 150 mg de ácido 3-(6-(4-amino-6-(4-aminofenil)-5-cianopirimidin-2-iltiometil)piridin-2-il)propiónico (8-2).

Polvo amarillo claro.

¹H-RMN (DMSO-d₆) 7,83 (2H, d, J = 8,7 Hz) 7,74 (1H, t, J = 7,5 Hz) 7,30 (1H, d, J = 7,5 Hz) 7,12 (1H, d, J = 7,5 Hz) 6,61 (2H, d, J = 8,7 Hz) 5,90 (2H, s a) 4,44 (2H, s) 2,91 (2H, t, J = 7,5 Hz) 2,48 (2H, t, J = 7,5 Hz).

4-(4-(3-(6-((4-amino-6-(4-aminofenil)-5-ciano-pirimidin-2-iltio)metil)piridin-2-il)propanoil)piperazin-1-il)metil)piperidina-1-carboxilato de t-butilo (8-3)

Se suspendió ácido 3-(6-(4-amino-6-(4-aminofenil)-5-cianopirimidin-2-iltiometil)piridin-2-il)propiónico (8-2) (2,58 g) en acetona (50 ml). A la suspensión se agregó 1-hidroxi-1H-benzotriazol (1,28 mg), clorhidrato de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)-carbodiimida (1,8 g) y 4-piperazin-1-ilmetil-piperidina-1-carboxylato de t-butilo (1,8 g) en ese orden y la mezcla se sometió a reflujo durante 1 hora. La acetona se retiró al vacío y luego se agregaron acetato de etilo (30 ml) y agua (30 ml) a esta y la mezcla se agitó durante 30 minutos. La mezcla se transfirió a un embudo de separación. La capa acuosa se lavó con hidrógeno carbonato de sodio acuoso saturado y salmuera en ese orden, se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se concentró al vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (cloruro de metileno : metanol : amoníaco acuoso al 28 % = 100 : 10 : 1) para proporcionar 3,9 g de 4-(4-(3-(6-(4-amino-6-(4-aminofenil)-5-ciano-pirimidin-2-iltio)metil)piridin-2-il)propanoil)piperazin-1-il)metil)piperidina-1-carboxilato de t-butilo (8-3).

Polvo amarillo claro.

$^1\text{H-RMN}$ (CDCl_3) 7,95 (2H, d, $J = 8,7$ Hz) 7,50 (1H, t, $J = 7,5$ Hz) 7,28 (1H, d, $J = 7,5$ Hz) 7,08 (1H, d, $J = 7,5$ Hz) 6,71 (2H, d, $J = 8,7$ Hz) 5,70 (2H, s a) 4,51 (2H, s) 4,16-4,09 (4H, m) 3,59 (2H, t, $J = 4,8$ Hz) 3,45 (2H, t, $J = 4,8$ Hz) 3,13 (2H, t, $J = 7,5$ Hz) 2,80 (2H, t, $J = 7,5$ Hz) 2,75-2,65 (2H, m) 2,34-2,30 (4H, m) 2,13 (2H, d, $J = 7,2$ Hz) 1,72-1,64 (1H, m) 1,46 (9H, s) 1,07-1,02 (2H, m).

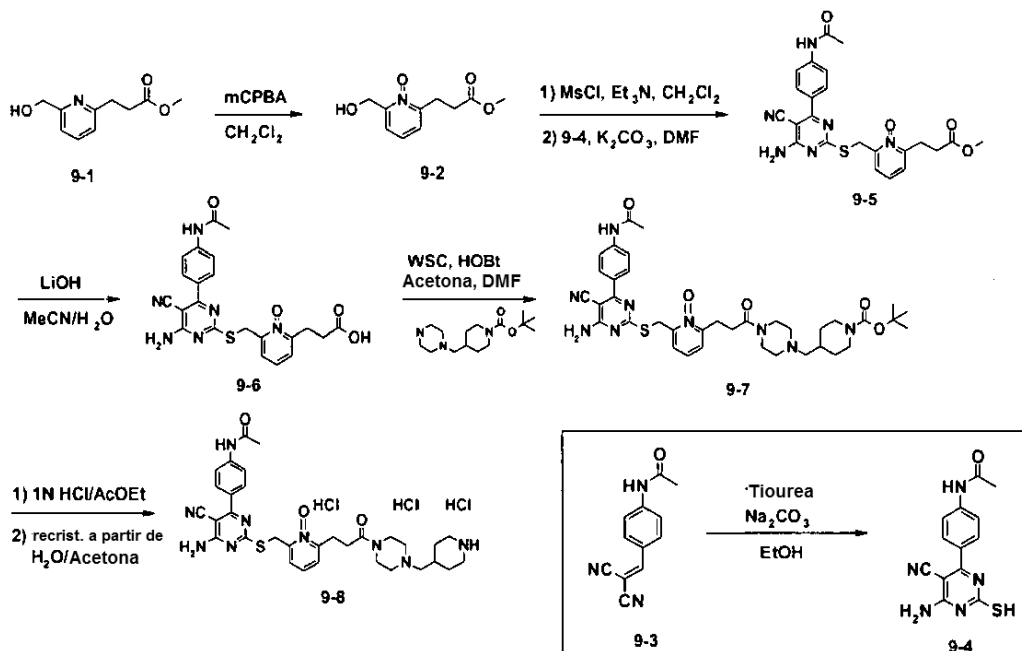
- 5 Tetraclorhidrato de 4-amino-6-(4-aminofenil)-2-(6-(3-oxo-3-(4-(piperidin-4-il-metil)piperazin-1-il)propil)piridin-2-il)metiltio)-pirimidin-5-carbonitrilo (8-4)

