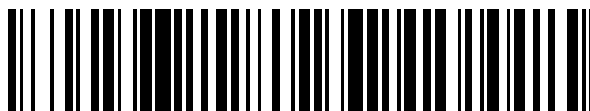


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 738 573**

51 Int. Cl.:

**C07D 239/48** (2006.01)

**A61K 31/505** (2006.01)

**A61P 35/02** (2006.01)

**A61P 43/00** (2006.01)

12

## TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **15.10.2014 PCT/JP2014/077368**

87 Fecha y número de publicación internacional: **23.04.2015 WO15056683**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **15.10.2014 E 14854750 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **26.06.2019 EP 3059227**

54 Título: **Sal de compuesto heterocíclico que contiene nitrógeno o cristal del mismo, composición farmacéutica e inhibidor de FLT3**

30 Prioridad:

**16.10.2013 JP 2013215755**

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

**23.01.2020**

73 Titular/es:

**FUJIFILM CORPORATION (100.0%)  
26-30, Nishiazabu 2-chome Minato-ku  
Tokyo 106-8620, JP**

72 Inventor/es:

**MIZUMOTO, SHINSUKE y  
MATSUMOTO, TAKUYA**

74 Agente/Representante:

**VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro**

**ES 2 738 573 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**

Sal de compuesto heterocíclico que contiene nitrógeno o cristal del mismo, composición farmacéutica e inhibidor de FLT3

5

**Campo técnico**

La presente invención se refiere a una sal de un compuesto heterocíclico que contiene nitrógeno, o un cristal del mismo, que es útil como un inhibidor de tirosina quinasa 3 de tipo Fms.

10

**Técnica antecedente**

La tirosina quinasa 3 de tipo Fms (FLT3) es una proteína que pertenece a la clase III de las tirosina quinasas de tipo receptor y tiene cinco motivos de tipo inmunoglobulina en el dominio extracelular del extremo N y dos dominios de quinasa en el extremo C. Se observa expresión de FLT3 en células precursoras de médula ósea humana y células dendríticas normales positivas para CD34 y desempeña un papel importante para la proliferación, diferenciación y así sucesivamente de estas células (documento no de patente 1). Además, el ligando (FL) de FLT3 se expresa en células estromales de la médula ósea y linfocitos T y es una de las citocinas que afectan a la citogénesis de muchos tipos de sistemas hematógenos y estimulan la proliferación de células madre, células precursoras, células dendríticas y células citolíticas naturales a través de interacciones con otros factores de crecimiento.

15

20

FLT3 se dimeriza tras la unión de FL y se activa por autofosforilación. Como resultado, se induce fosforilación de PI3, así como AKT y ERK en la ruta de transducción de señales RAS. FLT3 desempeña un papel importante para la proliferación y diferenciación de células hematopoyéticas.

25

En la médula ósea normal, la expresión de FLT3 está limitada a células precursoras tempranas, pero en el carcinoma de sangre, FLT3 se sobreexpresa o FLT3 provoca una mutación y por lo tanto contribuye a la proliferación y alteración maligna del carcinoma a través de la activación de la ruta de transducción de señal mencionada anteriormente. El carcinoma de sangre incluye, por ejemplo, leucemia linfocítica aguda (LLA), leucemia mieloide aguda (LMA), leucemia promielocítica aguda (LPA), leucemia linfocítica crónica (LLC), leucemia mieloide crónica (LMC), leucemia neutrofilica crónica (LNC), leucemia indiferenciada aguda (LIA), linfoma de células grandes anaplásicas (LPGA), leucemia prolinfocítica (LPL), leucemia mielomonocítica juvenil (LMMJ), leucemia de linfocitos T de adultos (LTA), síndrome mielodisplásico (SMD) y trastorno mieloproliferativo (TMD).

30

35

En cuanto a la LMA entre los carcinomas de sangre, varias de las terapias existentes son eficaces en cierta medida, pero se observan recaída y resistencia con frecuencia y aún es un carcinoma tan difícil de tratar que la tasa de supervivencia a los cinco años para ese carcinoma es de aproximadamente el 24 % (en los Estados Unidos) (documento no de patente 2). Una de las causas de la recaída y resistencia de la misma es la mutación génica de las células de LMA y, especialmente, la mutación génica de FLT3 se confirma con mayor frecuencia. Se sabe que la mutación del gen de FLT3 incluye mutación de duplicación interna en tándem (ITD) que se observa cerca de la membrana (documento no de patente 3) y mutación de activación del sitio de tirosina quinasa (documento no de patente 4), y FLT3 se activa constantemente incluso en ausencia del ligando para acelerar la proliferación de células cancerosas.

40

45

Se ha informado de que la mutación de ITD, en particular, se observa en aproximadamente el 30 % de los pacientes con LMA y el pronóstico vital de los pacientes que tienen esta mutación es deficiente (documento no de patente 5).

Se cree que la supresión tanto de la activación de FLT3 como de la activación del mismo por mutación génica es importante para el tratamiento de la LMA y la mejora del pronóstico y se realiza desarrollo del inhibidor de FLT3.

50

Por ejemplo, AC220 (Amit) es un compuesto que inhibe selectivamente tirosina quinasas de tipo III (FLT3, c-KIT, FMS, PDGFR) y se desarrolla con direccionamiento a LMA (documento de patente 1).

Además, se han desarrollado y comercializado fármacos que muestran actividad y sostenibilidad superiores mediante unión covalente con una proteína biológica. Por ejemplo, Afatinib (BIBW2992) se ha señalado como un inhibidor de EGFR que tiene un grupo acrílico en la molécula (documento de patente 2) y se comercializa en los Estados Unidos. El documento WO 2006/133426 también desvela derivados de pirimidina útiles para tratar el cáncer.

55

60

**Referencias de la técnica anterior****Documentos de patente**

Documento de patente 1: WO2007/109120A2

Documento de patente 2: Publicación de patente japonesa sin examinar (Kohyo) n. 2009-515851

65

**Documentos no de patente**

Documento no de patente 1: Brown P. *et al.*, European Journal of Cancer, vol. 40, págs. 707-721, 2004

5 Documento no de patente 2: American Cancer Society, Cancer Facts and Figures, págs. 9-24, 2012

Documento no de patente 3: Yokota S. *et al.*, Leukemia, vol. 11, págs. 1605-1609, 1997

10 Documento no de patente 4: Choudhary C. *et al.*, Blood, vol. 106, págs. 265-273, 2005

Documento no de patente 5: Kiyoi H. *et al.*, Oncogene, vol. 21, págs. 2555-2563, 2002

**Sumario de la invención****15 Objetivo a lograr con la invención**

Los inhibidores de FLT3 convencionales no tienen necesariamente suficiente acción inhibitoria de FLT3 y son deseables un compuesto y una composición farmacéutica que muestren mayor actividad inhibitoria de FLT3. Además, son deseables un compuesto y una composición farmacéutica que tengan una acción inhibitoria de FLT3, que muestren una estabilidad durante el almacenamiento y/o solubilidad, etc. superiores y, por tanto, sean útiles como un ingrediente activo de fármacos.

**Medios para lograr el objetivo**

25 Los inventores de la presente invención llevaron a cabo diversas investigaciones en una situación tal como la descrita anteriormente. Como resultado, encontraron que una sal de (S,E)-N-(1-((5-(2-((4-cianofenil)amino)-4-(propilamino)pirimidin-5-il)pent-4-in-1-il)amino)-1-oxopropan-2-il)-4-(dimetilamino)-N-metilbut-2-enamida (de ahora en adelante también denominada como compuesto A) o un cristal de la misma tiene actividad inhibitoria de FLT3, estabilidad durante el almacenamiento y/o solubilidad, etc. aumentadas y, por lo tanto, es útil como un ingrediente activo de fármacos y completaron la presente invención basándose en estos hallazgos.

La presente invención en consecuencia proporciona los siguientes.

35 [1] Una sal de ácido carboxílico (carboxilato) o una sal de ácido mineral de (S,E)-N-(1-((5-(2-((4-cianofenil)amino)-4-(propilamino)pirimidin-5-il)pent-4-in-1-il)amino)-1-oxopropan-2-il)-4-(dimetilamino)-N-metilbut-2-enamida, en donde el carboxilato es formiato, acetato, lactato, benzoato, citrato, fumarato, maleato, succinato, malato, tartrato, aspartato, tricloroacetato, trifluoroacetato o pamoato y la sal de ácido mineral es clorhidrato, bromhidrato, yodhidrato, nitrato, fosfato o sulfato.

40 [2] La sal de acuerdo con [1], en donde el carboxilato es fumarato, succinato o pamoato.

[3] La sal de acuerdo con [1], en donde la sal de ácido mineral es clorhidrato o bromhidrato.

45 [4] Un cristal de succinato de (S,E)-N-(1-((5-(2-((4-cianofenil)amino)-4-(propilamino)pirimidin-5-il)pent-4-in-1-il)amino)-1-oxopropan-2-il)-4-(dimetilamino)-N-metilbut-2-enamida, que muestra picos de difracción a ángulos de difracción ( $2\theta$ ) de 10,5, 17,1, 19,1 y 22,4° en difracción de rayos X en polvo.

50 [5] Un cristal de succinato de (S,E)-N-(1-((5-(2-((4-cianofenil)amino)-4-(propilamino)pirimidin-5-il)pent-4-in-1-il)amino)-1-oxopropan-2-il)-4-(dimetilamino)-N-metilbut-2-enamida, que muestra picos de difracción a ángulos de difracción ( $2\theta$ ) de 12,8, 16,1, 21,4 y 28,0° en difracción de rayos X en polvo.

55 [6] Un cristal de fumarato de (S,E)-N-(1-((5-(2-((4-cianofenil)amino)-4-(propilamino)pirimidin-5-il)pent-4-in-1-il)amino)-1-oxopropan-2-il)-4-(dimetilamino)-N-metilbut-2-enamida, que muestra picos de difracción a ángulos de difracción ( $2\theta$ ) de 8,6, 13,7, 17,8 y 23,0° en difracción de rayos X en polvo.

[7] Una composición farmacéutica que contiene la sal de acuerdo con uno cualquiera de [1] a [3] o el cristal de acuerdo con uno cualquiera de [4] a [6].

La presente invención también proporciona los siguientes.

60 (a) Una sal del compuesto A o un cristal de la misma para su uso como un fármaco.

65 (b) Una sal del compuesto A o un cristal de la misma para su uso en un tratamiento de una enfermedad o afección relacionada con FLT3, preferentemente para su uso en un tratamiento de ALL, AML, APL, CLL, LMC, CNL, AUL, ALCL, PML, JMML, ATL, MDS o MPD, más preferentemente para su uso en un tratamiento de AML o APL, aún más preferentemente para su uso en un tratamiento de AML.

(c) Una composición farmacéutica que contiene una sal del compuesto A o un cristal de la misma y un aditivo farmacéuticamente aceptable.

5 (d) Uso de una sal del compuesto A o un cristal de la misma para la fabricación de un fármaco para su uso en un tratamiento de una enfermedad o afección relacionada con FLT3, preferentemente para su uso en un tratamiento de ALL, AML, APL, CLL, LMC, CNL, AUL, ALCL, PML, JMML, ATL, MDS o MPD, más preferentemente para su uso en un tratamiento de AML o APL, aún más preferentemente para su uso en un tratamiento de AML.

10 (e) Un método para un tratamiento de una enfermedad relacionada con FLT3, preferentemente para su uso en un tratamiento de ALL, AML, APL, CLL, LMC, CNL, AUL, ALCL, PML, JMML, ATL, MDS o MPD, más preferentemente para su uso en un tratamiento de AML o APL, aún más preferentemente para su uso en un tratamiento de AML, que comprende la etapa de administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de una sal del compuesto A o un cristal de la misma a un objetivo (mamífero incluyendo el ser humano) que necesita dicho tratamiento.

15 (f) Un método para producir la sal de acuerdo con uno cualquiera de [1] a [7] o el cristal de acuerdo con uno cualquiera de [8] a [10], que comprende la etapa de convertir el compuesto A en una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

20

### Efecto de la invención

De acuerdo con la presente invención, se puede proporcionar una sal de un compuesto heterocíclico que contiene nitrógeno o un cristal de la misma que muestra acción inhibitoria de FLT3, estabilidad durante el almacenamiento y/o solubilidad, etc. superiores y, por lo tanto, útil como un ingrediente activo de fármacos.

25

### Breve descripción de los dibujos

30 La fig. 1 muestra un ejemplo del espectro de absorción infrarrojo (método ATR) de un cristal de forma  $\alpha$  de succinato del compuesto A.

La fig. 2 muestra un ejemplo de patrón de difracción de rayos X en polvo de un cristal de forma  $\alpha$  de succinato del compuesto A.

La fig. 3 muestra un ejemplo del espectro de absorción infrarrojo (método ATR) de un cristal de forma  $\beta$  de succinato del compuesto A.

35 La fig. 4 muestra un ejemplo de patrón de difracción de rayos X en polvo de un cristal de forma  $\beta$  de succinato del compuesto A.

La fig. 5 muestra un ejemplo del espectro de absorción infrarrojo (método ATR) de un cristal de fumarato del compuesto A.

