

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 393 333**

51 Int. Cl.:

<b>C07D 213/75</b>	(2006.01)	<b>A61K 31/498</b>	(2006.01)
<b>C07D 213/85</b>	(2006.01)	<b>A61K 31/506</b>	(2006.01)
<b>C07D 241/04</b>	(2006.01)	<b>A61K 31/517</b>	(2006.01)
<b>C07D 401/12</b>	(2006.01)	<b>A61K 31/5377</b>	(2006.01)
<b>C07D 403/12</b>	(2006.01)	<b>A61P 5/28</b>	(2006.01)
<b>C07D 405/12</b>	(2006.01)	<b>A61P 13/08</b>	(2006.01)
<b>C07D 417/12</b>	(2006.01)	<b>A61P 17/08</b>	(2006.01)
<b>C07D 471/04</b>	(2006.01)	<b>A61P 17/14</b>	(2006.01)
<b>A61K 31/495</b>	(2006.01)	<b>A61P 35/00</b>	(2006.01)
<b>A61K 31/496</b>	(2006.01)		

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 96 Número de solicitud europea: **03764179 .2**
- 96 Fecha de presentación: **11.07.2003**
- 97 Número de publicación de la solicitud: **1557411**
- 97 Fecha de publicación de la solicitud: **27.07.2005**

54 Título: **Derivado de N-fenil-(2R,5S)dimetilpiperazina**

30 Prioridad:

**12.07.2002 JP 2002203690**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:

**20.12.2012**

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:

**20.12.2012**

73 Titular/es:

**ASTELLAS PHARMA INC. (100.0%)  
3-11, NIHONBASHI-HONCHO 2-CHOME, CHUO-KU  
TOKYO 103-8411, JP**

72 Inventor/es:

**TANIGUCHI, NOBUAKI;  
IMAMURA, MASAKAZU;  
HAYAKAWA, MASAHIKO;  
KAWAGUCHI, KENICHI;  
KIMURA, TAKENORI;  
KINOYAMA, ISAO;  
KAIZAWA, HIROYUKI;  
OKADA, MINORU y  
FURUTANI, TAKASHI**

74 Agente/Representante:

**UNGRÍA LÓPEZ, Javier**

**ES 2 393 333 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

Derivado de N-fenil-(2R,5S)dimetilpiperazina

**Campo técnico**

5 La presente invención se refiere a derivados de N-fenil-(2R,5S)dimetilpiperazina novedosos y sales de los mismos útiles como medicamentos, particularmente como agentes antiandrogénicos.

**Antecedentes de la técnica**

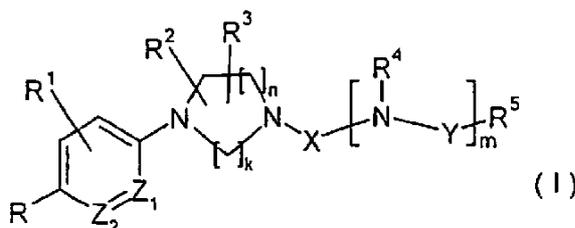
10 El andrógeno, que es un tipo de hormona esteroidea, se segrega a partir de los testículos y la corteza adrenal y provoca una acción de hormona androgénica. El andrógeno se capta en una célula diana para actuar sobre un receptor de andrógeno y el receptor combinado con el andrógeno forma un dímero. Después, el dímero se une a un elemento de respuesta de andrógeno en un ADN para acelerar la síntesis de un ARNm y para inducir proteínas que dirigen acciones androgénicas, mediante las cuales se expresan diversas acciones *in vivo* (Prostate Suppl., 6, 1996, 15 45-51, Trends in Endocrinology and Metabolism, 1998 9(8), 317-324).

Las enfermedades en las que el andrógeno actúa como un factor agravante incluyen cáncer de próstata, hiperplasia prostática benigna, virilismo, hirsutismo, calvicie, acné, seborrea y similares. Por lo tanto, los agentes antiandrogénicos se han empleado para tratar estas enfermedades que se pueden atribuir al andrógeno.

Los agentes antiandrogénicos, que tienen estructura esteroidea o estructura no esteroidea que se parece al sustrato se usan actualmente en el campo clínico. Aunque el acetato de clormadinona y similares se conocen como antiandrogénos esteroideos, se conoce que, ya que la separación de acciones de estos compuestos de otros esteroides que tienen estructuras similares no es suficiente, los mismos causan cambios en el nivel de hormonas en sangre e inducen efectos secundarios graves tales como reducción de la libido y similares (Jpn. J. Clin. Oncol., 1993, 23(3), 178-185).

Por otra parte, como los compuestos que tienen cada uno una estructura no esteroidea, se conocen los derivados de acilanilida tales como flutamida (Documento de Patente 1) y bicalutamida (Bibliografías de Patente 2 y 3) pero estos compuestos no son suficientes en acción antiandrogénica. Por lo tanto, en el tratamiento de cáncer de próstata, generalmente se adopta una terapia de combinación con un agonista de LH-RH (Documento No de Patente 1).