A 4-(4-(3-(6-(4-amino-6-(4-aminofenil)-5-cianopirimidin-2-iltio)metil)piridin-2-il)propanoil)piperazin-1-il)metil)piperidina-1-carboxilato de t-butilo (8-3) (3,6 g) se agregaron 54 ml de cloruro de hidrógeno [1 mol/L en acetato de etilo] y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 24 horas. El cristal precipitado se recogió en un filtro, se lavó con acetato de etilo y se secó para proporcionar 4,3 g de tetraclorhidrato de 4-amino-6-(4-aminofenil)-2-(6-(3-oxo-3-(4-(piperidin-4-il-metil)piperazin-1-il)propil)piridin-2-il)metiltio)-pirimidin-5-carbonitrilo (8-4).

Polvo amarillo claro.

$^1\text{H-RMN}$ (DMSO-d_6) 11,23 (1H, s a) 9,05 (1H, s a) 8,93 (1H, s a) 8,30 (1H, t, $J = 7,5$ Hz) 7,79-7,68 (4H, m) 6,92 (2H, d, $J = 8,7$ Hz) 4,77 (2H, s) 4,40-4,31 (8H, m) 3,36-3,18 (4H, m) 3,02-2,75 (6H, m) 2,21-1,98 (3H, m) 1,52-1,34 (2H, m).

De aquí en adelante, los procesos de los siguientes compuestos se muestran como ejemplos de referencia.



3-(6-Hidroximetil-1-oxi-piridin-2-il)propionato de metilo (9-2)

Se disolvió 3-(6-hidroximetilpiridin-2-il)propionato de metilo (9-1) (1,37 g) en cloruro de metileno (15 ml) y se agregó lentamente una disolución de ácido m-cloroperbenzoico (1,46 g) en cloruro de metileno a estos, y la mezcla se agitó durante 2 horas. La disolución de reacción se lavó con sulfito de sodio acuoso al 10 %, hidrógeno carbonato de sodio acuoso y agua en ese orden. La capa orgánica se secó sobre sulfato de magnesio anhidro para proporcionar 880 mg de 3-(6-hidroximetil-1-oxi-piridin-2-il)propionato de metilo (9-2). Polvo blanco.

$^1\text{H-RMN}$ (CDCl_3) 7,48-7,29 (1H, m) 7,25-7,22 (2H, m) 5,01 (1H, m) 4,80 (2H, s) 3,67 (3H, s) 3,23 (2H, t, $J = 7,2$ Hz) 2,87 (2H, t, $J = 7,2$ Hz).

N-(4-(6-Amino-5-ciano-2-mercaptopirimidin-4-il)fenil)-acetamida (9-4)

Se suspendió tiourea (1,52 g) en etanol (15 ml), y luego se agregó carbonato de sodio (2,12 g) a estos y la mezcla se agitó a 60°C durante 30 minutos. A continuación, se agregó N-(4-(2,2-dicianovinil)fenil)acetamida (9-3) (4,22 g) a estos y la mezcla se agitó a reflujo durante 5 horas. Después de que se completó la reacción, se retiró el etanol a presión reducida. El residuo se disolvió en agua tibia y se acidificó débilmente con ácido acético. El cristal precipitado se recogió en un filtro y se secó para proporcionar 1,87 g de N-(4-(6-amino-5-ciano-2-mercapto-pirimidin-4-il)fenil)-acetamida (9-4).

Polvo amarillo.

¹H-RMN (DMSO-d₆) 10,29 (1H, s) 7,73 (2H, d, J = 8,7 Hz) 7,64 (2H, d, J = 8,7 Hz) 2,09 (3H, s).

3-{6-[4-(4-acetilaminofenil)-6-amino-5-ciano-pirimidin-2-ilsulfanilmetil]-1-oxi-piridin-2-il}propionato de metilo (9-5)

Se disolvió 3-(6-hidroxiometil-1-oxi-piridin-2-il)-propionato de metilo (9-4) (880 mg) en cloruro de metileno (18 ml). A la disolución se agregó trietilamina (1,15 ml) y la mezcla se agitó a temperatura helada durante 10 minutos. Se agregó lentamente cloruro de metanosulfonilo (0,48 ml) a estos por goteo y la mezcla se agitó a temperatura helada durante 30 minutos. A la mezcla de reacción se agregó agua, y la mezcla se transfirió a un embudo de separación. La capa orgánica se lavó con hidrógeno carbonato de sodio acuoso saturado y salmuera. La capa orgánica se secó sobre sulfato de magnesio anhidro para proporcionar 3-(6-metanosulfoniloximetil-1-oxi-piridin-2-il)propionato de metilo. A continuación, el compuesto se disolvió en dimetilformamida (10 ml) y se agregaron N-(4-(6-amino-5-ciano-2-mercaptopirimidin-4-il)fenil)acetamida (1,14 g) y carbonato de potasio (1,1 g) a estos y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante toda la noche. Después de que se completó la reacción, se agregó agua a esta. El precipitado se recogió en un filtro y se secó para proporcionar 580 mg de 3-(6-(4-(4-acetilaminofenil)-6-amino-5-cianopirimidin-2-ilsulfanilmetil)-1-oxi-piridin-2-il)-propionato de metilo (9-5).