40 La fig. 6 muestra un ejemplo del patrón de difracción de rayos X en polvo de un cristal de fumarato del compuesto A.

### Modos de llevar a cabo la invención

45 A continuación, se explicará en detalle la presente invención.

En la presente invención, los intervalos de valor numérico mostrados con "a" significan intervalos que incluyen los valores numéricos indicados antes y después de "a" como los valores mínimo y máximo, respectivamente. En la presente invención, cuando dos o más tipos de sustancias que corresponden a un ingrediente de una composición están presentes en la composición, la cantidad del ingrediente significa la cantidad total de dos o más tipos de las sustancias presentes en la composición, a menos que esté especialmente indicado.

50

En la presente invención, los términos tienen los siguientes significados a menos que se especifique especialmente.

Un átomo de halógeno significa un átomo de flúor, un átomo de cloro, un átomo de bromo o un átomo de yodo.

55

Un grupo alquilo  $C_{1-6}$  significa un grupo alquilo  $C_{1-6}$  lineal o ramificado tal como los grupos metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, *sec*-butilo, isobutilo, *terc*-butilo, pentilo, isopentilo, 2-metilbutilo, 2-pentilo, 3-pentilo y hexilo.

Un grupo ar(alquilo  $C_{1-6}$ ) significa un grupo ar(alquilo  $C_{1-6}$ ) tal como los grupos bencilo, difenilmetilo, tritilo, fenetilo, 2-fenilpropilo, 3-fenilpropilo y naftilmetilo.

60

Un grupo alcoxi  $C_{1-6}$  significa un grupo alquilo  $C_{1-6}$  lineal, ramificado o cíclico tal como los grupos etoxi, propoxi, isopropoxi, ciclopropoxi, butoxi, isobutoxi, *sec*-butoxi, *terc*-butoxi, ciclobutoxi, pentiloxi y hexiloxi.

65 Un grupo (alcoxi  $C_{1-6}$ )(alquilo  $C_{1-6}$ ) significa un grupo (alquilo  $C_{1-6}$ )(alquilo  $C_{1-6}$ ) tal como los grupos metoximetilo y 1-etoxietilo.

Un grupo alcanoilo  $C_{2-6}$  significa un grupo alcanoilo  $C_{2-6}$  lineal o ramificado tal como los grupos acetilo, propionilo, valerilo, isovalerilo y pivaloilo.

5 Un grupo aroilo significa un grupo benzoilo o naftoilo.

Un grupo heterociclicarbonilo significa un grupo furoilo, tenoilo, pirrolidinilcarbonilo, piperidinilcarbonilo, piperazinilcarbonilo, morfolinilcarbonilo o piridinilcarbonilo.

10 Un grupo acilo significa un grupo formilo, grupo succinilo, grupo glutarilo, grupo maleoilo, grupo ftaloilo, un grupo alcanoilo  $C_{2-6}$ , grupo aroilo o un grupo heterociclicarbonilo.

Un grupo alcoxicarbonilo  $C_{1-6}$  significa un grupo alquiloxicarbonilo  $C_{1-6}$  lineal o ramificado tal como los grupos metoxicarbonilo, etoxicarbonilo, isopropoxicarbonilo, *terc*-butoxicarbonilo y 1,1-dimetilpropoxicarbonilo.

15 un grupo ar(alcoxi  $C_{1-6}$ )carbonilo significa un grupo ar(alquiloxi  $C_{1-6}$ )carbonilo tal como los grupos benciloxicarbonilo y feniloxicarbonilo.

Un grupo ariloxicarbonilo significa un grupo feniloxicarbonilo o naftiloxicarbonilo.

20 Un grupo alquilsulfonilo  $C_{1-6}$  significa un grupo alquilsulfonilo  $C_{1-6}$  tal como los grupos metilsulfonilo, etilsulfonilo y propilsulfonilo.

Un grupo arilsulfonilo significa un grupo bencenosulfonilo, p-toluenosulfonilo o naftalenosulfonilo.

25 Un grupo alquilsulfonilo  $C_{1-6}$  significa un grupo alquilsulfonilo  $C_{1-6}$  tal como los grupos metilsulfonilo y etilsulfonilo.

Un grupo arilsulfonilo significa un grupo bencenosulfonilo o p-toluenosulfonilo.

30 Un grupo sililo significa un grupo trimetilsililo, trietilsililo o tributilsililo.

Un grupo saliente significa un átomo de halógeno, un grupo alquilsulfonilo  $C_{1-6}$  o un grupo arilsulfonilo. El grupo alquilsulfonilo  $C_{1-6}$  y el grupo arilsulfonilo pueden sustituirse con uno o más grupos seleccionados entre un átomo de halógeno, un grupo nitro, un grupo alquilo  $C_{1-6}$  y un grupo alcoxi  $C_{1-6}$ .

35 El grupo protector de amino puede ser cualquier grupo que pueda usarse como grupo protector habitual para el grupo amino. Los ejemplos incluyen, por ejemplo, los grupos mencionados en T. W. Greene *et al.*, "Protective Groups in Organic Synthesis", 4ª edición, págs. 696-926, 2007, John Wiley & Sons, Inc. Los ejemplos específicos incluyen un grupo ar(alquilo  $C_{1-6}$ ), un grupo (alcoxi  $C_{1-6}$ )(alquilo  $C_{1-6}$ ), un grupo acilo, un grupo alcoxicarbonilo  $C_{1-6}$ , un grupo ar(alcoxi  $C_{1-6}$ )carbonilo, un grupo ariloxicarbonilo, un grupo alquilsulfonilo  $C_{1-6}$ , un grupo arilsulfonilo y un grupo sililo.

Un hidrocarburo alifático significa pentano, hexano, heptano, ciclohexano, metilciclohexano o etilciclohexano.

45 Un hidrocarburo halogenado significa diclorometano, cloroformo o dicloroetano.

Un éter significa éter dietílico, diisopropil éter, tetrahidrofurano, 2-metiltetrahidrofurano, 1,4-dioxano, anisol, éter dimetílico de etilenglicol, dietilenglicol dimetil éter o dietilenglicol dietil éter.

50 Un alcohol significa metanol, etanol, propanol, 2-propanol, butanol, 2-metil-2-propanol, etilenglicol, propilenglicol o dietilenglicol.

Una cetona significa acetona, 2-butanona, 4-metil-2-pentanona o metil isobutil cetona.

55 Un éster significa acetato de metilo, acetato de etilo, acetato de propilo, acetato de isopropilo o acetato de butilo.

Una amida significa N,N-dimetilformamida, N,N-dimetilacetamida o N-metilpirrolidona.

60 Un nitrilo significa acetonitrilo o propionitrilo.

Un sulfóxido significa dimetil sulfóxido o sulfolano.

Un hidrocarburo aromático significa benceno, tolueno o xileno.

65 Una base inorgánica significa hidróxido sódico, hidróxido potásico, metóxido sódico, *terc*-butoxisodio, *terc*-

butoxipotasio, hidrogenocarbonato sódico, carbonato de sodio, carbonato de potasio, fosfato tripotásico, acetato de potasio, fluoruro de cesio o carbonato de cesio.

5 Una base orgánica significa trietilamina, N,N-diisopropiletilamina, 1,8-diazabicyclo(5.4.0)undec-7-eno (DBU), piridina, 4-dimetilaminopiridina o N-metilmorfolina.

Un tratamiento profiláctico significa un tratamiento para inhibir la aparición, reducir el riesgo de la aparición, retrasar la aparición, etc.

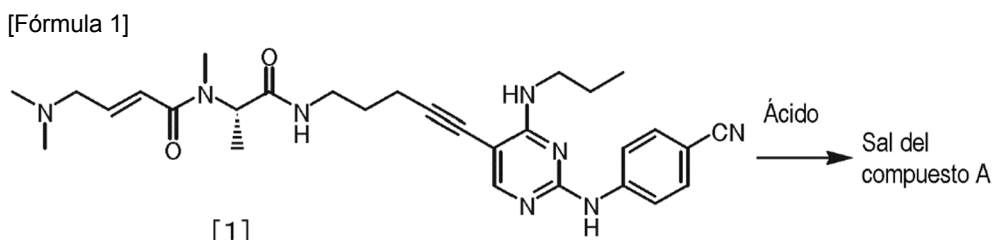
10 Un tratamiento terapéutico significa un tratamiento para mejorar una enfermedad o afección diana, o para suprimir (mantener o retrasar) el agravamiento de la enfermedad o afección.

Un tratamiento significa un tratamiento profiláctico, tratamiento terapéutico o similar de cualquiera de varias enfermedades.

15 A continuación, se explicarán los métodos para preparar el compuesto de la presente invención.

Se prepara una sal del compuesto A mediante una combinación de métodos conocidos *per se* y por ejemplo, puede prepararse por los métodos de preparación mostrados a continuación.

20 [Método de preparación 1]



25 Puede producirse una sal del compuesto A suspendiendo el compuesto A (compuesto de la fórmula [1]) en un disolvente, añadiendo un ácido a la suspensión, calentando la mezcla para disolver el compuesto y enfriando después la solución.

30 Los ejemplos del disolvente usado para esta reacción incluyen, por ejemplo, éteres, alcoholes, cetonas, ésteres, nitrilos, sulfóxidos, hidrocarburos aromáticos y agua y estos pueden usarse en forma de una mezcla de dos o más clases de ellos.

35 Los ejemplos preferidos del disolvente incluyen tetrahidrofurano, 2-metiltetrahidrofurano, 1,4-dioxano, metanol, etanol, 2-propanol, 1-butanol, 2-butanol, acetona, 2-butanona, metil isobutil cetona, acetato de etilo, acetato de isopropilo, acetonitrilo, dimetilsulfóxido, tolueno y agua y son más preferidos 1,4-dioxano, etanol, acetona, acetonitrilo y agua.

40 El volumen del disolvente a usar con respecto al compuesto A puede ser un volumen de 2 a 120 veces (v/p), preferentemente un volumen de 4 a 60 veces (v/p), más preferentemente un volumen de 5 a 30 veces (v/p).

Los ejemplos del ácido usado para esta reacción incluyen ácido carboxílico, ácido mineral y ácido sulfónico (ejemplo de referencia).

45 Los ejemplos del ácido carboxílico incluyen ácido fórmico, ácido acético, ácido láctico, ácido benzoico, ácido cítrico, ácido oxálico, ácido fumárico, ácido maleico, ácido succínico, ácido málico, ácido tartárico, ácido aspártico, ácido tricloroacético, ácido trifluoroacético y ácido pamoico.

50 Se prefieren el ácido acético, ácido láctico, ácido benzoico, ácido cítrico, ácido oxálico, ácido fumárico, ácido maleico, ácido succínico, ácido málico, ácido tartárico y ácido pamoico, son más preferidos el ácido fumárico, el ácido succínico y el ácido pamoico, son aún más preferidos el ácido fumárico y el ácido succínico y el más preferido es el ácido succínico.

55 Los ejemplos del ácido mineral incluyen el ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido yodhídrico, ácido nítrico, ácido fosfórico y ácido sulfúrico. Son más preferidos el ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido nítrico, ácido fosfórico y ácido sulfúrico y son más preferidos el ácido clorhídrico y el ácido bromhídrico.

Algunos ejemplos del ácido sulfónico incluyen ácido metanosulfónico, ácido bencenosulfónico, ácido p-toluenosulfónico, ácido mesitilensulfónico y ácido naftalensulfónico y se prefiere el ácido bencenosulfónico.

La cantidad del ácido a usar puede ser, aunque esta depende del tipo del ácido, de 0,5 a 4,0 equivalentes, preferentemente de 1,0 a 2,0 equivalentes, más preferentemente de 1,0 a 1,5 equivalentes, con respecto al compuesto A.

5 [Método de preparación 2]

10 Puede prepararse una sal del compuesto A suspendiendo el compuesto A en un disolvente 1, añadiendo un ácido a la suspensión, calentando la mezcla para disolver el compuesto, enfriando después la mezcla y añadiendo posteriormente un disolvente 2.

El tipo y la cantidad del disolvente 1 usados para esta reacción son los mismos que los descritos para el método de preparación 1.

15 El tipo y la cantidad del ácido usados para esta reacción son los mismos que los descritos para el método de preparación 1.

20 Los ejemplos del disolvente 2 usados para esta reacción incluyen, por ejemplo, hidrocarburos alifáticos, hidrocarburos halogenados, éteres, alcoholes, cetonas, ésteres, nitrilos e hidrocarburos aromáticos y estos pueden usarse en forma de una mezcla de dos o más clases de ellos.

Los ejemplos preferidos del disolvente 2 incluyen tetrahidrofurano, etanol, 2-propanol, acetona, metiletilcetona, acetato de etilo, acetato de isopropilo, acetonitrilo y tolueno.

25 El volumen del disolvente 2 a usar con respecto al compuesto A puede ser un volumen de 2 a 120 veces (v/p), preferentemente un volumen de 4 a 60 veces (v/p), más preferentemente un volumen de 5 a 30 veces (v/p).