Los compuestos de la presente invención son compuestos que están dentro del intervalo de la siguiente fórmula general definida en las Reivindicaciones del Documento de Patente 4:



para los símbolos en la fórmula, refiérase al Documento de Patente 4, y tienen la misma acción farmacológica pero los compuestos en la presente invención no se divulgan o sugieren como ejemplos específicos en el Documento anterior. Los compuestos que tienen la actividad más fuerte descrita en el Documento anterior tienen problemas de acción agonista, pérdida de peso corporal y similares diferentes al efecto principal. También, el compuesto en el documento anterior que no tiene estos efectos secundarios y que tiene una actividad fuerte muestra una actividad oral baja. Por tanto, se ha deseado desarrollar un agente farmacéutico que mejore adicionalmente estos puntos.

45 [Documento de Patente 1]  
 . JP-A-49-813.32  
 [Documento de Patente 2]  
 EP-A-0 100 172  
 [Documento de Patente 3]  
 50 Publicación Internacional WO 95/19770 Panfleto  
 [Documento de Patente 4]  
 Publicación Internacional WO 00/17163 Panfleto  
 [Documento No de Patente 1]  
 Nihon Rinsho 1998, 56(8), 2124-2128

55

**Divulgación de la invención**

Como resultado de los estudios exhaustivos para resolver los problemas de los compuestos (divulgados en el Documento de Patente 4, los presentes inventores han observado que los derivados de N-fenil-(2R, 5S) dimetilpiperazina no divulgados en el Documento de Patente 4 tienen un efecto reductor de la glándula de la próstata excelente mediante administración oral sin pérdida de peso corporal. Por tanto, los mismos han conseguido la presente invención.

Debido a que los compuestos de la presente invención no se divulgan específicamente mediante ejemplos y similares en el documento anterior y los compuestos de la presente invención muestran una farmacocinética buena en el organismo, es inesperado que los compuestos muestren un efecto reductor de la glándula de la próstata excelente en base a actividades *in vitro*.

Un objeto de la presente invención es proporcionar un derivado de N-fenil-(2R,5S)dimetilpiperazina novedoso y una sal del mismo útil como un medicamento, particularmente un agente antiandrogénico.

La presente invención incluye las siguientes realizaciones:

1. Un compuesto seleccionado entre los siguientes derivados de N-fenil-(2R,5S)dimetilpiperazina, o una sal, hidrato o solvato de los mismos:

(2R,5S)-4-(3-cloro-4-cianofenil)-N-(2-ciclopropilpirimidin-5-il)-2,5-dimetilpiperazin-1-carboxamida;  
 (2R,5S)-4-(3-cloro-4-cianofenil)-N-(6-ciano-3-piridil)-2,5-dimetilpiperazin-1-carboxamida;  
 (2R,5S)-4-(4-ciano-3-metoxifenil)-2,5-dimetil-N-(6-trifluorometil-3-piridil)piperazin-1-carboxamida;  
 (2R,5S)-4-(3-bromo-9-cianofenil)-2,5-dimetil-N-(6-trifluorometil-3-piridil)piperazin-1-carboxamida; y  
 (2R,5S)-4-(4-ciano-3-trifluorometilfenil)-N-(2-ciclopropilpirimidin-5-il)-2,5-dimetilpiperazin-1-carboxamida.

2. Una composición farmacéutica que comprende un derivado de N-fenil-(2R,5S)dimetilpiperazina de acuerdo con el punto 1 anterior, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo como un ingrediente activo.

3. Un derivado de N-fenil-(2R,5S)dimetilpiperazina de acuerdo con el punto 1 anterior, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en el tratamiento de cáncer de próstata.

**Mejor modo de realizar la invención**

A continuación se describirá adicionalmente la presente invención.

Los compuestos de la presente invención forman sales. Específicamente, las sales son sales de adición de ácidos con ácidos inorgánicos o ácidos orgánicos, o sales con bases inorgánicas u orgánicas, y se prefieren sales farmacéuticamente aceptables. Específicamente, tales sales incluyen sales de adición con ácidos minerales, tales como ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido yodhídrico, ácido sulfúrico, ácido nítrico y ácido fosfórico; o con ácidos orgánicos, tales como ácido fórmico, ácido acético, ácido propiónico, ácido oxálico, ácido malónico, ácido succínico, ácido fumárico, ácido maleico, ácido láctico, ácido málico, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido metanosulfónico, ácido etanosulfónico y ácido benzenosulfónico; o aminoácidos ácidos, tales como ácido aspártico y ácido glutámico; las sales con bases inorgánicas, tales como sodio, potasio, magnesio, calcio, aluminio y litio; con bases orgánicas, tales como metilamina, etilamina y etanolamina; con aminoácidos básicos, tales como lisina y ornitina; y similares. Además, las sales pueden ser sales de amonio. Las sales de amonio pueden ser específicamente aquellas con haluros de alquilo inferior, triflatos de alquilo inferior, tosilatos de alquilo inferior, haluros de bencilo, o similares, preferiblemente yoduro de metilo o cloruro de bencilo.

Además, los compuestos de la presente invención pueden formar hidratos y solvatos, por ejemplo con etanol. Los compuestos también pueden mostrar polimorfismo cristalino.

Los compuestos de la presente invención y la sales farmacéuticamente aceptables de los mismos son útiles como agentes de tratamiento para enfermedades en las cuales el andrógeno actúa como un factor agravante, tales como cáncer de próstata, hiperplasia prostática benigna, virilismo, hirsutismo, calvicie, acné y seborrea, en base a su acción antiandrogénica excelente y actividades orales.