Polvo blanco.

¹H-RMN (DMSO-d₆) 10,26 (1H, s) 7,83 (2H, d, J = 8,7 Hz) 7,74-7,69 (3H, m) 7,37 (1H, d, J = 7,8 Hz) 7,23 (1H, t, J = 7,8 Hz) 4,50 (2H, s) 3,59 (3H, s) 3,05 (2H, t, J = 7,2 Hz) 2,76 (2H, t, J = 7,2 Hz) 2,09 (3H, s).

Ácido 3-{6-[4-(4-acetilaminofenil)-6-amino-5-cianopirimidin-2-ilsulfanilmetil]-1-oxi-piridin-2-il}propiónico (9-6)

Se suspendió 3-{6-[4-(4-acetilaminofenil)-6-amino-5-ciano-pirimidin-2-ilsulfanilmetil]-1-oxi-piridin-2-il}propionato de metilo (9-5) (580 mg) en acetonitrilo que contenía agua al 50 % (17 ml). A la suspensión se agregó hidróxido de litio monohidrato (53 mg), y la mezcla se agitó a 80 °C durante 2 horas. A continuación, se agregó ácido cítrico (253 mg) a estos y la mezcla se agitó a 50 °C durante 1 hora. Después de enfriar la mezcla de reacción, el cristal precipitado se recogió en un filtro, se lavó con agua y se secó para proporcionar 540 mg de ácido 3-{6-[4-(4-acetilaminofenil)-6-amino-5-cianopirimidin-2-ilsulfanilmetil]-1-oxi-piridin-2-il}propiónico (9-6).

Polvo blanco.

¹H-RMN (DMSO-d₆) 10,25 (1H, s) 7,83 (2H, d, J = 8,7 Hz) 7,74-7,68 (3H, m) 7,37 (1H, d, J = 7,8 Hz) 7,23 (1H, t, J = 7,8 Hz) 4,50 (2H, s) 3,02 (2H, t, J = 7,2 Hz) 2,67 (2H, t, J = 7,2 Hz) 2,09 (3H, s).

4-(4-(3-(6-(4-(4-acetamidofenil)-6-amino-5-ciano-pirimidin-2-iltio)metil)-1-oxi-piridin-2-il)propanoil)-piperazin-1-il)metil)piperidin-1-carboxilato de t-butilo (9-7)

Se disolvió ácido 3-{6-[4-(4-acetilaminofenil)-6-amino-5-ciano-pirimidin-2-ilsulfanilmetil]-1-oxi-piridin-2-il}propiónico (9-6) (520 mg) en una mezcla de acetona (10 ml) y dimetilformamida (10 ml). A la disolución se agregó 1-hidroxi-1H-benzotriazol (224 mg), clorhidrato de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)-carbodiimida (318 g), 4-piperazin-1-ilmetil-piperidina-1-carboxilato de t-butilo (315 mg) en ese orden y la mezcla se sometió a reflujo durante 2 horas. La acetona se retiró al vacío y luego se agregaron acetato de etilo y agua a esta y la mezcla se agitó durante 30 minutos. La mezcla se transfirió a un embudo de separación y la capa orgánica se lavó con hidrógeno carbonato de sodio acuoso saturado y salmuera en ese orden, se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se concentró al vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (cloruro de metileno : metanol = 50 : 1) para proporcionar 470 mg de 4-(4-(3-(6-(4-(4-acetamidofenil)-6-amino-5-cianopirimidin-2-iltio)metil)-1-oxi-piridin-2-il)propanoil)piperazin-1-il)metil)-piperidina-1-carboxilato de t-butilo (9-7).

Polvo blanco.

¹H-RMN (CDCl₃) 7,98 (2H, d, J = 8,7 Hz) 7,69-7,61 (3H, m) 7,43 (1H, dd, J = 7,8, 1,8 Hz) 7,31 (1H, dd, J = 7,8, 1,8 Hz) 7,09 (1H, t, J = 7,8 Hz) 5,75 (2H, s) 4,65 (2H, s) 4,12-4,00 (2H, m) 3,55 (2H, s a) 3,46 (2H, s a) 3,24 (2H, t, J = 7,2 Hz) 2,87 (2H, t, J = 7,2 Hz) 2,71-2,63 (2H, m) 2,32-2,29 (4H, m) 2,23 (3H, s) 2,11 (2H, d, J = 6,9 Hz) 1,71-1,67 (3H, m) 1,46 (9H, s) 1,07-0,97 (2H, m).

Triclorhidrato de N-(4-(6-amino-5-ciano-2-((6-(3-oxo-3-(4-(piperidin-4-il-metil)piperazin-1-il)propil)-1-oxi-piridin-2-il)metil-tio)pirimidin-4-il)fenil)acetamida (9-8)

A 4-(4-(3-(6-(4-(4-acetamidofenil)-6-amino-5-cianopirimidin-2-iltio)metil)-1-oxipiridin-2-il)-propanoil)piperazin-1-il)metil)piperidina-1-carboxilato de t-butilo (450 mg) se agregaron 4,5 ml de cloruro de hidrógeno [1 mol/L en acetato de etilo] y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 24 horas. El precipitado se recogió en un filtro, se lavó con acetato de etilo y se secó para proporcionar un cristal bruto blanco. El cristal bruto se disolvió en agua (2,5 ml) a temperatura ambiente y se filtró. Al filtrado se agregó lentamente acetona (10 ml) y la mezcla se agitó durante 6 horas. El cristal precipitado se recogió en un filtro, se lavó con acetona y luego se secó para proporcionar 230 mg de triclorhidrato de N-(4-(6-amino-5-ciano-2-((6-(3-oxo-3-(4-(piperidin-4-il-metil)piperazin-1-il)propil)-1-oxi-piridin-2-il)metiltio)pirimidin-4-il)fenil)acetamida.