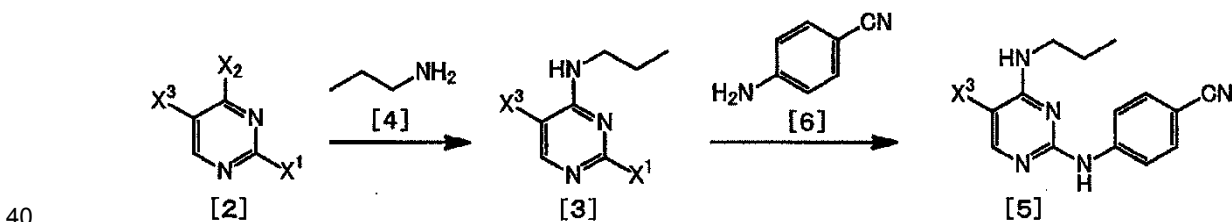
30 Puede purificarse una sal del compuesto A obtenida mediante los métodos de preparación anteriormente mencionados por métodos habituales tales como recristalización.

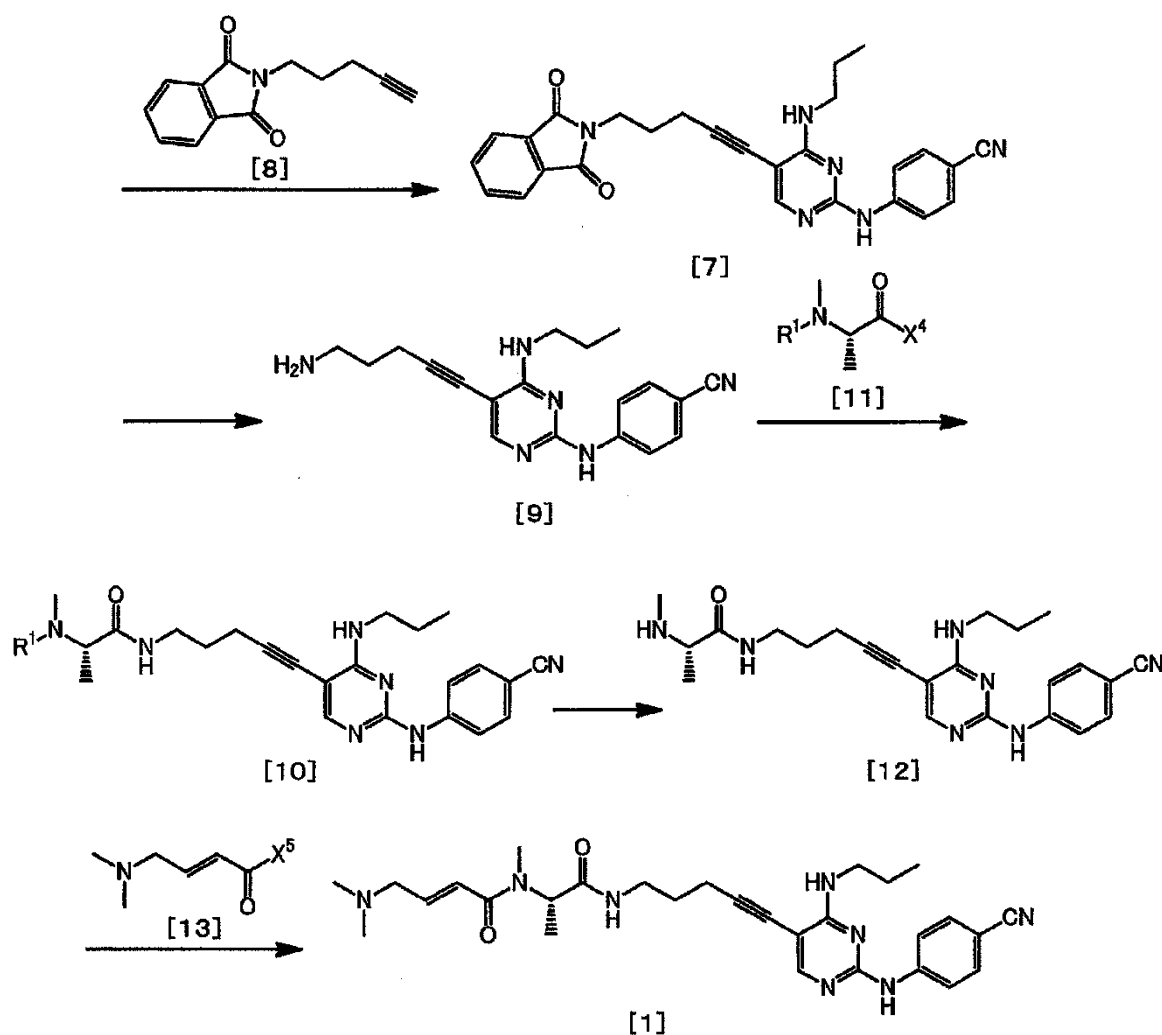
A continuación, se explicarán los métodos de preparación del compuesto A usados para la preparación del compuesto de la presente invención.

35 El compuesto A puede prepararse mediante, por ejemplo, el método de preparación siguiente.

[Método de preparación A]

[Fórmula 2]





5

En la fórmula,  $R^1$  representa un grupo protector de amino;  $X^1$ ,  $X^2$  y  $X^3$  son iguales o diferentes y representan un grupo saliente;  $X^4$  y  $X^5$  son iguales o diferentes y representan un grupo hidroxilo o un grupo saliente.

10 (1) Como el compuesto de fórmula general [2] se conoce, por ejemplo, la 2,4-dicloro-5-yodopirimidina. Pueden prepararse los compuestos de fórmula general [3] o una sal de los mismos haciendo reaccionar un compuesto de fórmula general [2] con el compuesto de fórmula [4] o una sal de mismo en presencia de una base.

15 El disolvente usado para esta reacción no está particularmente limitado, siempre y cuando se seleccione un disolvente que no afecte a la reacción. Los ejemplos incluyen, por ejemplo, hidrocarburos halogenados, éteres, ésteres, amidas, nitrilos, sulfóxidos e hidrocarburos aromáticos y esos disolventes pueden usarse en forma de una mezcla de dos o más clases de ellos.

20 Los ejemplos preferidos de los disolventes incluyen éteres y el tetrahidrofurano es más preferido. Aunque el volumen del disolvente a usar no está particularmente limitado, este puede ser un volumen de 1 a 500 veces (v/p) con respecto al compuesto de fórmula general [2].

La cantidad del compuesto de la fórmula [4] a usar puede ser una cantidad molar de 1 a 50 veces, preferentemente una cantidad molar de 1 a 5 veces, con respecto al compuesto de fórmula general [2].

25 Los ejemplos de la base usada para esta reacción incluyen bases inorgánicas y bases orgánicas. Los ejemplos preferidos de la base incluyen bases orgánicas. La trietilamina y diisopropiletilamina son más preferidas y la diisopropiletilamina es más preferida.

La cantidad de la base a usar puede ser una cantidad molar de 1 a 50, preferentemente una cantidad molar de 1 a 5 veces, con respecto al compuesto de fórmula general [2].

Esta reacción puede realizarse a de  $-30$  a  $150$  °C, preferentemente de  $0$  a  $100$  °C, durante de 30 minutos a 48 horas.

30 (2) Los compuestos de fórmula general [5] pueden prepararse haciendo reaccionar un compuesto de la fórmula general [3] con el compuesto de la fórmula [6].

El disolvente usado para esta reacción no está particularmente limitado, siempre y cuando se seleccione un disolvente que no afecte a la reacción. Los ejemplos incluyen, por ejemplo, hidrocarburos halogenados, éteres,



ésteres, amidas, nitrilos, sulfóxidos e hidrocarburos aromáticos y esos disolventes pueden usarse en forma de una mezcla de dos o más clases de ellos.

Los ejemplos preferidos del disolvente incluyen amidas y la N-metilpirrolidona es más preferida.

Aunque el volumen del disolvente a usar no está particularmente limitado, este puede ser un volumen de 1 a 500 veces (v/p) con respecto al compuesto de fórmula general [3].

La cantidad del compuesto de la fórmula [6] a usar puede ser una cantidad molar de 1 a 50 veces, preferentemente una cantidad molar de 1 a 10 veces, con respecto al compuesto de fórmula general [3].

Es preferible usar un ácido protónico para esta reacción.

Los ejemplos del ácido protónico incluyen ácidos sulfónicos y ácidos minerales. Se prefieren el ácido metanosulfónico, el ácido canforsulfónico y el ácido clorhídrico y es más preferido el ácido canforsulfónico.

La cantidad del ácido protónico a usar puede ser una cantidad molar de 1 a 50 veces, preferentemente una cantidad molar de 1 a 10 veces, con respecto al compuesto de fórmula general [3].

Esta reacción puede realizarse a de -30 a 150 °C, preferentemente de 0 a 100 °C, durante de 30 minutos a 48 horas.

(3) El compuesto de la fórmula [7] puede prepararse haciendo reaccionar un compuesto de la fórmula general [5] con el compuesto de la fórmula [8] en presencia de un catalizador de paladio, una sal de cobre y una base.

El disolvente usado para esta reacción no está particularmente limitado, siempre y cuando se seleccione un disolvente que no afecte a la reacción. Los ejemplos incluyen, por ejemplo, hidrocarburos halogenados, éteres, ésteres, amidas, nitrilos, sulfóxidos e hidrocarburos aromáticos y esos disolventes pueden usarse en forma de una mezcla de dos o más clases de ellos.

Los ejemplos preferidos del disolvente incluyen amidas y la N,N-dimetilformamida es más preferida.

Aunque el volumen del disolvente a usar no está particularmente limitado, este puede ser un volumen de 1 a 500 veces (v/p) con respecto al compuesto de fórmula general [5].

La cantidad del compuesto de la fórmula [8] a usar puede ser una cantidad molar de 1 a 50 veces, preferentemente una cantidad molar de 1 a 5 veces, con respecto al compuesto de la fórmula general [5].

Los ejemplos del catalizador de paladio usado para esta reacción incluye paladio metálico tal como paladio/carbono y negro de paladio; sales inorgánicas de paladio tales como cloruro de paladio; sales orgánicas de paladio tales como acetato de paladio; complejos orgánicos de paladio tales como cloro(2-(diclohexilfosfino)-3,6-dimetoxi-2',4',6'-trisisopropil-1,1'-bifenil)(2-(2-aminoetil)fenil)paladio (II), tetraquis(trifenilfosfina)paladio (0), dicloruro de bis(trifenilfosfina)paladio (II), bis(di-*terc*-butil(4-dimetilaminofenil)fosfina)dicloropaladio (II), dicloruro de 1,1'-bis-(difenilfosfina)ferrocenopaladio (II), (E)-di(μ-acetato)bis(o-(di-*o*-tolilfosfina)bcencil)dipaladio (II) y tris(dibencilideno acetona)dipaladio (O); complejos orgánicos de paladio con soporte de polímeros tal como bis(acetato)trifenilfosfinapaladio (II) con soporte de polímeros y di(acetato)diclohexilfenilfosfinapaladio (II) con soporte de polímero, etc. y se prefieren los complejos orgánicos de paladio.

La cantidad del catalizador de paladio a usar puede ser una cantidad molar de 0,0001 a 2 veces, preferentemente una cantidad molar de 0,001 a 0,2 veces, con respecto al compuesto de la fórmula general [5].

Los ejemplos de la sal de cobre usada para esta reacción incluyen cloruro de cobre (I), bromuro de cobre (I), yoduro de cobre (I) y acetato de cobre (II) y se prefiere el yoduro de cobre (I).

La cantidad de sal de cobre a usar puede ser una cantidad molar de 0,0001 a 2 veces, preferentemente una cantidad molar de 0,001 a 0,5 veces, con respecto al compuesto de la fórmula general [5].

Los ejemplos de la base usada para esta reacción incluyen bases orgánicas. Se prefieren la trietilamina y la diisopropiletilamina y es más preferida la trietilamina.

La cantidad de la base a usar puede ser una cantidad molar de 0,1 a 50 veces, preferentemente una cantidad molar de 1 a 10 veces, con respecto al compuesto de la fórmula general [5].

Esta reacción puede realizarse a de -30 a 150 °C, preferentemente de 0 a 100 °C, durante de 30 minutos a 48 horas.

(4) Puede prepararse el compuesto de la fórmula [9] llevando a cabo desprotección del compuesto de la fórmula [7].

Esta reacción puede realizarse mediante el método descrito en T. W. Greene *et al.*, "Protective Groups in Organic Synthesis", 4ª edición, págs. 790-793, 2007, John Wiley & Sons, Inc.

(5)

(5-A) Cuando X<sup>4</sup> es un grupo hidroxilo:

Como los compuestos de fórmula general [11], se conoce, por ejemplo, la N-(*terc*-butoxicarbonil)-N-metil-L-alanina.

Los compuestos de la fórmula general [10] pueden prepararse haciendo reaccionar el compuesto de la fórmula [9] con un compuesto de la fórmula general [11] en presencia de un agente de condensación o un haluro de ácido.

Esta reacción puede realizarse mediante, por ejemplo, el método descrito en Chemical Reviews, vol. 97, pág. 2243, 1997, Chemical Síntesis of Natural Product Peptides: Coupling Methods for the Incorporation of Noncoded Amino Acids into Peptides o en Tetrahedron, vol. 60, pág. 2447, 2004, Recent development of peptide coupling reagents in organic synthesis.