Los compuestos de la presente invención pueden aislarse o purificarse en forma de la base libre, sus sales, sus hidratos, sus solvatos, o sustancias polimórficas cristalinas. Las sales de los compuestos de la presente invención también pueden producirse sometiendo el compuesto a una reacción de formación de sal convencional.

El aislamiento y la purificación pueden realizarse aplicando operaciones químicas habituales, tales como extracción, concentración, retirada por evaporación, cristalización, filtración, recristalización y diversos modos de cromatografía.

Pueden obtenerse diversos isómeros mediante síntesis estereoselectiva usando compuestos de partida adecuados, reactivos, o condiciones de reacción, o separarse entre sí utilizando la diferencia de las propiedades físicas entre los isómeros. Por ejemplo, los isómeros ópticos pueden conducirse a isómeros estereoquímicamente puros seleccionando materiales de partida adecuados o a través de resolución óptica de compuestos racémicos (por ejemplo, un método para convertir un compuesto racémico en una sal diastereomérica con una base ópticamente activa habitual seguido de resolución óptica).

Las preparaciones farmacéuticas que contienen, como el ingrediente o los ingredientes activos, uno o más de los compuestos de la presente invención o sus sales pueden prepararse mediante el uso de un transportador, un vehículo y otros aditivos usados en general en la formulación.

La administración puede ser en cualquier forma de administración oral por medio de comprimidos, gránulos, polvos o líquidos o administración parenteral por medio de inyecciones tales como inyecciones intravenosas o inyecciones intramusculares o supositorios o preparación subcutánea. Su dosis se puede determinar de forma adecuada dependiendo del síntoma, la edad y el sexo de los pacientes a los cuales se administra, pero es, en general, desde aproximadamente 0,01 hasta 50 mg/adulto/día en el caso de administración oral y desde aproximadamente 0,01 a 5 mg/adulto/día en el caso de administración parenteral. Este se puede administrar en su totalidad en una sola vez o se puede dividir en algunas porciones para administración de 2 a 4 veces.

Como la composición sólida para administración oral de acuerdo con la presente invención, se emplean comprimidos, polvos, gránulos, etc. En la composición sólida de esos tipos, una o más sustancias activas se mezclan con al menos un diluyente inerte, tal como lactosa, manitol, glucosa, hidroxipropilcelulosa, celulosa microcristalina, almidón, polivinilpirrolidona, ácido metasilícico o aluminato de magnesio. De acuerdo con una manera ordinaria, la composición puede contener aditivos diferentes a los diluyentes inertes, por ejemplo, un lubricante tal como estearato de magnesio, un disgregante tal como glicolato de celulosa de calcio, un estabilizante tal como lactosa y un promotor de la dilución tal como ácido glutámico o ácido aspártico. Si es necesario, los comprimidos o píldoras se pueden revestir con una película de sustancias gástricas o entéricas tales como sacarosa, gelatina, hidroxipropilcelulosa, o ftalato de hidroxipropilmetilcelulosa.

La composición líquida para administración oral incluye emulsiones, soluciones, suspensiones, jarabes y elixires farmacéuticamente aceptables y similares, que contienen diluyentes inertes convencionales tales como agua pura o metanol. Además de los diluyentes inertes, la composición puede contener adicionalmente ayudas farmacéuticas tales como promotores humectantes y promotores de suspensión y también edulcorantes, saporíferos, aromas y conservantes.

### [Ejemplos]

A continuación se describirá la presente invención en más detalle con referencia a los Ejemplos.

#### Ejemplo de Referencia 2

##### 4-[(2S,5S)-2,5-Dimetilpiperazin-1-il]-2-metilbenzonitrilo

En 50 ml de dicloroetano se disolvieron 1,81 g de 4-[(2S,5R)-4-bencil-2,5-dimetilpiperazin-1-il]-2-metilbenzonitrilo, y después al mismo se le añadieron 1,62 g de clorocarbonato de 1-cloroetilo seguido de calentamiento a reflujo durante una noche. Después de la concentración de la solución de reacción, a la misma se le añadieron 50 ml de metanol seguido de calentamiento a reflujo durante una noche. Después de la concentración de la solución de reacción, a la misma se le añadió agua seguido de lavado con éter. La fase acuosa se hizo básica con una solución acuosa 1 M de hidróxido sódico seguido de la extracción con acetato de etilo. La capa orgánica se secó sobre sulfato sódico anhidro y después el disolvente se retiró por evaporación para obtener 1,11 g del compuesto del título.  $^1\text{H}$  RMN (DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 1,03-1,09 (6H, m), 2,37 (3H, s), 2,45-2,53 (1H, m), 3,05-3,22 (4H, m), 3,70-3,82 (1H, m), 6,75-6,81 (1H, m), 6,83-6,88 (1H, m), 7,47 (1H, d)

#### Ejemplo de Referencia 3-1

##### (2R,5S)-4-(4-ciano-3-fluorofenil)-2,5-dimetilpiperazin-1-carboxilato de terc-butilo

En una solución de 9,74 g de (2R,5S)-2,5-dimetilpiperazin-1-carboxilato de terc-butilo en 25 ml de DMI y 25 ml de acetonitrilo se añadieron 5 g de 2,4-difluorobenzonitrilo y 11,4 g de carbonato de cesio seguido de 2 días de agitación a 120 °C. La solución de reacción se vertió en agua seguido de la extracción con acetato de etilo. Después de lavar la capa orgánica con solución salina saturada, se secó sobre sulfato sódico anhidro. El disolvente se retiró por evaporación y el residuo resultante se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice para obtener 4,66 g del compuesto del título de un eluato eluyendo con hexano-acetato de etilo (80:20, v/v).