Polvo blanco.

¹H-RMN (DMSO-d₆) 10,65 (1H, m) 10,33 (1H, s) 8,80-8,66 (2H, m) 7,82 (2H, d, J = 8,7 Hz) 7,75-7,69 (3H, m) 7,43 (1H, d, J= 7,8 Hz) 7,25 (1H, t, J= 7,8 Hz) 4,50 (2H, s) 4,42-4,38 (1H, m) 4,18-4,09 (1H, m) 3,74-3,25 (8H, m) 3,08-3,01 (4H, m) 2,87-2,70 (4H, m) 2,09 (3H, s) 2,08-1,97 (2H, m) 1,47-1,39 (2H, m).

5 De aquí en adelante, se muestran algunos ejemplos de composiciones farmacéuticas que comprenden los presentes compuestos.

Ejemplo 8

10 A un vaso de precipitados inoxidable de 5 L se agregó agua purificada (alrededor de 4,5 kg). Se agregaron glicerina concentrada (130 g) como agente isotónico y ácido succínico (3,5 g) como tampón a estos y la mezcla se agitó hasta lograr la disolución. A continuación, se agregó N-(4-(6-amino-5-ciano-2-((6-(3-oxo-3-(4-(piperidin-4-ilmetil)piperazin-1-il)propil)piridin-2-il)metiltio)-pirimidin-4-il)fenil)acetamida (el compuesto del Ejemplo 1)(0,5 g) a la disolución y la mezcla se agitó hasta lograr la disolución. A la disolución se agregó bromuro de benzododecinio (0,3 g) como conservante y la mezcla se agitó suavemente. La disolución completa se confirmó visualmente. A la disolución se agregó gradualmente hidróxido de sodio acuoso al 4 % (p/p) para ajustar el pH hasta 6,6. Después de ajustar el pH, se agregó agua purificada a la disolución para completar un peso total de 5,0 kg y la disolución se agitó suavemente. 15 La disolución se filtró de manera aséptica y luego el filtrado se puso de manera aséptica en un frasco de gotas oftálmicas y se selló el frasco.

Ejemplo 9

Una composición farmacéutica del Ejemplo 9 se preparó utilizando dihidrógenofosfato de sodio (3,00 g) como tampón en lugar de ácido succínico de manera similar a la del Ejemplo 8.

20 Ejemplo 10

Una composición farmacéutica del Ejemplo 10 se preparó utilizando glucosa (275 g) como agente isotónico en lugar de glicerina concentrada de manera similar a la del Ejemplo 8.

Ejemplo 11

25 Una composición farmacéutica del Ejemplo 11 se preparó utilizando manitol (255 g) como agente isotónico en lugar de glicerina concentrada de manera similar a la del Ejemplo 8.

Ejemplo 12

Una composición farmacéutica del Ejemplo 12 se preparó utilizando glicerina concentrada (68 g) y propilenglicol (50 g) como agente isotónico en lugar de glicerina concentrada de manera similar a la del Ejemplo 8.

Ejemplo 13

30 Una composición farmacéutica del Ejemplo 13 se preparó utilizando glicerina concentrada (105 g) y sorbitol (43 g) como agente isotónico en lugar de glicerina concentrada de manera similar a la del Ejemplo 8.

Ejemplo 14

Una composición farmacéutica del Ejemplo 14 se preparó utilizando propilenglicol (50 g), manitol (100 g) y sorbitol (43 g) como agente isotónico en lugar de glicerina concentrada de manera similar a la del Ejemplo 8.

35 Ejemplo 15

Una composición farmacéutica del Ejemplo 15 se preparó utilizando cloruro de benzalconio (0,5 g) como conservante en lugar de bromuro de benzododecinio de manera similar a la del Ejemplo 8.

De aquí en adelante, se describen los ejemplos de pruebas farmacológicas que utilizan los compuestos de la invención.

40 Prueba 1: acción de generación de c-AMP en célula que expresa el receptor de adenosina A2a

La prueba se llevó a cabo según se menciona a continuación con referencia al método descrito en la referencia (Klotz K.N. et al., Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol., (1998) 357, 1-9; Shryock J.C. et al., Molecular Pharmacology, (1998) 53, 886-893).

45 Con respecto a la célula utilizada en la prueba, se utilizó la célula HEK293 que expresa el receptor de adenosina A2a (Humano) (PerkinElmer Life Sciences, n.º de código RBHA2AC).

Con respecto al medio de cultivo, se utilizó el medio Eagles modificado de Dulbecco (DMEM) que incluía FBS al 10 % (suero bovino fetal) y 1 mM de piruvato de sodio.