El disolvente usado para esta reacción no está particularmente limitado, siempre y cuando se seleccione un disolvente que no afecte a la reacción. Los ejemplos incluyen, por ejemplo, hidrocarburos halogenados, éteres, ésteres, amidas, nitrilos, sulfóxidos e hidrocarburos aromáticos y esos disolventes pueden usarse en forma de una mezcla de dos o más clases de ellos. Los ejemplos preferidos del disolvente incluyen amidas y

la N,N-dimetilformamida es más preferida.

Aunque el volumen del disolvente a usar no está particularmente limitado, este puede ser un volumen de 1 a 500 veces (v/p) con respecto al compuesto de la fórmula [9].

Los ejemplos de la base usada para esta reacción incluyen bases inorgánicas y bases orgánicas.

5 Los ejemplos preferidos de la base incluyen bases orgánicas. Se prefieren la trietilamina y la diisopropiletilamina y es más preferida la diisopropiletilamina.

La cantidad de la base a usar puede ser una cantidad molar de 1 a 50, preferentemente una cantidad molar de 1 a 10 veces, con respecto al compuesto de la fórmula [9].

10 Los ejemplos del agente de condensación usados para esta reacción incluyen, por ejemplo, carbodiimidas tales como N,N'-diciclohexilcarbodiimida y 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida; compuestos carbonilo tales como carbonildiimidazol; azidas ácidas tales como difenilfosforil azida; cianuros ácidos tales como cianuro de dietilfosforilo; 2-etoxi-1-etoxicarbonil-1,2-dihidroquinolina; hexafluorofosfato de O-benzotriazol-1-il-1,1,3,3-tetrametiluronio; hexafluorofosfato de O-(7-azabenzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluronio, etc. Se prefieren las carbodiimidas y es más preferida la 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida.

15 Cuando se usa una carbodiimida como el agente de condensación, es preferible usar un aditivo.

Los ejemplos del aditivo incluyen N-hidroxisuccinimida, 1-hidroxibenzotriazol y 1-hidroxi-7-azabenzotriazol y se prefiere el 1-hidroxibenzotriazol.

La cantidad del aditivo a usar puede ser una cantidad molar de 0,01 a 10 veces, preferentemente una cantidad molar de 0,1 a 1 veces, con respecto al compuesto de la fórmula [9].

20 Los ejemplos del haluro de ácido usado para esta reacción incluyen, por ejemplo, haluros de ácido carboxílico tales como cloruro de acetilo y cloruro de trifluoroacetilo; haluros de ácido sulfónico tales como cloruro de metanosulfonilo y cloruro de para-toluenosulfonilo y ésteres del ácido clorofórmico tales como cloroformiato de etilo y cloroformiato de isobutilo. La cantidad del compuesto de la fórmula general [11] a usar no está particularmente limitada y puede ser una cantidad molar de 1 a 10 veces con respecto al compuesto de la fórmula [9].

25 Esta reacción puede realizarse a de -30 a 150 °C, preferentemente de 0 a 100 °C, durante de 30 minutos a 48 horas.

(5-B) Cuando X<sup>4</sup> es un grupo saliente:

30 Los compuestos de fórmula general [10] pueden prepararse haciendo reaccionar el compuesto de la fórmula [9] con un compuesto de la fórmula general [11] en presencia de una base.

El disolvente usado para esta reacción no está particularmente limitado, siempre que se elija un disolvente que no afecte a la reacción y los ejemplos incluyen, por ejemplo, hidrocarburos halogenados, éteres, ésteres, amidas, nitrilos e hidrocarburos aromáticos y estos disolventes pueden usarse en forma de una mezcla de dos o más clases de ellos.

35 Aunque el volumen del disolvente a usar no está particularmente limitado, este puede ser un volumen de 1 a 500 veces (v/p) con respecto al compuesto de la fórmula [9].

Los ejemplos de la base usada para esta reacción incluyen bases inorgánicas y bases orgánicas.

La cantidad de la base a usar puede ser una cantidad molar de 1 a 50, preferentemente una cantidad molar de 1 a 5 veces, con respecto al compuesto de la fórmula [9].

40 Aunque la cantidad del compuesto de la fórmula general [11] a usar no está particularmente limitada, esta puede ser una cantidad molar de 1 a 10 veces con respecto al compuesto de la fórmula [9].

Esta reacción puede realizarse a de -30 a 150 °C, preferentemente de 0 a 100 °C, durante de 30 minutos a 48 horas.

45 (6) El compuesto de la fórmula [12] puede prepararse llevando a cabo desprotección del compuesto de la fórmula general [10].

Esta reacción puede realizarse mediante, por ejemplo, el método descrito en T. W. Greene *et al.*, "Protective Groups in Organic Synthesis", 4<sup>a</sup> edición, págs. 696-926, 2007, John Wiley & Sons, Inc.

50 (7) El compuesto de la fórmula [1] puede prepararse haciendo reaccionar el compuesto de la fórmula [12] con un compuesto de la fórmula general [13] en presencia de un agente de condensación o un haluro de ácido.

Esta reacción puede realizarse de una forma similar a la del [Método de preparación A], (5).

55 Cuando hay solvatos, hidratos y cristales de diversas formas de los compuestos usados en los métodos de preparación anteriormente mencionados, estos solvatos, hidratos y cristales de diversas formas también pueden usarse.

60 En cuanto a los compuestos usados en los métodos de preparación mencionados anteriormente que tienen, por ejemplo, un grupo amino, un grupo hidroxilo, un grupo carboxilo o similares, estos grupos pueden protegerse de antemano con los grupos protectores habituales y, después de las reacciones, pueden eliminarse los grupos protectores mediante un método conocido *per se*.

65 Los compuestos obtenidos por los métodos de preparación mencionados anteriormente pueden derivarse en otros compuestos mediante una reacción conocida *per se* tal como condensación, adición, oxidación, reducción, reordenamiento, sustitución, halogenación, deshidratación, hidrólisis o una combinación adecuada de estos.

La sal del compuesto A de la presente invención puede ser un anhídrido, un hidrato o un solvato. Cuando solamente

se usa el término "sal" en la presente invención, la sal puede estar en forma de un anhídrido, un hidrato o un solvato.

El "anhídrido" usado en la presente invención significa una sustancia en forma ni de hidrato ni de solvato, a menos que esté especialmente indicado. El anhídrido también puede denominarse "anhidrato".

5 El número de moléculas de agua que contiene el hidrato no está particularmente limitado y el hidrato puede ser monohidrato, dihidrato o similares.

10 Los ejemplos de carboxilato del compuesto A incluyen, por ejemplo, formiato, acetato, lactato, benzoato, citrato, oxalato, fumarato, maleato, succinato, malato, tartrato, aspartato, tricloroacetato, trifluoroacetato y pamoato del compuesto A. Se prefieren acetato, lactato, benzoato, citrato, oxalato, fumarato, maleato, succinato, malato, tartrato y pamoato del compuesto A, son más preferidos fumarato, succinato y pamoato del compuesto A, son aún más preferidos fumarato y succinato del compuesto A y el más preferido es succinato del compuesto A.

15 Los ejemplos de la sal del ácido mineral del compuesto A incluyen, por ejemplo, clorhidrato, bromhidrato, yodhidrato, nitrato, fosfato y sulfato del compuesto A. Se prefieren clorhidrato, bromhidrato, nitrato, fosfato y sulfato del compuesto A y son más preferidos clorhidrato y bromhidrato del compuesto A.

20 Los ejemplos de referencia de sulfonato del compuesto A incluyen, por ejemplo, metanosulfonato, bencenosulfonato, p-toluenosulfonato, mesitisilenosulfonato y naftalenosulfonato y se prefiere bencenosulfonato.

25 La sal del compuesto A o un cristal de la misma de la presente invención es preferentemente un carboxilato del compuesto A o un cristal de la misma en atención a la estabilidad durante el almacenamiento y son más preferidos succinato o fumarato del compuesto A y cristales de las mismas.

El cristal de la sal del compuesto A de la presente invención se caracteriza por los picos de difracción observados en la difracción de rayos X en polvo.

30 Un ejemplo preferido del cristal de la sal del compuesto A de la presente invención es un cristal de succinato del compuesto A que muestra picos de difracción a ángulos de difracción ( $2\theta$ ) de 10,5, 17,1, 19,1 y 22,4° en la difracción de rayos X en polvo (en lo sucesivo también denominado como cristal de forma  $\alpha$ ).

35 Otro ejemplo preferido es un cristal de succinato del compuesto A que muestra picos de difracción en ángulos de difracción ( $2\theta$ ) de 12,8, 16,1, 21,4 y 28,0° en la difracción de rayos X en polvo (en lo sucesivo también denominado como cristal de forma  $\beta$ ).

Otro ejemplo preferido más es un cristal de fumarato del compuesto A que muestra picos de difracción en ángulos de difracción ( $2\theta$ ) de 8,6, 13,7, 17,8 y 23,0° en la difracción de rayos X en polvo.

40 El cristal de la sal del compuesto A de la presente invención también se caracteriza por los picos de absorción observados en un espectro de absorción infrarrojo del mismo (método ATR).

45 Un ejemplo preferido del cristal de la sal del compuesto A de la presente invención es un cristal de forma  $\alpha$  de succinato del compuesto A que muestra picos de absorción en los números de onda de 2937, 2218, 1441, 1304 y 1242  $\text{cm}^{-1}$  en un espectro de absorción infrarrojo del mismo (método ATR).

50 Otro ejemplo preferido es un cristal de forma  $\beta$  de succinato del compuesto A que muestra picos de absorción en los números de onda 2219, 1660, 1512, 1239 y 1121  $\text{cm}^{-1}$  en un espectro de absorción infrarrojo del mismo (método ATR).

Otro ejemplo preferido más es un cristal de fumarato del compuesto A que muestra picos de absorción en los números de onda 2220, 1594, 1517, 1428 y 1080  $\text{cm}^{-1}$  en un espectro de absorción infrarrojo (método ATR).

55 Los ángulos de difracción ( $2\theta$ ) determinados en difracción de rayos X en polvo en general contienen errores dentro del intervalo de  $\pm 0,2^\circ$ . Por lo tanto, una expresión "ángulo de difracción ( $2\theta$ ) de X°" usada en la presente invención significa un "ángulo de difracción ( $2\theta$ ) de (X - 0,2) a (X + 0,2)°", a menos que esté especialmente indicado. Por lo tanto, no solamente los cristales que muestran ángulos de difracción completamente coincidentes con los ángulos de difracción definidos anteriormente en la difracción de rayos X en polvo, sino también los cristales que muestran ángulos de difracción que coinciden con los ángulos de difracción definidos anteriormente dentro de dicho intervalo de error de  $\pm 0,2^\circ$  también están incluidos dentro del alcance de la presente invención.

60 Los valores del número de onda ( $\text{cm}^{-1}$ ) determinados en los espectros de absorción infrarrojos (método ATR) por lo general contienen errores dentro del intervalo de  $\pm 2 \text{ cm}^{-1}$ . Por lo tanto, una expresión "número de onda Y" usada en la presente invención significa un "número de onda de (Y - 2) a (Y + 2)  $\text{cm}^{-1}$ ", a menos que esté especialmente indicado. Por lo tanto, no solamente los cristales que muestran números de onda de los picos de absorción completamente coincidentes con los números de onda de los picos de absorción definidos anteriormente en los

espectros de absorción infrarrojos de los mismos, sino también los cristales que muestran números de onda de los picos de absorción que coinciden con los ángulos de difracción definidos anteriormente dentro de dicho intervalo de error de  $\pm 2 \text{ cm}^{-1}$  también están incluidos dentro del alcance de la presente invención.

5 La sal del compuesto A o un cristal de la misma de la presente invención tiene actividad inhibidora de FLT3 superior, muestra estabilidad durante el almacenamiento y/o solubilidad, etc. superiores y, por lo tanto es útil como un ingrediente activo para fármacos y útil para un tratamiento de una enfermedad o afección relacionada con FLT3. Específicamente, la sal del compuesto A o un cristal de la misma de la presente invención es útil en el tratamiento de ALL, AML, APL, CLL, LMC, CNL, AUL, ALCL, PML, JMML, ATL, MDS o MPD, preferentemente un tratamiento de  
10 AML o APL, más preferentemente un tratamiento de AML.

Una composición farmacéutica que contiene la sal del compuesto A o un cristal de la misma de la presente invención habitualmente puede contener aditivos usados para la preparación de composiciones farmacéuticas tales como  
15 excipientes, aglutinantes, lubricantes, agentes disgregantes, colorantes, correctores, emulsionantes, tensioactivos, adyuvantes de la disolución, agentes de suspensión, agentes isotónicos, agentes tamponadores, conservantes, antioxidantes, estabilizantes y potenciadores de la absorción.