$^1\text{H}$  RMN (CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 1,16 (3H, d), 1,23 (3H, d), 1,49 (9H, s), 3,23-3,48 (2H, m), 3,75-4,06 (2H, m), 4,17-4,30 (2H, m), 6,50 (1H, dd), 6,58 (1H, dd), 7,40 (1H, dd)

## Ejemplo de Referencia 3-3

(2R,5S)-4-(3-cloro-4-cianofenil)-2,5-dimetilpiperazin-1-carboxilato de terc-butilo

5 FAB MS 349 [M+H]<sup>+</sup>

## Ejemplo de Referencia 4-1

4-[(2S,5R)-4-Bencil-2,5-dimetilpiperazin-1-il]-2-metoxibenzonitrilo

10

En 20 ml de THF y 6 ml de metanol se disolvieron 5,17 g de 4-[(2S,SR)-4-bencil-2,5-dimetilpiperazin-1-il]-2-fluorobenzonitrilo, y después al mismo se le añadieron 9,83 g de t-butoxido potásico seguido de agitación a temperatura ambiente durante una noche. A la solución de reacción se le añadió una solución acuosa saturada de cloruro de amonio seguido de la extracción con cloroformo. Después de la capa orgánica se secó sobre sulfato sódico anhidro, el disolvente se retiró por evaporación y el residuo resultante se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice para obtener 4,72 g del compuesto del título de un eluato eluyendo con hexano-acetato de etilo (80:20, v/v).

15

<sup>1</sup>H RMN (DMSO-d<sub>6</sub>) δ: 1,01 (3H, d), 1,13 (3H, d), 2,24-2,34 (1H, m), 2,73-2,84 (1H, m), 3,00-3,12 (1H, m), 3,26-3,36 (1H, m), 3,46-3,58 (2H, m), 3,65 (1H, d), 3,86 (3H, s), 4,05-4,19 (1H, m), 6,46 (1H, d), 6,52 (1H, dd), 7,20-7,42 (6H, m)

20

## Ejemplo de Referencia 4-3

4-[(2S,5R)-2,5-Dimetilpiperazin-1-il]-2-fluoro-6-metoxibenzonitrilo

25

El compuesto se sintetizó de manera similar a la del Ejemplo de Referencia 4-1 usando 4-[(2S,5R)-2,5-dimetilpiperazin-1-il]-2,6-difluorobenzonitrilo y 1 equivalente de terc-butoxido potásico.

FABMS 264 [M+H]<sup>+</sup>

30 Ejemplo de Referencia 6-1

4-[(2S,5R)-2,5-Dimetilpiperirazin-1-il]-2-fluorobenzonitrilo

35

En 150 ml de diclorometano se disolvieron 15,0 g de (2R,5S)-4-(4-ciano-3-fluorofenil)-2,5-dimetilpiperazin-1-carboxilato de terc-butilo, y después al mismo se le añadieron 30 ml de ácido trifluoroacético seguido de agitación a temperatura ambiente durante una noche. Después de retirar por evaporación la solución de reacción, a la misma se le añadió ácido clorhídrico 1 M seguido de lavado con cloroformo. La fase acuosa se hizo básica con una solución acuosa 5 M de hidróxido sódico seguido de la extracción con cloroformo. Después de la capa orgánica se secó sobre sulfato de magnesio anhidro, el disolvente se retiró por evaporación para obtener 12,0 g del compuesto del título.

40

<sup>1</sup>H RMN (CDCl<sub>3</sub>) δ: 1,20 (3H, d), 1,21 (3H, d), 2,70 (1H, dd), 3,04-3,13 (1H, m), 3,22-3,37 (3H, m), 3,65-3,78 (2H, m), 6,59 (1H, dd), 6,62 (1H, dd), 7,40 (1H, dd)

45

La investigación de la pureza óptica se realizó usando una columna quiral y se confirmó que el producto era un compuesto puro ópticamente activo.

Tiempo de retención de HPLC: 17,00 min. (columna: CHIRALCEL OD-H fabricada por Daicel Chemical Industries, Ltd., tamaño: 0,46 cm de D.I. x 25 cm de L, fase móvil: hexano:isopropanol:dietilamina (600:400:1). [% en vol.], caudal: 0,5 ml/min, temperatura: 35 °C, longitud de onda: 254 nm)

50

Los siguientes Ejemplos de Referencia se sintetizaron de manera similar.

En este sentido, los Ejemplos de Referencia 6-1 y 6-2 también se sintetizaron de manera similar a la del Ejemplo de Referencia 2, y los valores de sus propiedades físicas correspondieron con los valores de las propiedades físicas descritas en este documento.