- La célula se colocó en una placa de 96 pocillos (1×10^5 /pocillo) y se cultivó durante toda la noche. Después de retirar el sobrenadante, se agregó 0,1 ml de DMEM (sin FBS) que contenía 20 mM de HEPES, 0,1 mM de IBMX (3-isobutil-1-metilxantina) y 2 unidades/mL de adenosina desaminasa a cada pocillo y se incubaron a 37 °C durante 30 minutos. A continuación, se agregó 0,1 ml de medio de cultivo que contenía la disolución en DMSO del compuesto de prueba en la concentración predeterminada a cada pocillo y se incubaron durante 30 minutos adicionales. Después de retirar el sobrenadante, se agregó disolución citolítica a estos para aplacar la reacción. Se midió la cantidad de c-AMP en cada pocillo utilizando el sistema de inmunoanálisis enzimático de c-AMP (EIA) (Amersham Biosciences, n.º de código RPN225).
- El mismo ensayo se repitió utilizando clorhidrato de CGS-21680 (2-p-carboxietil)fenetilamino-5'-N-etilcarboxamidoadenosina, (Sigma, código C141) como compuesto de referencia.
- La cantidad de c-AMP resultante en el medio de referencia, provocada por $1 \mu\text{M}$ del compuesto de referencia, se definió como el 100 %. Se midió cantidad de c-AMP resultante en cada medio de prueba y se calculó la concentración que producía el 50 % de la cantidad de c-AMP en función de los resultados en cada compuesto de prueba en la concentración predeterminada, que se definió como el valor CE_{50} .
- Los resultados de la prueba anterior obtenidos utilizando los siguientes compuestos de la invención preparados en los ejemplos indicados anteriormente se muestran en la siguiente Tabla.

Resultado

Ejemplo	Actividad agonista de A2a (CE_{50} , nM)
1	3,3
2	2,9
3	1,8
4	6,1
5	8,4

Prueba 2: Efecto del compuesto del ejemplo 1 sobre células de epitelio de la córnea

[Método]

- Se utilizaron células de epitelio de córnea de conejo (KURABO) como la célula para la prueba. A la célula de epitelio de córnea de conejo colocada en una placa de 96 pocillos se agregó el compuesto del Ejemplo 1 y la muestra se incubó durante 60 minutos. A continuación, la muestra se irradió con UVA ($3,5 \text{ mW/cm}^2$) durante 70 minutos utilizando un simulador solar (SOL500). A continuación, las células se lavaron con un tampón. Después de 24 horas, se evaluó la viabilidad celular mediante el ensayo de absorción de rojo neutro.

[Resultado]

- El resultado se muestra en la figura 1. Las viabilidades celulares después de la adición del compuesto del ejemplo 1 (0.25, 0.5 and 1 mM) y luego la irradiación con el simulador solar fueron de 106,3 %, 115,0 % y 100,7 %, respectivamente y, por consiguiente, no se observó una disminución en la viabilidad celular.
- A partir del resultado anterior queda claro que la presente preparación se puede utilizar en una concentración elevada incluso al aire libre en la luz solar dado que el presente compuesto no exhibió ninguna citotoxicidad incluso en su uso a una concentración elevada y la presente preparación es un medicamento que se puede utilizar de forma segura.

Prueba 3: Relajación vascular

- El trastorno circulatorio ocular se produce en glaucoma, retinitis pigmentosa, degeneración macular, neuropatía óptica isquémica, oclusión de la arteria retinal, oclusión de la vena retinal, retinopatía diabética e iridociclitis. En especial, se considera que el trastorno circulatorio en la cabeza del nervio óptico es un factor importante en el glaucoma.
- El flujo sanguíneo ocular tiene dos sistemas circulatorios. Uno es una vía a través de la arteria ciliar y el otro es una vía a través de la arteria retinal central. La arteria ciliar pasa por las arterias en la coroides, cabeza del nervio óptico,

iris y cuerpo ciliar. Por otro lado, la arteria retinal central pasa por la arteria en la retina, y una parte de la arteria retinal central se ramifica a la arteriola en la cabeza del nervio óptico.

- 5 El compuesto del Ejemplo 1, relaja la arteria ciliar y se considera que mejora el flujo sanguíneo ocular. Por lo tanto, se espera que el compuesto del ejemplo 1 sea un fármaco eficaz para el tratamiento de enfermedades oculares tales como glaucoma, retinitis pigmentosa, degeneración macular, neuropatía óptica isquémica, oclusión de la arteria retinal, oclusión de la vena retinal, retinopatía diabética e iridociclitis.

<Material y método>

- 10 Se sacrificó a los conejos con una sobredosis de pentobarbital sódico mediante administración intravenosa. Se extirparon los ojos y se aislaron las arterias ciliares. Se cortaron anillos vasculares de 2 mm de longitud de las arterias ciliares y se fijaron en un Danish Multi Myograph System 610M (tecnología de Danish myo) en observación microscópica. Los vasos se equilibraron en disolución de Krebs oxigenada con CO₂ al 5 % y O₂ al 95 % a 37 °C.

Para confirmar el daño en el endotelio de los vasos, se evaluó la relajación de la arteria ciliar mediante 100 μ M de carbacol. Si la relajación mediante carbacol fue superior al 30 %, se utilizaron los vasos cuyo endotelio no presentaba daño para los experimentos.