La composición farmacéutica de la presente invención significa una composición farmacéutica preparada usando la sal del compuesto A o un cristal de la misma de la presente invención.  
20

La composición farmacéutica que contiene la sal del compuesto A o un cristal de la misma de la presente invención puede contener solamente una única clase o dos o más clases de las sales del compuesto A o cristales de las mismas de la presente invención entre las distintas clases de sales del compuesto A o los cristales de las mismas de la presente invención.  
25

En cuanto a la vía de administración de la composición farmacéutica de la presente invención, los ejemplos del método de administración incluyen, por ejemplo, inyecciones intravenosas, intraarterial, intrarrectal, intraperitoneal, intramuscular, intratumoral e intraquística, administración oral, administración dérmica, uso de supositorio, etc. En cuanto a la dosis y la frecuencia de administración, pueden administrarse, por ejemplo, de 0,01 a 1000 mg/kg por día de la sal de la presente invención por vía oral o parenteral (mediante, por ejemplo, inyección, infusión por goteo, administración rectal o similar) a un adulto una vez al día o varias veces al día dividiendo la dosis anterior. Los ejemplos de la forma de dosificación de la composición farmacéutica incluyen comprimido, cápsula, polvo, jarabe, gránulo, píldora, suspensión, emulsión, solución, preparación en polvo, supositorio, gotas oculares, gotas nasales, gotas óticas, parche, pomada e inyección.  
30  
35

### Ejemplos

A continuación, se explicará la presente invención con referencia a los ejemplos. Sin embargo, la presente invención no está limitada a estos ejemplos. Porcentaje (%) significa % en masa, a menos que esté especialmente indicado.  
40

Para la purificación por cromatografía en columna se usó un sistema de purificación automático, ISOLERA (producido por Biotage).  
45

Como vehículo se usó un cartucho SNAP KP-Sil (producido por Biotage) para cromatografía en columna sobre gel de sílice y para cromatografía básica en columna sobre gel de sílice se usó un cartucho SNAP KP-NH (producido por Biotage).  
50

Los espectros de la RMN  $^1\text{H}$  se midieron usando tetrametilsilano como patrón interno y Bruker AV300 (producido por Bruker) y todos los valores  $\delta$  se indican en términos de ppm.  
55

Los espectros de la MS se midieron usando un sistema LC/MS ACQUITY SQD (Waters).

Los espectros de absorción infrarrojos se midieron usando un Spectrum 100S (PerkinElmer) de acuerdo con las descripciones de la Japanese Pharmacopoeia, General Test Procedures, Attenuated Total Reflection Fourier Transform Infrared Spectrometry Method (método ATR).  
60

Los espectros de difracción de rayos X en polvo se midieron usando RINT-2000 (Rigaku International) en las condiciones siguientes.

(Condiciones de medición)

rayos X usados: CuK $\alpha$   
Voltaje del tubo: 55 kV  
Corriente del tubo: 280 mA  
65 Eje de escaneo: 2 $\theta$

El contenido de humedad se midió con un Aquameter MKC-610 de Karl-Fischer (Kyoto Electronics Manufacturing).

Las purezas se miden en términos de % de área medida mediante cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC). La medición por HPLC se realizó usando Prominence (Shimadzu) en las siguientes condiciones.

5

(Condiciones de medición)

Longitud de onda de medición: 220 nm

10

Columna: CAPCELL PAK C18 MGII (diámetro interno 4,6 mm x longitud 250 mm) Temperatura de la columna, 40 °C

Caudal: 1,0 ml/minuto

Fase móvil A: 22 mmol/l ácido fosfórico acuoso

Fase móvil B: 22 mmol/l solución de ácido fosfórico en acetonitrilo/agua = 90/10

15

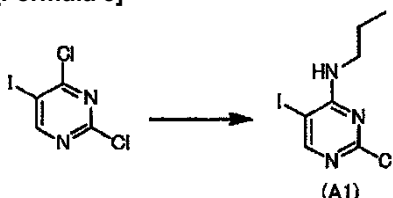
Ciclo de gradiente: 0,0 min (solución A/solución B = 80/20), 20,0 min (solución A/solución B = 60/40), 50,0 min (solución A/solución B = 0/100), 60,0 min (solución A/solución B = 0/100), 60,1 min (solución A/solución B = 80/20), 75,0 min (solución A/solución B = 80/20)

Ejemplo de preparación

20

(1)

[Fórmula 3]



25

A una solución de 2,4-dicloro-5-yodopirimidina (5,77 g) sintetizada de acuerdo con el método descrito en el documento WO2008/155140A1 y N,N-diisopropiletilamina (7,86 ml) en tetrahidrofurano (83 ml), se le añadió propilamina (3,55 ml) con enfriamiento en hielo y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. Se añadieron agua y acetato de etilo a la mezcla de reacción. La capa orgánica se separó y la capa acuosa se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica y el extracto se combinaron, se lavaron sucesivamente con 1,0 mol/l de ácido clorhídrico acuoso, agua, hidrogenocarbonato sódico acuoso saturado y cloruro sódico acuoso saturado y se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. El disolvente se evaporó a presión reducida para obtener 2-cloro-5-yodo-N-propilpirimidin-4-amina (A1, 6,44 g) en forma de un aceite.

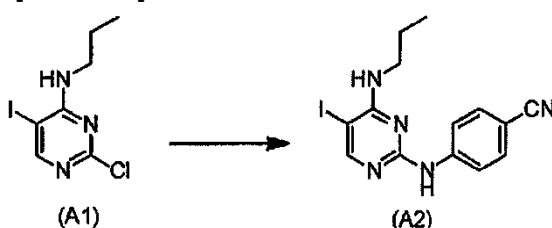
30

MS m/z (M+H): 298,3

(2)

35

[Fórmula 4]



40

A una solución de 2-cloro-5-yodo-N-propilpirimidin-4-amina (A1, 9,12 g) en N-metilpirrolidona (120 ml), se le añadió 4-aminobenzonitrilo (18,1 g) y ácido (1S)-(+)-10-canforsulfónico (35,6 g) a temperatura ambiente y la mezcla se agitó a 50 °C durante 9 horas. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente y después se vertió en hidrogenocarbonato sódico acuoso saturado. El sólido se recogió por filtración, se lavó con agua, después se recristalizó a partir de acetonitrilo y se secó a presión reducida para obtener N²-(4-cianofenil)-5-yodo-N⁴-propilpirimidin-2,4-diamina (A2, 4,64 g) en forma de un sólido de color blanco.

45

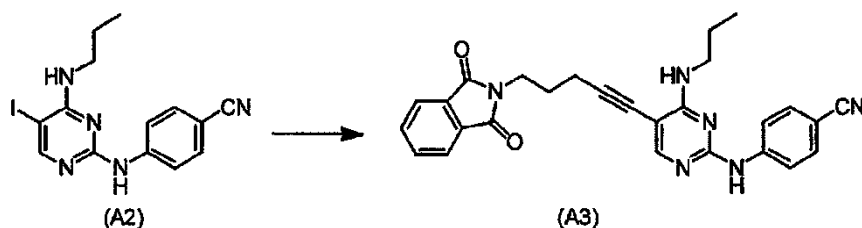
MS m/z (M+H): 380,2 MS m/z (M-H): 378,2

RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>) δ: 8,16 (1H, s), 7,73 (2H, d, J = 8,7 Hz), 7,57 (2H, d, J = 8,7 Hz), 7,21 (1H, s a), 5,34 (1H, s a), 3,50-3,42 (2H, m), 1,77-1,64 (2H, m), 1,02 (3H, t, J=7,6 Hz)

(3)

50

[Fórmula 5]

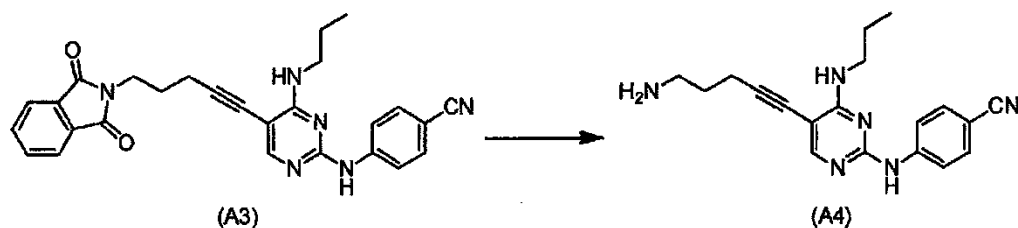


A una solución de N<sup>2</sup>-(4-cianofenil)-5-yodo-N<sup>4</sup>-propilpirimidin-2,4-diamina (A2, 687 mg) en N,N-dimetilformamida (10 ml), se le añadió a temperatura ambiente dicloruro de bis(trifenilfosfina)paladio (II) (127 mg), yoduro de cobre (I) (104 mg), trietilamina (1,0 ml) y N-(4-pentinil)ftalimida (464 mg) en atmósfera de nitrógeno y la mezcla se agitó a la misma temperatura durante 2 horas. Se añadió agua a la mezcla de reacción. El sólido se recogió por filtración, se lavó con agua y después se secó a presión reducida para obtener 2-(5-(2-((4-cianofenil)amino)-4-(propilamino)pirimidin-5-il)-4-pentin-1-il)isoindolin-1,3-diona (A3, 1,14 g) en forma de un sólido de color amarillo.

MS m/z (M+H): 465,3

(4)

[Fórmula 6]

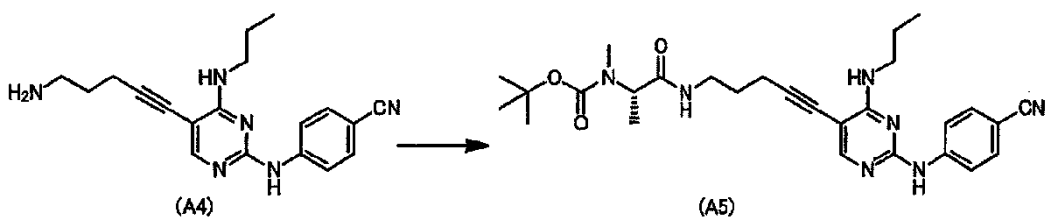


A una solución de 2-(5-(2-((4-cianofenil)amino)-4-(propilamino)pirimidin-5-il)-4-pentin-1-il)isoindolin-1,3-diona (A3, 1,14 g) en tetrahidrofurano (15 ml) y etanol (15 ml), se le añadió hidrazina monohidrato (2,0 ml) a temperatura ambiente y la mezcla se agitó durante 45 minutos con calentamiento a reflujo. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente y después se añadió ácido clorhídrico acuoso diluido a la mezcla de reacción hasta que la mezcla se acidificó. La materia insoluble se eliminó por filtración y se añadió hidrogenocarbonato sódico acuoso saturado a la mezcla de reacción hasta que la mezcla se basificó. El sólido se recogió por filtración, se lavó con agua y después se secó a presión reducida para obtener 5-(5-amino-1-pentin-1-il)-N<sup>2</sup>-(4-cianofenil)-N<sup>4</sup>-propilpirimidin-2,4-diamina (A4, 459 mg) en forma de un sólido de color blanco.

MS m/z (M+H): 335,3

(5)

[Fórmula 7]



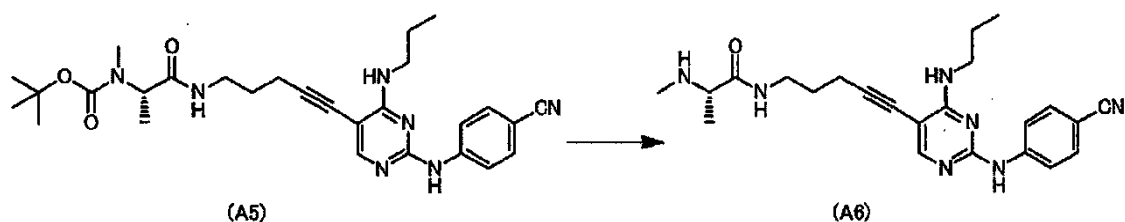
A una solución de 5-(5-amino-1-pentin-1-il)-N<sup>2</sup>-(4-cianofenil)-N<sup>4</sup>-propilpirimidin-2,4-diamina (A4, 7,89 g), N-(terc-butoxicarbonil)-N-metil-L-alanina (5,76 g), clorhidrato de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida (6,80 g) y 1-hidroxibenzotriazol monohidrato (4,80 g) en N,N-dimetilformamida (100 ml), se le añadió N,N-diisopropiletilamina (8,5 ml) a temperatura ambiente y la mezcla se agitó a la misma temperatura durante 1 hora y 30 minutos. Se añadieron hidrogenocarbonato sódico acuoso saturado y acetato de etilo a la mezcla de reacción. La capa orgánica se separó, se lavó con cloruro sódico acuoso saturado y después se secó sobre sulfato sódico anhidro y el disolvente se evaporó a presión reducida. El residuo obtenido se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice (eluyente, 50 % de hexano/50 % de acetato de etilo) para obtener (1-((5-(2-((4-cianofenil)amino)-4-(propilamino)pirimidin-5-il)-4-pentin-1-il)amino)-1-oxopropan-2-il)(metil)carbamato de (S)-terc-butilo (A5, 9,40 g).