55

## Ejemplo de Referencia 6-2

2-Cloro-4-[(2S,5R)-2,5-dimetilpiperazin-1-il]benzonitrilo

60

<sup>1</sup>H RMN (CDCl<sub>3</sub>) δ: 1,16-1,22 (6H, m), 2,69 (1H, dd), 3,00-3,36 (4H, m), 3,64-3,74 (1H, m), 6,75 (1H, dd), 6,87 (1H, d), 7,46 (1H, d)

Tiempo de retención de HPLC: 16,02 min. (las mismas condiciones analíticas que en el Ejemplo de Referencia 6-1)

65 Ejemplo de Referencia 9-1

## 2-metilpirimidin-5-carboxilato de etilo

En 25 ml de éter se suspendieron 762 mg de NaH al 60%, y después se añadieron gota a gota 20 g de formiato de etilo en refrigeración con hielo. Después, al mismo se le añadieron gota a gota 12 ml de una solución de éter de 5,0 g de 3,3-dietoxipropanoato de etilo. Después de 2 días de agitación a la misma temperatura, al mismo se le añadieron 2,50 g de clorhidrato de acetamidina seguido de 1 día de agitación a temperatura ambiente. Después, a la solución de reacción se le añadieron 5 ml de ácido acético y agua seguido de la extracción con acetato de etilo. Después de la capa orgánica se secó sobre sulfato sódico anhidro, el disolvente se retiró por evaporación y el residuo resultante se sometió a cromatografía en columna sobre gel de sílice para obtener 2,93 g del compuesto del título de un eluato eluyendo con acetato de etilo-hexano (3:7, v/v).

<sup>1</sup>H RMN (DMSO-d<sub>6</sub>) δ: 1,34 (3H, t), 2,71 (3H, s), 4,36 (2H, c), 9,12 (2H, s)

Los siguientes Ejemplos de Referencia se sintetizaron de manera similar.

## Ejemplo de Referencia 9-3

## 2-ciclopropilpirimidin-5-carboxilato de etilo

<sup>1</sup>H RMN (DMSO-d<sub>6</sub>) δ: 1,04-1,22 (4H, m), 1,33 (3H, t), 2,25-2,36 (1H, m), 4,35 (2H, c), 9,05 (2H, s)

## Ejemplo de Referencia 12-1

## ácido 2-metilpirimidin-5-carboxílico

En 30 ml de etanol y 20 ml de una solución acuosa 1 M de hidróxido sódico, se agitaron 2,9 g de 2-metilpirimidin-5-carboxilato de etilo durante 2 horas. El disolvente se retiró por evaporación y al mismo se le añadió una cantidad apropiada de agua y éter dietílico seguido de una operación de separación del líquido. La capa acuosa resultante se hizo débilmente ácida con una solución acuosa 1 M de ácido clorhídrico y después los cristales resultantes se recogieron por filtración, se lavaron con agua, y después se secaron para obtener 1,9 g del compuesto del título.

FABMASS 139 [M+H]<sup>+</sup>

Los siguientes Ejemplos de Referencia se sintetizaron de manera similar.

## Ejemplo de Referencia 12-3

## ácido 2-ciclopropilpirimidin-5-carboxílico

FABMASS 165 [M+H]<sup>+</sup>

## Ejemplo de Referencia 1-1

## (2R,5S)-4'-Ciano-4-(4-ciano-3-fluoro-5-metoxifenil)-2,5-dimetilpiperazin-1-carboxanilida

En 20 ml de acetonitrilo se disolvieron 500 mg de 4-[(2S,SR)-2,5-dimetilpiperazin-1-il]-2-fluoro-6-metoxi-benzonitrilo, y después al mismo se le añadieron 274 mg de 4-isocianatobenzonitrilo seguido de 1 hora de agitación a temperatura ambiente. La solución de reacción se concentró seguido de la adición de acetato de etilo y filtración. El filtrado se retiró por evaporación y el polvo resultante se cristalizó en hexano-acetato de etilo (85:15, v/v) para obtener 535 mg del compuesto del título.

## Ejemplo de Referencia 3-2

## (2R,5S)-4-(4-Ciano-3-fluoro-5-metoxifenil)-N-(2-ciclopropilpirimidin-5-il)-2,5-dimetilpiperazin-1-carboxamida

En 10 ml de acetato de etilo se suspendieron 374 mg de ácido 2-ciclopropilpirimidin-5-carboxílico, y después al mismo se le añadieron 345 mg de trietilamina y 690 mg de DPPA seguido de 2 horas de agitación a temperatura ambiente. La solución de reacción se lavó con una solución acuosa saturada de bicarbonato sódico y después agua. Después de la solución se secó sobre sulfato sódico anhidro y el disolvente se retiró por evaporación. A la misma se le añadió tolueno y el disolvente se retiró por evaporación para obtener 2-ciclopropilpirimidin-5-carboxil azida. La azida de ácido resultante se disolvió en 20 ml de tolueno y la solución se calentó y se mantuvo a reflujo durante 30 minutos para convertir la azida de ácido en 2-ciclopropil-5-isocianatopiridina seguido de refrigeración con hielo de la solución de reacción. En 3 ml de acetato de etilo se disolvieron 500 mg de 4-[(2S,5R)-2,5-dimetilpiperazin-1-il]-2-fluoro-6-metoxibenzonitrilo, y la solución resultante se añadió gota a gota a la solución de reacción anterior seguido de 18 horas de agitación a temperatura ambiente. La solución de reacción se evaporó y el residuo resultante se sometió a cromatografía en columna sobre gel de sílice, y un producto oleoso resultante de un eluato usando metanol-cloroformo (3:97, v/v) se cristalizó en acetato de etilo-éter dietílico para obtener 626 mg del compuesto del título.