- 15 Después de que se contrajo la arteria ciliar con disolución de Krebs elevada en K⁺, el compuesto del ejemplo 1 se administró en serie a la cámara de 0,3 μ M a 300 μ M. La tensión se midió mediante Mydaq ver 2.01 (tecnología de Danish myo).

<Resultado>

- 20 Los resultados se muestran en la siguiente tabla y figura 2. El compuesto del ejemplo 1 relajó la arteria ciliar en conejos de forma dependiente de la dosis y la CE₅₀ fue 17,0 μ M. Por consiguiente, se concluye que el compuesto del ejemplo 1 exhibe relajación de la arteria ciliar.

Concentración (μ M)	Relajación (%)
0,3	2,6 $\pm$ 0,5
1	4,8 $\pm$ 1,2
3	7,9 $\pm$ 2,3
10	35,3 $\pm$ 14,4
30	65,6 $\pm$ 9,5
100	82,4 $\pm$ 3,7
300	90,1 $\pm$ 2,4

Prueba 4: Neuroprotección

- 25 En el glaucoma, una de las enfermedades oculares que conducen a la pérdida de la visión, la célula del ganglio retinal (RGC, por sus siglas en inglés) se lesiona selectivamente. A continuación, se lesiona el nervio óptico y finalmente surge el defecto en el campo visual. La oclusión de la arteria retinal, la oclusión de la vena retinal, la retinopatía diabética y la neuropatía óptica isquémica son también enfermedades oculares relacionadas con un trastorno del nervio óptico. Además, la degeneración macular, la retinitis pigmentosa y la neuropatía óptica hereditaria de Leber son enfermedades oculares relacionadas con el daño de la célula neuronal en la retina.

- 30 El compuesto del ejemplo 1, que muestra efectos neuroprotectores en RGC, se espera que sea un fármaco neuroprotector para su uso en el tratamiento de enfermedades oculares tales como oclusión de la arteria retinal, oclusión de la vena retinal, retinopatía diabética, neuropatía óptica isquémica, degeneración macular, retinitis pigmentosa y neuropatía óptica hereditaria de Leber.

<Material y método>

- 35 Este experimento se llevó a cabo según el método descrito por Otori et al. (Invest Ophthalmol Vis Sci. 39: 972-981, 1998).

Se extirparon los ojos de ratas Long Evans de 7 días. Se aislaron las retinas de los ojos. Las retinas se disociaron mediante incubación con medio Neurobasal que incluía 15 U/mL de papaína a 37 °C durante 30 minutos. Se preparó la suspensión retinal.

5 La suspensión retinal se incubó en un matraz recubierto con anticuerpo anti-SIRP (Chemicon) a temperatura ambiente durante 30 minutos. Las células no adherentes se colocaron en un matraz recubierto con anticuerpo anti-thy-1 (Chemicon). Las células se incubaron a temperatura ambiente durante 30 minutos. Finalmente, las células adherentes en el matraz se lavaron con medio Neurobasal. Después de la centrifugación a 800 rpm durante 5 minutos, se prepararon las RGC purificadas. Las células se sembraron sobre cubreobjetos de vidrio que se habían recubierto con poli-L-lisina y laminina. Las RGC purificadas se cultivaron en medio Neurobasal que contenía
10 complemento B27, 1 mM de glutamina 50 ng/mL de CNTF, 10 de μ M Forskolina. El cultivo se mantuvo a 37 °C en atmósfera humidificada que contenía CO₂ al 5 % y aire al 95 %. Inmediatamente después de sembrar las células, se administró BDNF (50 ng/mL) o el compuesto del ejemplo 1 a una concentración final de 0 nM (testigo), 3 nM, 10 nM o 30 nM.

15 Se determinó la supervivencia celular (viabilidad celular) al contar las RGC teñidas. Cinco días después del inicio del cultivo, las RGC se tiñeron con 1 μ M Calceína-AM (sonda molecular). La cantidad de RGC se contó utilizando un microscopio de fluorescencia. El porcentaje de supervivencia celular (viabilidad celular) se calculó mediante el uso de los recuentos del grupo testigo como 0 % y los recuentos del grupo con BDNF como 100 %.

<Resultado>

20 Los resultados se muestran en la siguiente tabla y figura 3. El compuesto del ejemplo 1 exhibió un aumento en la supervivencia celular dependiente de la dosis. Este resultado sugiere que el compuesto del ejemplo 1 tuvo efectos neuroprotectores sobre las RGC.

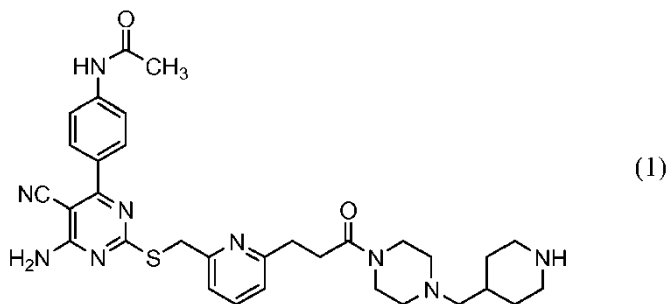
Grupos	n	Supervivencia celular (%)
Testigo	8	0,0±6,5
Ejemplo 1 3 nM	8	10,9±7,0
Ejemplo 1 10 nM	8	46,5±7,0
Ejemplo 1 30 nM	8	41,9±5,5

Datos=Media±DT

25 La supervivencia celular se calculó mediante el uso de los recuentos de los grupos testigo como 0 % y los recuentos de los grupos con BDNF como 100 %.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de cianopirimidina de fórmula (1):



o una sal de este.