MS m/z (M+H): 520,6 MS m/z (M-H): 518,6

RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>) δ: 7,98 (1H, s), 7,76 (2H, d, J = 8,6 Hz), 7,57 (2H, d, J = 8,6 Hz), 7,30 (1H, s a), 6,41 (1H, s a), 6,38-6,08 (1H, s a), 4,72-4,62 (1H, m), 3,58-3,38 (4H, m), 2,80 (3H, s), 2,48 (2H, t, J = 6,6 Hz), 1,82-1,68 (4H, m), 1,49 (9H, s), 1,35 (3H, d, J = 7,3 Hz), 1,00 (3H, t, J=7,3 Hz)

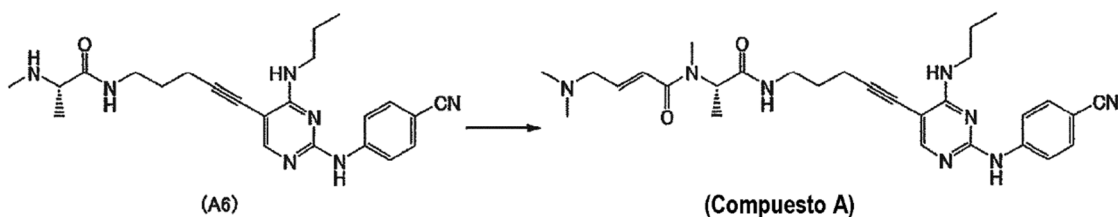
(6)

## [Fórmula 8]



- 5 A una solución de (1-((5-(2-((4-cianofenil)amino)-4-(propilamino)pirimidin-5-il)-4-pentin-1-il)amino)-1-oxopropan-2-il)(metil)carbamato de (S)-*tert*-butilo (A5, 1,26 g) en 1,4-dioxano (10 ml), se le añadió una solución de 4,0 mol/l de ácido clorhídrico en 1,4-dioxano (10 ml) a temperatura ambiente y la mezcla se agitó a la misma temperatura durante 3 horas. El disolvente se evaporó a presión reducida y se añadió acetato de etilo al residuo obtenido. El sólido se recogió por filtración, se lavó con acetato de etilo y después se secó a presión reducida para obtener
- 10 diclorhidrato de (S)-N-(5-(2-((4-cianofenil)amino)-4-(propilamino)pirimidin-5-il)-4-pentin-1-il)-2-(metilamino)propanamida (A6) (1,12 g) en forma de un sólido de color blanco.  
MS m/z (M+H): 420,4 MS m/z (M-H): 418,4  
(7)

## 15 [Fórmula 9]



- 20 A una solución de diclorhidrato de (S)-N-(5-(2-((4-cianofenil)amino)-4-(propilamino)pirimidin-5-il)-4-pentin-1-il)-2-(metilamino)propanamida (A6) (19,0 g) y clorhidrato de ácido 4-dimetilaminocrotónico (22,3 g) en N,N-dimetilformamida (550 ml), se le añadió N-metilmorfolina (42,4 ml) a temperatura ambiente y la mezcla se agitó a la misma temperatura durante 10 minutos. Después, se añadió cloroformiato de isobutilo (15,2 ml) gota a gota a la mezcla con enfriamiento en hielo y la mezcla se agitó a la misma temperatura durante 1 hora y 30 minutos. Se añadió hidrogenocarbonato sódico acuoso saturado (200 ml) a la mezcla de reacción y el disolvente se evaporó
- 25 a presión reducida. Se añadieron agua y acetato de etilo al residuo obtenido. La capa orgánica se separó y la capa acuosa se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica y el extracto se combinaron y se secaron sobre sulfato sódico anhidro y el disolvente se evaporó a presión reducida. Se añadió acetonitrilo al residuo obtenido y el sólido se recogió por filtración y se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice básica (eluyente, 95 % de acetato de etilo/5 % de metanol) para obtener (S,E)-N-(1-(5-(2-((4-cianofenil)amino)-4-(propilamino)pirimidin-5-il)pent-4-in-1-il)amino)-1-oxopropan-2-il)-4-(dimetilamino)-N-metilbut-2-enamida (compuesto A, 12,5 g).
- 30 MS m/z (M+H): 531,5 MS m/z (M-H): 529,5  
RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>) δ: 8,05 (1H, s), 7,97 (1H, s), 7,79 (2H, d, J = 8,6 Hz), 7,56 (2H, d, J = 9,2 Hz), 6,94 (1H, dt, J=15,2, 5,3 Hz), 6,71 (1H, t, J = 5,6 Hz), 6,44-6,42 (2H, m), 5,20 (1H, q, J = 7,3 Hz), 3,49-3,45 (4H, m), 3,11 (2H, d, J = 5,3 Hz), 3,01 (3H, s), 2,45 (2H, t, ΔJ=6,6 Hz), 2,27 (6H, s), 1,77-1,66 (4H, m), 1,36 (3H, d, J = 7,3 Hz), 1,00 (3H, t, J=7,3 Hz)

## Ejemplo 1

- 40 A una suspensión del compuesto A (3,50 g) en acetona (70 ml), se le añadió ácido succínico (779 mg) a temperatura ambiente y la disolución se confirmó visualmente con calentamiento por reflujo. La mezcla de reacción se enfrió gradualmente hasta temperatura ambiente y se dejó reposar durante un día. El sólido se recogió por filtración, se lavó con acetona y después se secó a presión reducida para obtener un sólido de color blanco (4,08 g).
- 45 Una suspensión del sólido de color blanco obtenido (1,20 g) en acetonitrilo (24 ml) se calentó a reflujo y la disolución se confirmó visualmente. Esta solución se enfrió gradualmente hasta temperatura ambiente y se dejó reposar durante 3 días. El sólido se recogió por filtración, se lavó con acetonitrilo y después se secó a presión reducida para obtener cristales de forma α de succinato del compuesto A (1,02 g).  
Contenido de humedad: 0,50 % (proporción en peso)
- 50 RMN <sup>1</sup>H (DMSO-D<sub>6</sub>) δ: 9,79 (1H, s), 8,00-7,88 (4H, m), 7,68 (2H, d, J = 8,6 Hz), 7,20-7,10 (1H, m), 6,68-6,50 (2H, m), 5,01 (1H, q, J = 7,0 Hz), 3,40 (2H, dt, J=6,8, 6,8 Hz), 3,32-3,20 (2H, m), 3,12 (2H, d, J = 5,3 Hz), 2,95 (3H, s),

2,47-2,38 (6H, m), 2,21 (6H, s), 1,72-1,54 (4H, m), 1,34-1,24 (3H, m), 0,91 (3H, t, J=7,3 Hz)

El espectro de absorción infrarrojo (método ATR) del cristal de forma  $\alpha$  de succinato del compuesto A obtenido se muestra en la fig. 1 y la tabla 1 y el patrón de difracción de rayos X en polvo del mismo se muestra en la fig. 2 y la tabla 2.

[Tabla 1]

Número de onda (cm <sup>-1</sup> )
2937
2218
1441
1304
1242

[Tabla 2]

2 $\theta$	d(Å)
10,5	8,425
13,6	6,511
15,3	5,791
17,1	5,185
19,1	4,647
20,9	4,250
22,4	3,969
25,5	3,493
25,9	3,440

### Ejemplo 2

A una suspensión del compuesto A (5,50 g) en acetona (110 ml), se le añadió ácido succínico (1,22 g) a temperatura ambiente y la disolución se confirmó visualmente con calentamiento por reflujo. La mezcla de reacción se enfrió gradualmente hasta temperatura ambiente y se dejó reposar durante un día. El sólido se recogió por filtración, se lavó con acetona y después se secó a presión reducida para obtener un sólido de color amarillo claro (6,22 g).

Una suspensión del sólido de color amarillo claro obtenido (150 mg) en 1,4-dioxano (3,0 ml) se calentó a reflujo y la disolución se confirmó visualmente. Esta solución se enfrió gradualmente hasta temperatura ambiente y se dejó reposar durante 12 días. El sólido se recogió por filtración, se lavó con 1,4-dioxano y después se secó a presión reducida para obtener cristales de forma  $\beta$  de succinato del compuesto A (141 mg).

RMN <sup>1</sup>H (DMSO-D<sub>6</sub>)  $\delta$ : 9,79 (1H, s), 8,00-7,88 (4H, m), 7,68 (2H, d, J=8,6 Hz) 7,20-7,10 (1H, m), 6,68-6,50 (2H, m), 5,00 (1H, q, J = 6,8 Hz), 3,40 (2H, dt, J=6,8, 6,8 Hz), 3,32-3,20 (2H, m), 3,10 (2H, d, J = 5,3 Hz), 2,95 (3H, s), 2,47-2,38 (6H, m), 2,20 (6H, s), 1,72-1,54 (4H, m), 1,34-1,24 (3H, m), 0,91 (3H, t, J = 7,3 Hz).

El espectro de absorción infrarrojo del cristal de forma  $\beta$  de succinato del compuesto A obtenido se muestra en la fig. 3 y la tabla 3 y el patrón de difracción de rayos X en polvo del mismo se muestra en la fig. 4 y la tabla 4.

[Tabla 3]

Número de onda (cm <sup>-1</sup> )
2219
1660
1512
1239
1121

[Tabla 4]

2 $\theta$	d(Å)
12,4	7,138
12,8	6,916
15,5	5,717
16,1	5,505
20,5	4,332
21,4	4,152
23,2	3,834
28,0	3,187

### Ejemplo 3



A una suspensión del compuesto A (1,50 g) en etanol (30 ml), se le añadió ácido fumárico (328 mg) a temperatura ambiente, la mezcla se agitó con calentamiento a 70 °C y la disolución se confirmó visualmente. La mezcla de reacción se enfrió gradualmente hasta temperatura ambiente y se dejó reposar durante 3 días. El sólido se recogió por filtración, se lavó con etanol y después se secó a presión reducida para obtener un sólido de color blanco (1,67 g).

El compuesto A (0,53 g) se añadió a una suspensión del sólido de color blanco obtenido (1,67 g) en etanol (30 ml), la mezcla se agitó con calentamiento a 80 °C y la disolución se confirmó visualmente. Esta solución se enfrió gradualmente hasta temperatura ambiente y se dejó reposar durante 6 horas. El sólido se recogió por filtración, se lavó con etanol y después se secó a presión reducida para obtener fumarato del compuesto A (1,96 g) en forma de un sólido de color blanco.

Contenido de humedad: 1,0 % (proporción en peso)  
 RMN <sup>1</sup>H (DMSO-D<sub>6</sub>) δ: 9,79 (1H, s), 8,00-7,90 (4H, m), 7,68 (2H, d, J=8,6 Hz) 7,20-7,12 (1H, m), 6,67-6,55 (4H, m), 5,00 (1H, q, J = 7,3 Hz), 3,40 (2H, q, J = 6,6 Hz), 3,34-3,22 (4H, m), 2,95 (3H, s), 2,44 (2H, t, J = 6,6 Hz), 2,24 (6H, s), 1,72-1,56 (4H, m), 1,34-1,24 (3H, m), 0,91 (3H, t, J=7,3 Hz)

El espectro de absorción infrarrojo del fumarato del compuesto A obtenido se muestra en la fig. 5 y la tabla 5 y el patrón de difracción de rayos X en polvo del mismo se muestra en la fig. 6 y la tabla 6.

20

[Tabla 5]	
Número de onda (cm <sup>-1</sup> )	
2220	
1594	
1517	
1428	
1080	

[Tabla 6]	
2 θ	d(Å)
8,6	10,282
12,9	6,862
13,7	6,464
16,1	5,505
17,8	4,983
20,1	4,418
23,0	3,867
25,2	3,534
28,1	3,176

#### Ejemplo 4

25

A una suspensión de ácido pamoico (73 mg) en agua, se le añadieron 3,0 mol/l de hidróxido sódico acuoso (126 µl) a temperatura ambiente (solución 1). Se agitó una suspensión del compuesto A (100 mg) en acetona (10 ml) con calentamiento a 60 °C y la disolución se confirmó visualmente (solución 2). La solución 2 se añadió a la solución 1 a temperatura ambiente, después se añadieron a la mezcla ácido acético (22 µl), acetona y agua y la mezcla se agitó durante 30 minutos. El sólido se recogió por filtración, se lavó con agua y después se secó a presión reducida para obtener pamoato del compuesto A (132 mg) en forma de un sólido de color amarillo claro.

30

RMN <sup>1</sup>H (DMSO-D<sub>6</sub>) δ: 9,79 (1H, s), 8,32 (2H, s), 8,16 (2H, d, J = 8,6 Hz), 8,00-7,94 (4H, m), 7,76 (2H, d, J = 7,3 Hz), 7,68 (2H, d, J = 8,6 Hz), 7,25 (2H, t, J = 7,3 Hz), 7,18-7,06 (3H, m), 6,86 (1H, d, J=15,2 Hz), 6,68-6,54 (1H, m), 4,99 (1H, q, J = 7,3 Hz), 4,74 (2H, s), 3,92-3,82 (2H, m), 3,60-3,20 (4H, m), 2,98 (3H, s), 2,77 (6H, s), 2,44 (2H, t, J = 6,6 Hz), 1,72-1,54 (4H, m), 1,36-1,25 (3H, m), 0,91 (3H, t, J=7,6 Hz).

35

#### Ejemplo 5

Una suspensión del compuesto A (150 mg) en acetona (4,5 ml) se calentó a reflujo y la disolución se confirmó visualmente. Esta solución se enfrió gradualmente hasta 40 °C, se añadieron 4,0 mol/l de una solución de ácido clorhídrico en 1,4-dioxano (141 µl) a la solución y la mezcla se dejó reposar durante 5 días. El sólido se recogió por filtración, se lavó con acetona y después se secó a presión reducida para obtener clorhidrato del compuesto A (112 mg) en forma de un sólido de color blanco.