La siguiente tabla muestra estructuras y valores de las propiedades físicas de los compuestos de la presente invención sintetizados de una manera similar a la de los Ejemplos de Referencia anteriores.

En este sentido, los símbolos de la tabla tienen los siguientes significados.

- 5 Ej.: Ejemplo N°, Me: metilo, y MS: este símbolo significa un valor de FABMS  $[M+H]^+$  a menos que se indique específicamente otra cosa, p.f.: punto de fusión (°C), el disolvente de recristalización se mostró entre paréntesis y el valor que mostrada la descomposición se describió con (desc.). HPLC: Tiempo de retención de HPLC (columna: CHIRALCEL OJ-H fabricada por Daicel Chemical Industries, Ltd., tamaño: 4,6 cm x 250 mm, fase móvil:
- 10 hexano:etanol (8:2), caudal: 0,5 ml/min, temperatura: 40 °C, longitud de onda: 254 nm)

Tabla 1

Ej.	R1	R2	Sal Cy.	Datos físicos	Ej.	R1	R2	Sal Cy.	Datos físicos
1-1*	OMe	F		MS: 408					
					3-9	Cl	H		MS: 411
3-12	Cl	H		MS: 395					
					3-15	OMe	H		p.f.: 211-212 (AcOEt)
					3-23	Br	H		p.f.: 216-218 (AcOEt-hexano) HPLC: 24,9 min
3-30	CF <sub>3</sub>	H		MS: 445					
*Ejemplo de Referencia									

Además, los valores de RMN de los Ejemplos anteriores se muestran en la siguiente tabla.

15

Tabla 2

Ej.	<sup>1</sup> H RMN (DMSO-d <sub>6</sub> ) δ:
3-9	0,85-1,05 (4H, m), 1,09 (3H, d), 1,18 (3H, d), 2,06-2,20 (1H, m), 3,26-3,46 (2H, m), 3,68 (1H, d), 3,86 (1H, d), 4,30 (1H, s a), 4,47 (1H, s a), 7,0 (1H, dd), 7,18 (1H), 7,67 (1H, d), 8,72 (2H, s), 8,78 (1H, s)
3-12	1,09 (3H, d, J = 7), 1,20 (3H, d, J = 6), 3,33-3,50 (2H, m), 3,69 (1H, d, J = 13), 3,90 (1H, d, J = 14), 4,31 (1H, s a), 4,51 (1H, s a), 7,01 (1H, dd, J = 2, 9), 7,18 (1H, d, J = 2), 7,68 (1H, d, J = 9), 7,91 (1H, d), 8,16 (1H, dd), 8,85 (1H, d), 9,25 (1H, s)
3-23	1,09 (3H, d), 1,20 (3H, d), 3,30-3,38 (1H, m), 3,40-3,49 (1H, m), 3,63-3,72 (1H, m), 3,86-3,99 (1H, m), 4,25-4,35 (1H, m), 4,45-4,56 (1H, m), 7,01-7,07 (1H, m), 7,28-7,32 (1H, m), 7,65 (1H, d), 7,79 (1H, d), 8,15-8,22 (1H, m), 8,82-8,87 (1H, m), 9,15 (1H, s)
3-30	0,88-1,01 (4H, m), 1,11 (3H, d), 1,20 (3H, d), 2,08,2,18 (1H, m), 3,35-3,49 (2H, m), 3,70-3,79 (1H, m), 3,83-3,93 (1H, m), 4,33-4,55 (2H, m), 7,24-7,33 (2H, m), 7,85 (1H, d), 8,72 (2H, s), 8,79 (1H, s a)

**(Métodos de ensayo)**

20

La utilidad de los compuestos de la presente invención se puede confirmar mediante los siguientes métodos de ensayo.

25

1. Acción reguladora de la activación de transcripción hacia receptor de andrógenos humano.

Adquisición de transformante estable que expresa receptor de andrógenos humano de gen informador de MMTV y transformante estable de gen informador de SV40.

Células CHO se sembraron en una placa para cultivo celular que tiene un diámetro de 100 mm en una cantidad de  $1 \times 10^6$  células. Después de 12 a 18 horas, se añadió a la misma un plásmido que expresa receptor de andrógenos humano, plásmido informador de luciferasa MMTV-LTR (que también incluye el gen de resistencia a neomicina) co-precipitado con fosfato de calcio para lograr la transfección. Después de 15 horas, el medio se eliminó y las células se diluyeron a varias concentraciones celulares y se sembraron nuevamente respectivamente y se añadió GENETICIN (marca registrada) (neomicina) al medio de forma que hubiera una concentración final de 500  $\mu\text{g/ml}$ . Después de aproximadamente una semana, las células seleccionadas por neomicina se desprendieron y células de clones introdujeron un receptor de andrógenos humano y un gen informador de MMTV-luciferasa se aisló y se obtuvo mediante dilución limitante (transformante estable CHO/MMTV).