- 5 2. El compuesto de cianopirimidina de la reivindicación 1, que es N-(4-(6-amino-5-ciano-2-((6-(3-oxo-3-(4-(piperidin-4-ilmetil)piperazin-1-il)propil)piridina-2-il)metiltio)pirimidina-4-il)fenil)acetamida, o una sal de este.
3. Una composición farmacéutica que comprende el compuesto de la reivindicación 1 o 2 o una sal de este, y un vehículo farmacéuticamente aceptable.
- 10 4. La composición farmacéutica de la reivindicación 3 para uso en el tratamiento o prevención de una enfermedad ocular.
5. La composición farmacéutica para el uso de la reivindicación 4, en la que el uso es tratar o prevenir el glaucoma.
6. Uso del compuesto de la reivindicación 1 o 2 o una sal de este para preparar un medicamento para tratar una enfermedad ocular.
- 15 7. Un compuesto de la reivindicación 1 o 2 o una sal de este para su uso en el tratamiento de una enfermedad ocular.
8. Una preparación líquida acuosa que comprende la composición farmacéutica de la reivindicación 3.
9. La preparación líquida acuosa de la reivindicación 8 que comprende, además, uno o más aditivos seleccionados entre tampón, agente isotónico, conservante, solubilizante y agente para ajustar el pH farmacéuticamente aceptables.
- 20 10. La preparación líquida acuosa de la reivindicación 9 en la que el tampón se selecciona entre ácido succínico, ácido bórico, ácido fosfórico, aminoácido, y una sal farmacéuticamente aceptable de estos.
11. La preparación líquida acuosa de la reivindicación 10 en la que el tampón es ácido succínico.
12. La preparación líquida acuosa de la reivindicación 9 en la que el agente isotónico es uno o dos agentes isotónicos seleccionados entre glucosa, sorbitol, manitol, cloruro de sodio, cloruro de potasio, propilenglicol y glicerina.
- 25 13. La preparación líquida acuosa de la reivindicación 9 en la que el conservante se selecciona entre cloruro de benzalconio, cloruro de bencetonio, bromuro de benzododecinio, gluconato de clorhexidina, para-oxibenzoato de metilo, para-oxibenzoato de propilo, clorobutanol y alcohol bencílico.
14. La preparación líquida acuosa de una cualquiera de las reivindicaciones 8 a 13 en la que el pH es 5,0 a 9,0.

Fig. 1

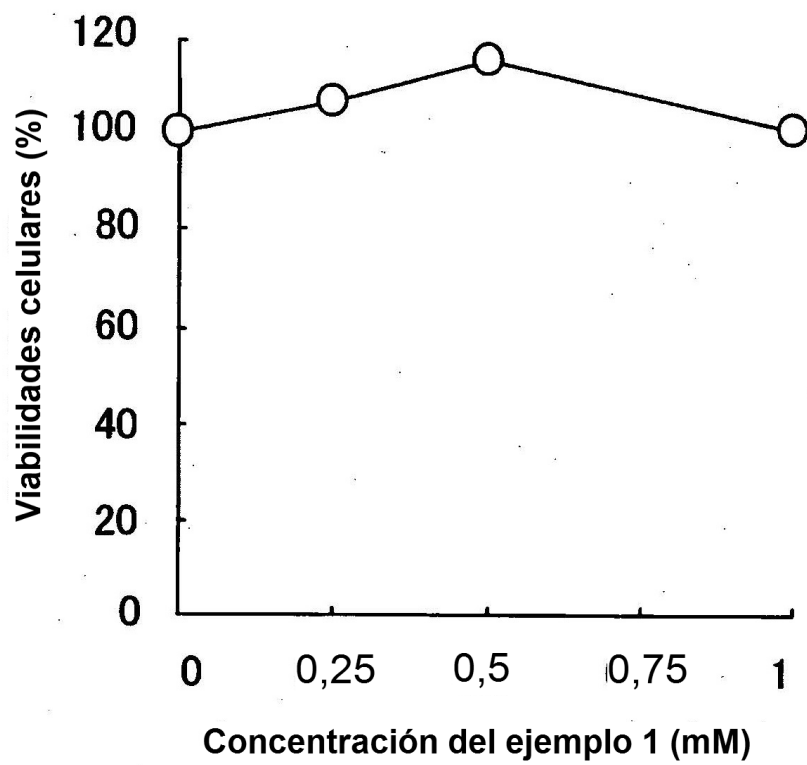
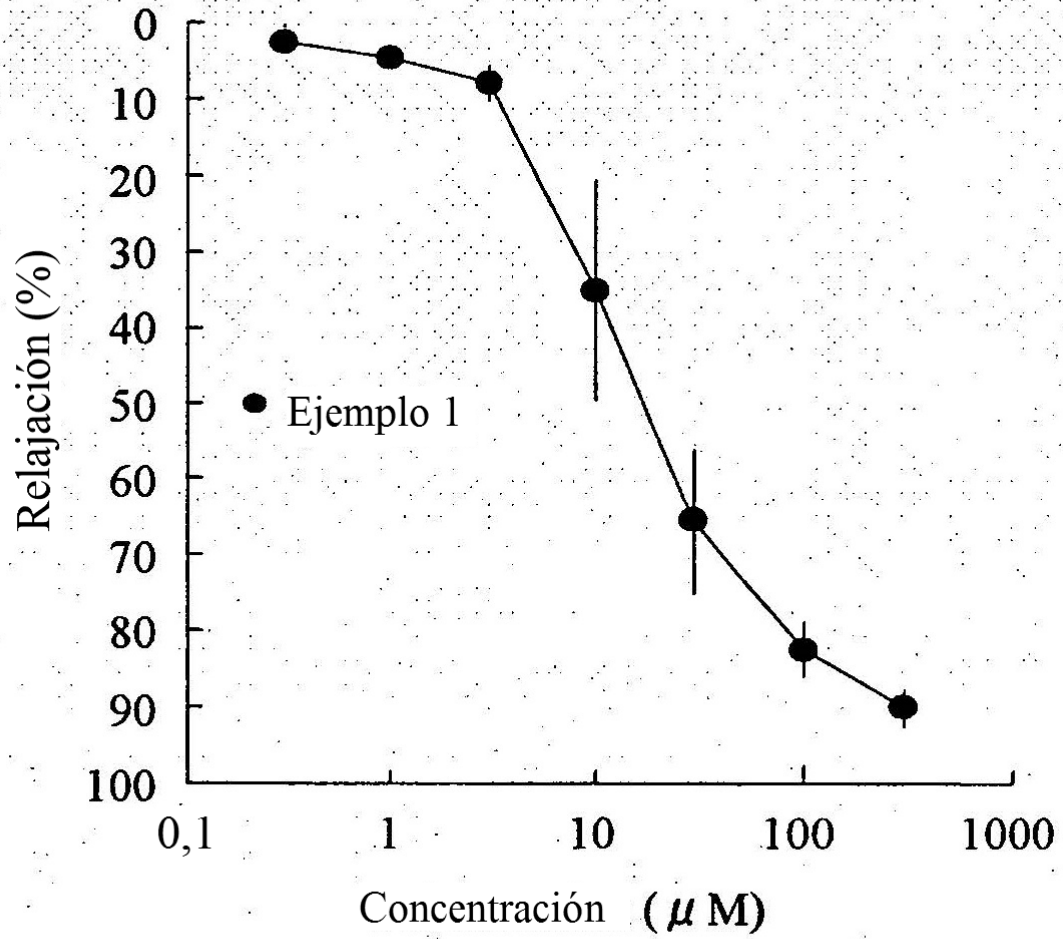