40

RMN <sup>1</sup>H (DMSO-D<sub>6</sub>) δ: 8,73-8,65 (1H, m), 8,17 (1H, s), 8,15-8,10 (1H, m), 7,87-7,84 (4H, m), 7,86-7,83 (1H, m), 7,09-6,88 (1H, m), 6,75-6,58 (1H, m), 4,99 (1H, q, J = 7,3 Hz), 3,93-3,86 (2H, m), 3,49-3,42 (2H, m), 3,28-3,22 (2H, m), 3,00 (3H, s), 2,75-2,72 (6H, m), 2,48 (2H, t, J = 6,6 Hz), 1,73-1,59 (4H, m), 1,37-1,28 (3H, m), 0,92 (3H, t, J=7,3 Hz)

45

#### Ejemplo 6

Una suspensión del compuesto A (1,00 g) en etanol (20 ml) se agitó con calentamiento a 70 °C y la disolución se confirmó visualmente. Se añadió ácido fosfórico (238 µl) a esta solución y la mezcla se enfrió gradualmente hasta temperatura ambiente y se dejó reposar durante 3 horas y 30 minutos. El sólido se recogió por filtración, se lavó dos veces con etanol y después se secó a presión reducida para obtener fosfato del compuesto A (0,75 g) en forma de un sólido de color amarillo claro.

RMN <sup>1</sup>H (DMSO-D<sub>6</sub>) δ: 9,84 (1H, s), 8,02-7,95 (3H, m), 7,69 (2H, d, J = 9,2 Hz), 7,22-7,13 (1H, m), 6,89-6,77 (1H, m), 6,71-6,55 (2H, m), 5,02 (1H, q, J = 6,6 Hz), 3,74-3,62 (2H, m), 3,51-3,35 (2H, m), 3,49-3,20 (2H, m), 2,99 (3H, s), 2,61 (6H, s), 2,45 (2H, t, J = 6,3 Hz), 1,75-1,57 (4H, m), 1,37-1,27 (3H, m), 0,92 (3H, t, J=7,6 Hz)

#### Ejemplo 7

Una suspensión del compuesto A (1,00 g) en etanol (20 ml) se agitó con calentamiento a 70 °C y la disolución se confirmó visualmente. Se añadió ácido sulfúrico (211 µl) a esta solución y la mezcla se enfrió gradualmente hasta temperatura ambiente y se dejó reposar durante 3 horas. El sólido se recogió por filtración, se lavó dos veces con etanol y después se secó a presión reducida para obtener sulfato del compuesto A (1,10 g) en forma de un sólido de color blanco.

RMN <sup>1</sup>H (DMSO-D<sub>6</sub>) δ: 9,67 (1H, s), 8,36-8,27 (1H, m), 8,11-8,07 (1H, m), 8,04-7,98 (1H, m), 7,88-7,80 (4H, m), 6,95-6,85 (1H, m), 6,66-6,50 (1H, m), 4,99 (1H, q, J = 7,0 Hz), 3,96-3,88 (2H, m), 3,47-3,39 (2H, m), 3,30-3,22 (2H, m), 2,99 (3H, s), 2,80 (6H, s), 2,48 (2H, t, J = 6,6 Hz), 1,74-1,56 (4H, m), 1,37-1,27 (3H, m), 0,91 (3H, t, J=7,6 Hz)

#### Ejemplo de referencia 8

Se añadió ácido bencenosulfónico monohidrato (132 mg) a una suspensión del compuesto A (200 mg) en agua (5 ml) a temperatura ambiente, la mezcla se agitó con calentamiento a 50 °C y la disolución se confirmó visualmente. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente y después se evaporó el disolvente a presión reducida para obtener bencenosulfonato del compuesto A en forma de un aceite.

#### Ejemplo 9

Una suspensión del compuesto A (150 mg) en acetona (4,5 ml) se calentó a reflujo y la disolución se confirmó visualmente. Se añadió ácido bromhídrico (64 µl) a esta solución y la mezcla se enfrió gradualmente hasta temperatura ambiente. El sólido se recogió por filtración, se lavó con acetona y después se secó a presión reducida para obtener bromhidrato del compuesto A (98 mg) en forma de un sólido de color amarillo claro.

A continuación, se explicará la utilidad de los compuestos de la presente invención con referencia a los siguientes ejemplos de ensayo.

#### Ejemplo de ensayo 1: Ensayo de inhibición de FLT3

Para el ensayo de inhibición de la enzima FLT3, se usó proteína FLT3 humana fusionada con glutatión S-transferasa (GST) (región intracelular, de 564 a 993 aa, Carna Biosciences) producida mediante el uso de un sistema de expresión de baculovirus.

Una mezcla de reacción (9 µl) que contenía la proteína FLT3 y un compuesto de ensayo de una concentración predeterminada (1,2 µg de FLT3, HEPES 100 mM, MgCl<sub>2</sub> 10 mM, NaCl 25 mM, BSA 0,01 %, DTT 1 mM, pH 7,5) se dejó reposar a 25 °C durante 15 minutos. Después, se añadieron 3 µl (concentración final, 0,25 µM) de un péptido de sustrato, biotina-AAA-AEEEEYFELVAKKK (Toray Industries) y 3 µl (concentración final, 50 µM) de ATP (Sigma-Aldrich) a la mezcla de reacción y la mezcla se agitó durante 2 minutos y después se dejó reposar a 25 °C durante 30 minutos para permitir la reacción enzimática.

Después, se añadieron 30 µl de una solución de terminación de reacción enzimática que contenía estreptavidina-Xlent (Cisbio) y Mab PT66-K (Cisbio) (estreptavidina 5 µg/ml, PT66-K 0,19 µg/ml, HEPES 30 mM (pH 7,0), KF 150 mM, EDTA 75 mM, BSA 0,15 %, Tween 20 al 0,075 %) a la mezcla de reacción para terminar la reacción enzimática y la mezcla de reacción se dejó reposar a temperatura ambiente durante 1 hora para permitir la reacción de antígeno-anticuerpo. Después, la fosforilación del péptido de sustrato se midió midiendo la fluorescencia de descomposición en el tiempo (615 nm y 665 nm) utilizando Envision (PerkinElmer).

Los resultados se muestran en la Tabla 7.

#### Ejemplo de ensayo 2: Ensayo de inhibición del crecimiento celular leucémico

Se realizó un ensayo de inhibición del crecimiento celular leucémico utilizando las cepas de células leucémicas MV4-11 (Número de ATCC, CRL-9591) y MOLM-13 (Número de DSMZ, ACC554).

El ensayo de inhibición del crecimiento celular leucémico se realizó mediante el método descrito a continuación.

Con el fin de medir la inhibición del crecimiento con un compuesto de ensayo, el recuento celular total se cuantificó basándose en la concentración de ATP celular total utilizando el reactivo CellTiter-Glo (PerkinElmer) que permite la cuantificación de la concentración de ATP basándose en la reacción de luciferina-luciferasa. Las células MOLM-13 o MV4-11 se añadieron al medio RPMI que contenía penicilina (100 unidades/ml), estreptomycin (100 µg/ml) y FBS al 10 % a una densidad de  $2 \times 10^5$  células/ml y se inocularon 50 µl (10.000 células) de la mezcla en cada pocillo de una placa de 96 pocillos (Corning).

Se añadió a las células una solución diluida en serie de un compuesto de ensayo o DMSO al 0,1 % (control con disolvente) en un volumen de 50 µl y después las células se cultivaron durante 72 horas en las condiciones de proliferación celular convencionales (37 °C, CO<sub>2</sub> al 5 %) para permitir la proliferación de las células. Para medir la proliferación celular total, se añadió un volumen igual de la mezcla de reacción CellTiter-Glo a cada pocillo de acuerdo con las instrucciones adjuntas a CellTiter-Glo y se cuantificó el recuento de luminiscencia (unidad relativa de luz, URL).

La señal de URL observada para el control de disolvente DMSO después de 72 horas de cultivo se definió como una señal que indica una inhibición del 0 % y el valor de GI<sub>50</sub> de la inhibición del crecimiento corresponde a una concentración de un compuesto que proporciona una inhibición del 50 % de la proliferación celular total observada en el control de disolvente DMSO. Cada punto de datos se obtuvo de muestras preparadas por duplicado. Los valores de GI<sub>50</sub> se calcularon mediante el ajuste de regresión no lineal (Modelo de ajuste (205)) según una ecuación de dosis-reacción sigmoidea utilizando el software XLfit.

Los resultados se muestran en la Tabla 7.

[Tabla 7]

	Ensayo de inhibición de la enzima FLT3 GI <sub>50</sub> (nmol/l)	Ensayo de inhibición del crecimiento celular de MV4-11 GI <sub>50</sub> (nmol/l)	Ensayo de inhibición del crecimiento celular de MOLM-13 GI <sub>50</sub> (nmol/l)
Ejemplo 1	0,18	0,52	1,47
Ejemplo 2	0,22	0,60	1,50
Ejemplo 3	0,21	0,60	1,60

Las sales del compuesto A de la presente invención mostraron excelentes actividades inhibitoras de la enzima FLT3 y actividades inhibitoras del crecimiento de células leucémicas.

Ejemplo de ensayo 3: Ensayo de solubilidad

Se seleccionaron los ejemplos 1 y 3 como compuestos de ensayo.

Se seleccionó el compuesto A como compuesto comparativo.

Se añadió cada uno de los compuestos de ensayo y el compuesto comparativo a agua y cada mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 24 horas. La materia insoluble se eliminó por filtración usando un filtro de membrana (0,2 µm). El filtrado se analizó por HPLC para obtener la solubilidad.

Los resultados se muestran en la tabla 8.

[Tabla 8]

Compuesto de ensayo	Solubilidad (mg/ ml)
Ejemplo 1	70,0
Ejemplo 3	0,89
Compuesto A	0,02

Las sales del compuesto A de la presente invención mostraron una solubilidad excepcional.

Ejemplo de ensayo 4: Ensayo de estabilidad durante el almacenamiento (1)

Como sustancias de ensayo se eligieron los cristales de los compuestos de los ejemplos 1 y 3.

Cada sustancia de ensayo (200 mg) se colocó en una botella de vidrio en un estado abierto y se almacenó durante 2 semanas en la condición de almacenamiento 1 (25 °C, humedad relativa del 75 %) o en la condición de almacenamiento 2 (40 °C, humedad relativa del 75 %). Se midieron la pureza y el contenido de humedad de la sustancia de ensayo antes del comienzo del ensayo y después del final del ensayo.

Las purezas y los contenidos de humedad de las sustancias de ensayo medidas antes del inicio del ensayo y después del final de ensayo se muestran en la tabla 9.

[Tabla 9]

Sustancia de ensayo		Pureza (%)	Contenido de humedad (%)
Ejemplo 1	Antes de comenzar el ensayo	99,6	0,5
	Condición de almacenamiento 1	99,6	0,2
	Condición de almacenamiento 2	99,6	0,2
Ejemplo 2	Antes de comenzar el ensayo	99,7	1,7
	Condición de almacenamiento 1	99,6	3,2
	Condición de almacenamiento 2	99,6	2,1

5 Las sales del compuesto A de la presente invención mostraron una estabilidad durante el almacenamiento excepcional.

10 Los cristales obtenidos en los ejemplos 1 y 3 mostraron poco cambio en la pureza y el contenido de humedad incluso después del almacenamiento durante 2 semanas y, por lo tanto, mostraron una estabilidad durante el almacenamiento superior.

Ejemplo de ensayo 4: Ensayo de estabilidad durante el almacenamiento (2)

15 Se seleccionaron los cristales del compuesto del ejemplo 1 como sustancia de ensayo.

20 La sustancia de ensayo (200 mg) se colocó en una bolsa de plástico doble y la abertura se ató. La bolsa se almacenó durante 4 semanas en la condición de almacenamiento 1 (25 °C, humedad relativa del 75 %) o en la condición de almacenamiento 2 (40 °C, humedad relativa del 75 %). Se midieron la pureza y el contenido de humedad de la sustancia de ensayo antes del comienzo del ensayo y después del final del ensayo.

Las purezas y los contenidos de humedad de la sustancia de ensayo medidas antes del comienzo del ensayo y después del final del ensayo se muestran en la tabla 10.

25

[Tabla 10]

Sustancia de ensayo		Pureza (%)	Contenido de humedad (%)
Ejemplo 1	Antes de comenzar el ensayo	99,4	0,2
	Condición de almacenamiento 1	99,4	0,2
	Condición de almacenamiento 2	99,4	0,2

La sal del compuesto A de la presente invención mostró una estabilidad durante el almacenamiento excepcional.