De forma similar a lo anterior, se obtuvo un transformante estable de gen informador de SV40 (transformante estable CHO/SV40).

a) Evaluación de acción activadora de transcripción hacia receptor de andrógenos humano (acción agonista)

Células de transformante estable CHO/MMTV y células de transformante estable CHO/SV40 se sembraron en una luminoplaque de 96 pocillos para cultivo celular en una cantidad de  $2 \times 10^4$  células/pocillo. Después de 6 a 8 horas, se añadió cada uno de los compuestos de la presente invención. Después de aproximadamente 18 horas de la adición de los compuestos, se eliminó el medio de cultivo y se añadieron 20  $\mu\text{l}$  de una solución que contiene Tritón X al 1% y glicerina al 10% a la misma para disolver las células y 100  $\mu\text{l}$  de una solución de sustrato de luciferasa que contiene luciferina 0,47 mM se añadió posteriormente a la misma. Después, se midió la intensidad de luz emitida por medio de un luminómetro, considerándose la intensidad como actividad de luciferasa obtenida por activación de transcripción de MMTV-LTR debido a receptor de andrógenos humano y activación inespecífica de transcripción de promotor SV40.

La acción activadora de transcripción del compuesto de la presente invención se calculó de acuerdo con la siguiente ecuación como una proporción de la actividad de transcripción inducida por DHT 1 nM.

$$\text{Índice de inducción (\%)} = 100 (X-B) / (I-B)$$

I: (actividad de luciferasa de MMTV) / (actividad de luciferasa de SV40) en el caso de que se añada DHT 1 nM

B: (actividad de luciferasa de MMTV) / (actividad de luciferasa de SV40) sin tratamiento

X: (actividad de luciferasa de MMTV) / (actividad de luciferasa de SV40) en el caso de que se añada el compuesto de la presente invención

El índice de inducción agonista del compuesto de la presente invención [Ejemplo 3-12] se observó que era el 1% o menos.

b) Evaluación de acción inhibidora de activación de transcripción hacia receptor de andrógenos humano (acción antagonista)

Células de transformante estable CHO/MMTV y células de transformante estable CHO/SV40 se inocularon en una luminoplaque de 96 pocillos para cultivo celular en una cantidad de  $2 \times 10^4$  células. Después de 6 a 8 horas, cada uno de los compuestos de la presente invención se añadió junto con DHT (concentración final de 0,3 nM). Después de aproximadamente 18 horas a partir de la adición del compuesto, se añadieron 20  $\mu\text{l}$  de una solución que contiene Tritón-X al 1% y glicerina al 10% a la misma para disolver las células y 100  $\mu\text{l}$  de una solución de sustrato de luciferasa que contiene luciferina 0,47 mM se añadió posteriormente a la misma. Después, se midió la intensidad de luz emitida usando un luminómetro, considerándose la intensidad como actividad de luciferasa obtenida mediante activación de transcripción de MMTV-LTR debido a receptor de andrógenos y activación inespecífica de transcripción de promotor SV40.

La acción inhibidora de activación de transcripción del compuesto de la presente invención se calculó de acuerdo con la siguiente ecuación como un índice inhibidor de la actividad de transcripción inducida por DHT 0,3 nM.

$$\text{Índice inhibidor (\%)} = 100 (I'-X') / (I'-B)$$

I': (actividad de luciferasa de MMTV) / (actividad de luciferasa de SV40) en el caso de que únicamente se añada DHT 0,3 nM

B: (actividad de luciferasa de MMTV) / (actividad de luciferasa de SV40) sin tratamiento

X': (actividad de luciferasa de MMTV) / (actividad de luciferasa de SV40) en el caso de que se añada el compuesto de la presente invención junto con DHT 0,3 nM.

La  $CI_{50}$  se determinó a partir de la concentración del compuesto de la presente invención a la cual el índice inhibidor calculado por el método anterior alcanzó el 50%.

2. Evaluación de actividad de unión hacia receptor de andrógenos de rata.

(1) Preparación de fracción citoplasmática de próstata de rata

5 Una próstata ventral se extrajo a partir de una rata Wistar macho de 20-60 semanas de edad después de 1 día de la eliminación de los testículos. Después de la homogeneización y posterior centrifugación de 800XgX20 minutos el sobrenadante se centrifugó adicionalmente a 223.000XgX60 minutos y el sobrenadante resultante se recuperó para obtener una fracción citoplasmática.

10 (2) Medición de unión específica de <sup>3</sup>H-mibolerona hacia receptor de andrógeno citoplasmático de próstata

Se usó una solución en la cual la fracción citoplasmática obtenida (1) se ajustó a 2 mg/ml en términos de una concentración de proteína como una solución de receptor de andrógeno de rata. A 400 µl de la solución de receptor de andrógeno se añadieron <sup>3</sup>H-mibolerona, acetato de triamcinolona y dimetil sulfóxido (DMSO) de forma de que  
 15 hubiera concentraciones finales de 1 nM, 1 µM y el 4%, respectivamente, mediante lo cual se preparó un volumen final de 500 µl. Después de 18 horas de reposo a 4 °C, 500 µl de una solución que contiene dextrano-T70 al 0,05% y Durco G-60 al 0,5% (activado con carbón) se añadieron a la misma y se mezcló la totalidad. Después de 15 minutos de reposo a 4 °C, se condujo centrifugación para recuperar el sobrenadante. Después se añadieron 5 ml de Biofluor y se mezclaron con 600 µl del sobrenadante recuperado, se midió la radiactividad para determinar una cantidad de  
 20 unión total de <sup>3</sup>H-mibolerona al receptor de andrógeno de rata. Se determinó una cantidad de unión inespecífica añadiendo una solución de DMSO que contiene mibolerona no marcada en lugar del DMSO anterior de forma de que hubiera una concentración final de mibolerona no marcada de 40 µM y se condujeron las operaciones similares como anteriormente. La diferencia entre la cantidad de unión total y la cantidad de unión inespecífica se consideró como una cantidad de unión específica unida al receptor de andrógeno.