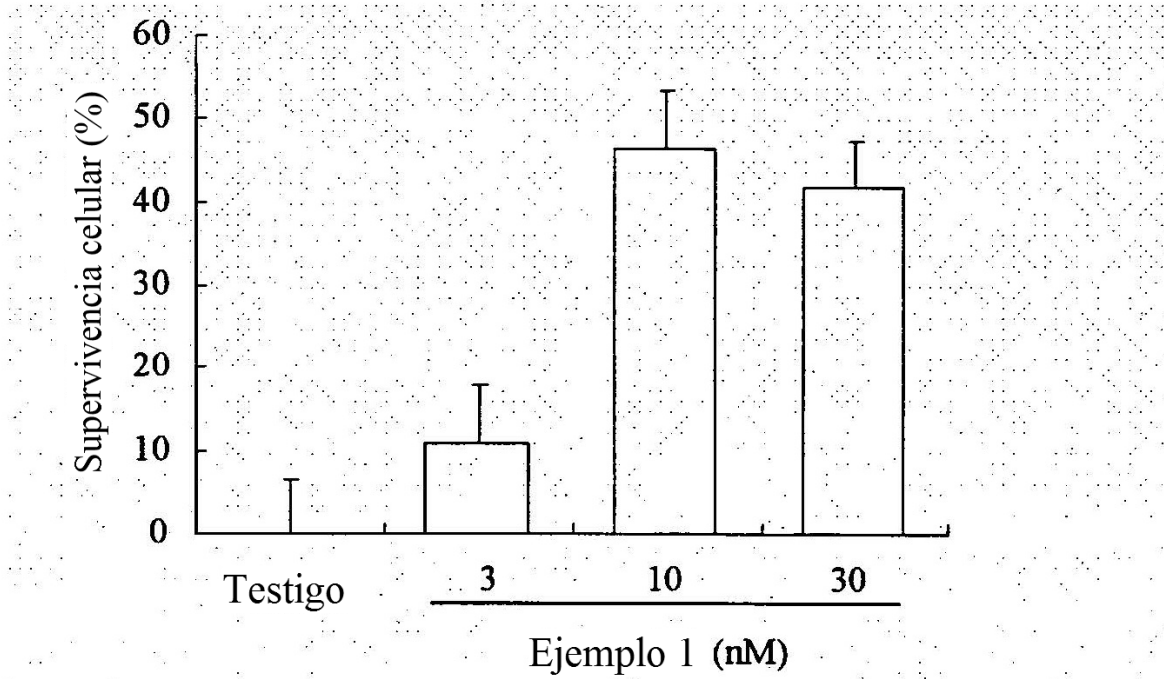
Fig. 2



Efectos del ejemplo 1 en la arteria ciliar en conejos

Datos=Media $\pm$ DT (n=6)

Fig. 3



Efecto del ejemplo 1 sobre la supervivencia celular en células de ganglio retinal de rata

DATOS=Media $\pm$ DT (n=8)