### 30 Aplicabilidad industrial

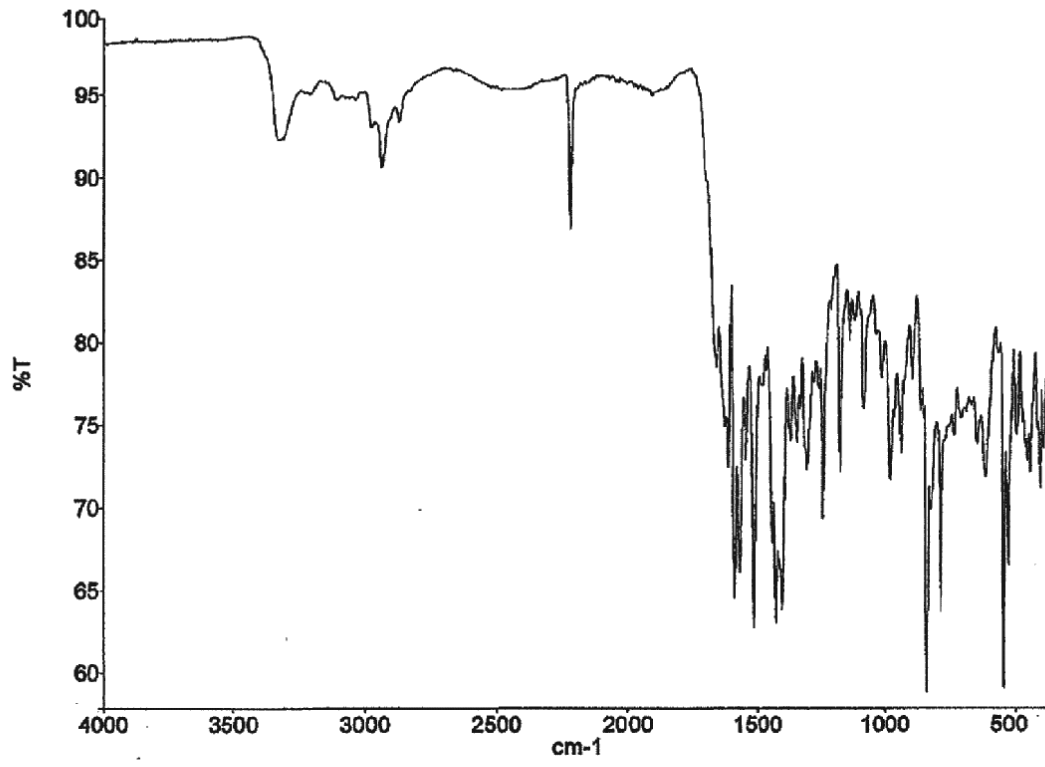
La sal del compuesto A o un cristal de la misma de la presente invención tiene actividad inhibidora de FLT3 excepcional y propiedades psicoquímicas superiores como fármacos, tales como estabilidad durante el almacenamiento y solubilidad. Por lo tanto, es útil para el tratamiento de una enfermedad o afección relacionada con FLT3.

35

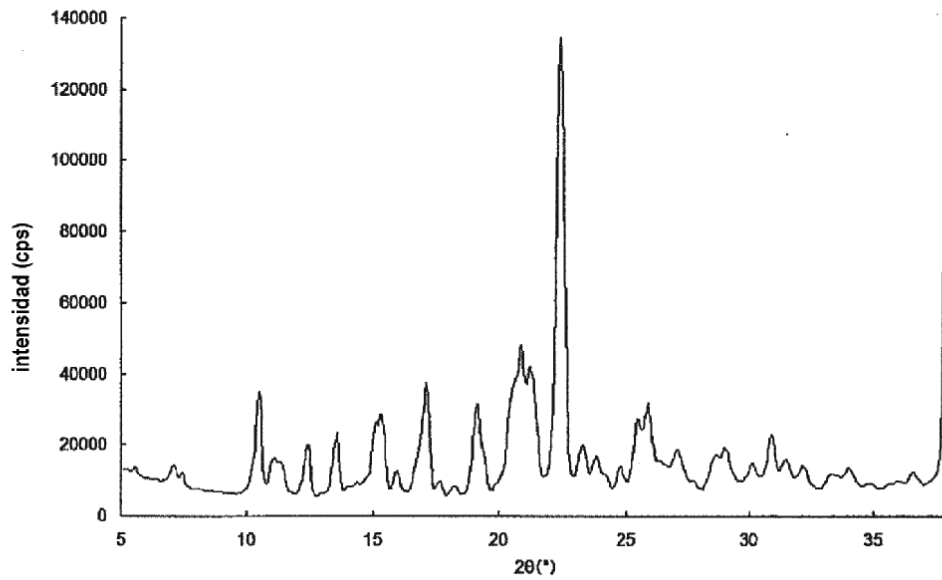
## REIVINDICACIONES

- 5 1. Una sal del ácido carboxílico (carboxilato) o una sal de ácido mineral de (S,E)-N-(1-((5-(2-((4-cianofenil)amino)-4-(propilamino)pirimidin-5-il)pent-4-in-1-il)amino)-1-oxopropan-2-il)-4-(dimetilamino)-N-metilbut-2-enamida, en donde el carboxilato es formiato, acetato, lactato, benzoato, citrato, oxalato, fumarato, maleato, succinato, malato, tartrato, aspartato, tricloroacetato, trifluoroacetato o pamoato y la sal de ácido mineral es clorhidrato, bromhidrato, yodhidrato, nitrato, fosfato o sulfato.
- 10 2. La sal de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el carboxilato es fumarato, succinato o pamoato.
3. La sal de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la sal de ácido mineral es clorhidrato o bromhidrato.
- 15 4. Un cristal de succinato de (S,E)-N-(1-((5-(2-((4-cianofenil)amino)-4-(propilamino)pirimidin-5-il)pent-4-in-1-il)amino)-1-oxopropan-2-il)-4-(dimetilamino)-N-metilbut-2-enamida, que muestra picos de difracción a ángulos de difracción ( $2\theta$ ) de 10,5, 17,1, 19,1 y 22,4° en difracción de rayos X en polvo.
- 20 5. Un cristal de succinato de (S,E)-N-(1-((5-(2-((4-cianofenil)amino)-4-(propilamino)pirimidin-5-il)pent-4-in-1-il)amino)-1-oxopropan-2-il)-4-(dimetilamino)-N-metilbut-2-enamida, que muestra picos de difracción a ángulos de difracción ( $2\theta$ ) de 12,8, 16,1, 21,4 y 28,0° en difracción de rayos X en polvo.
6. Un cristal de fumarato de (S,E)-N-(1-((5-(2-((4-cianofenil)amino)-4-(propilamino)pirimidin-5-il)pent-4-in-1-il)amino)-1-oxopropan-2-il)-4-(dimetilamino)-N-metilbut-2-enamida, que muestra picos de difracción a ángulos de difracción ( $2\theta$ ) de 8,6, 13,7, 17,8 y 23,0° en difracción de rayos X en polvo.
- 25 7. Una composición farmacéutica que contiene la sal de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 o el cristal de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 4 a 6.

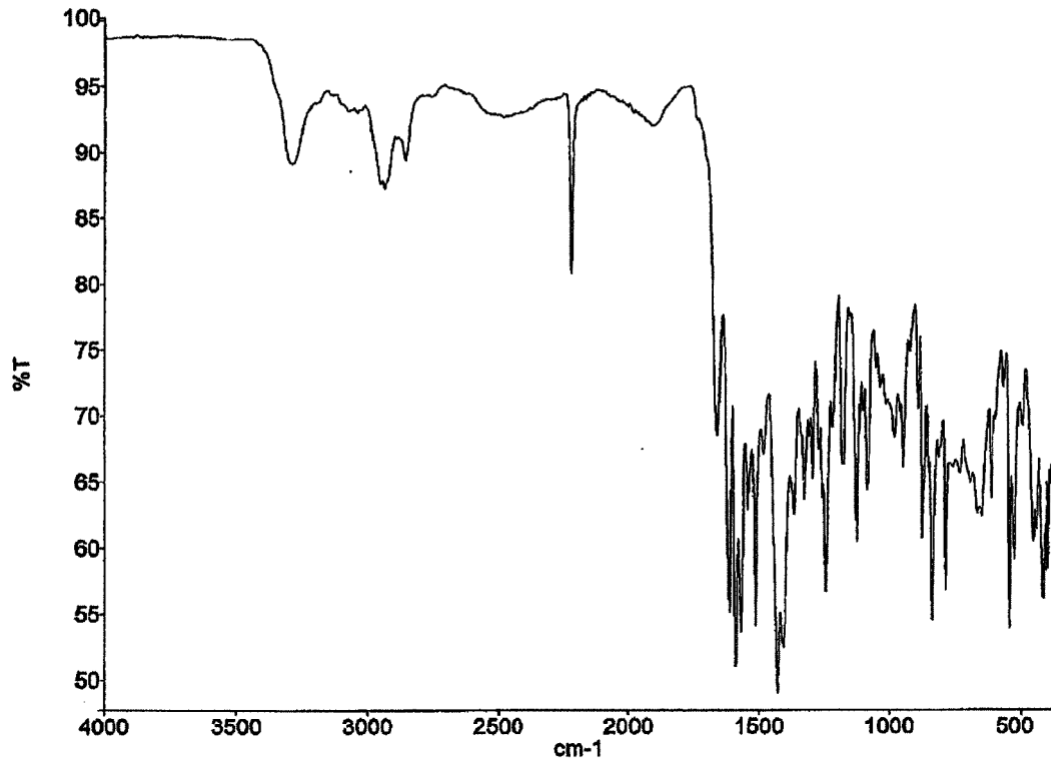
[Fig.1]



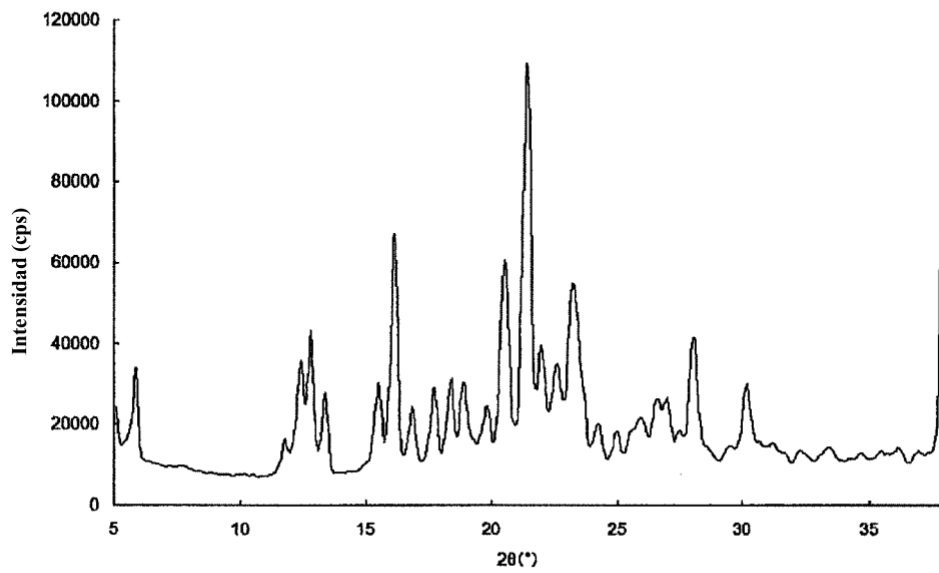
[Fig.2]



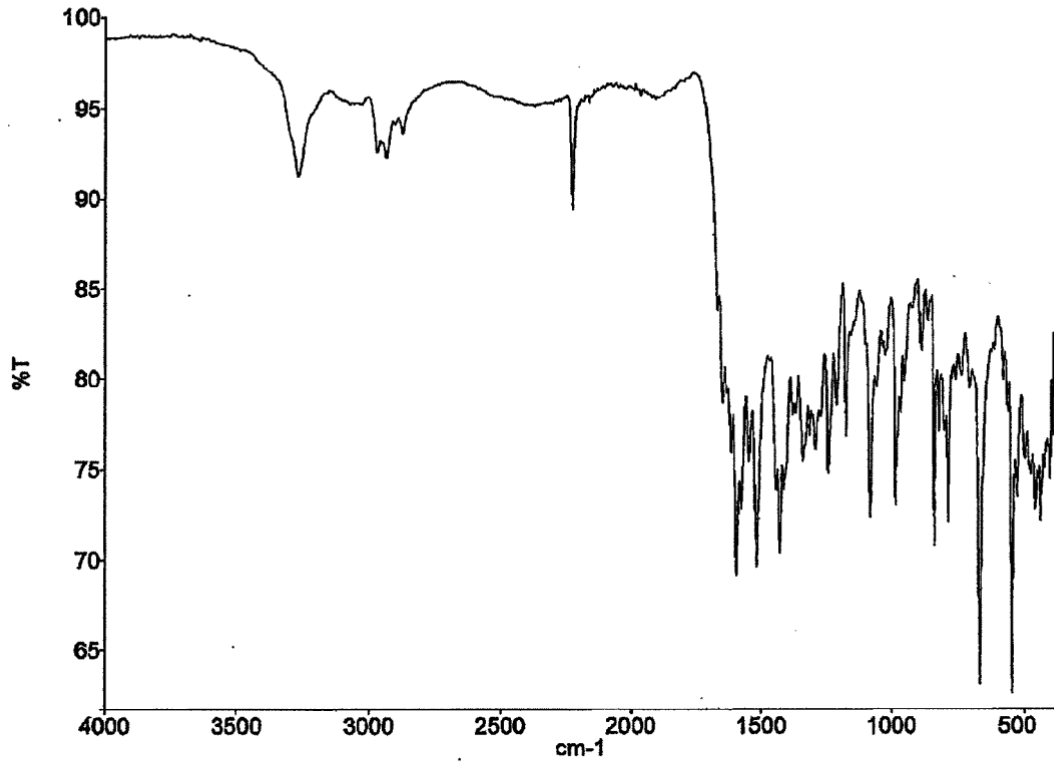
[Fig.3]



[Fig.4]



[Fig.5]



[Fig.6]