25 (3) Actividad inhibitoria del compuesto de la presente invención frente a unión específica de <sup>3</sup>H-mibolerona

Se determinó una cantidad de unión específica de <sup>3</sup>H-mibolerona unida al receptor de andrógeno de rata en el caso de que el compuesto de la presente invención estuviera presente añadiendo una solución de DMSO que contenía el  
 30 compuesto de la presente invención en una concentración diferente junto con <sup>3</sup>H-mibolerona y sometiéndolo a reacción de la manera similar a (2). A partir del valor y el valor determinado en (2), se determinó la CI<sub>50</sub> de la actividad inhibitoria del compuesto de la presente invención frente a la unión específica de <sup>3</sup>H-mibolerona. Además, se determinó una constante de disociación Ki a partir de CI<sub>50</sub> de acuerdo con la ecuación de Cheng y Prusoff\*.

35 \*: Cheng Y. C. y Prusoff W. H., Relationship between the inhibition constant (Ki) and the concentration of inhibitor which cause 50% inhibition of an enzymatic reaction., Biochem. Pharmacol., 22, 3099 (1973)

3. Acción reductora de glándula prostática hacia rata macho madura

40 A una rata Wistar de 9-10 semanas de edad macho, se administró por vía oral el compuesto de la presente invención suspendido en una solución de metilcelulosa al 0,5% una vez al día de forma continua durante 15 días. Después de 6 horas a partir de la administración final, se midió el peso húmedo de su próstata ventral y se investigó una reducción de la glándula prostática del compuesto de la presente invención.

45 La reducción de la glándula prostática del compuesto de la presente invención se calculó de acuerdo con la siguiente fórmula usando un grupo al cual se administró el compuesto de la presente invención como un grupo de ensayo y un grupo al cual se administró únicamente metilcelulosa como un grupo de control.

$$\text{Proporción de reducción (\%)} = 100 (B-A) / B$$

50 A: Peso húmedo de próstata ventral en grupo de ensayo  
 B: Peso húmedo de próstata ventral en grupo de control.

A partir de la proporción de reducción determinada en el punto anterior, se calculó un valor de DE<sub>50</sub> mediante el  
 55 método de regresión lineal.

En los compuestos de la presente invención, la siguiente tabla muestra los resultados de la reducción de glándula prostática como una actividad *in vitro* descrita en 1.b) y como una actividad *in vivo* descrita en 3.

Tabla 3

Ejemplo	Acción inhibitoria de activación de transcripción (CI <sub>50</sub> nM)	Reducción de glándula prostática (DE <sub>50</sub> mg/kg)
3-9	78	4,5
3-12	40	1,7
3-15	130	4,1
3-23	53	1,1

Ejemplo	Acción inhibitoria de activación de transcripción (CI <sub>50</sub> nM)	Reducción de glándula prostática (DE <sub>50</sub> mg/kg)
3-30	68	3,9
Compuesto de control 1	80	11,3
Compuesto de control 2	63	9,9
Compuesto de control 1: Ejemplo 18-4 descrito en el Documento de Patente 4 Compuesto de control 2: Ejemplo 18-7 descrito en el Documento de Patente 4		

Como los compuestos de control, se eligieron los dos compuestos anteriores aplicables químicamente, que eran similares en estructura, tenían actividad suficiente clínicamente y en los que además no se había observado acción problemática tal como pérdida de peso corporal.

5 Esto es debido a que los compuestos que tienen la actividad de unión más fuerte en el Documento de Patente 4, es decir, Ejemplos 13-1 y 21 muestran un efecto reductor de la próstata marcado pero su desarrollo como agentes antiandrogénicos es problemático por las razones de problemas tales como acción de pérdida de peso corporal y una acción agonista y por lo tanto los mismos son inadecuados como compuestos de control.

10 A partir de estos resultados de ensayo, se confirmó que, con respecto a la acción antiandrogénica del compuesto de la presente invención, la actividad *in vitro* del compuesto anterior es desde 1/2 hasta aproximadamente 2 veces pero la actividad *in vivo* del mismo es inesperadamente marcada, es decir, de 2 a 10 veces en comparación con los compuestos de control. Este hecho muestra que los compuestos de la presente invención son compuestos que  
15 tienen una actividad oral excelente.

Además, debido a que los compuestos tienen una actividad oral excelente, los mismos muestran el efecto con una dosis más baja en comparación con compuestos convencionales, de forma que los mismos se pueden formular como preparaciones de tamaño pequeño y por lo tanto también se puede mejorar el cumplimiento en la toma de la  
20 medicina.

Además, los compuestos de la presente invención son excelentes en solubilidad en agua y por lo tanto los artilugios para formulación tales como solubilización son innecesarios.

25 Además, estos compuestos no muestran una acción de pérdida de peso corporal ni una acción agonista y también el efecto mayor es suficientemente fuerte.

Por consiguiente, los compuestos de la presente invención son útiles como agentes de tratamiento de enfermedades en las cuales el andrógeno actúa como un factor agravante, tales como cáncer de próstata, hiperplasia prostática benigna, virilismo, hirsutismo, calvicie, acné y seborrea.  
30

#### Aplicabilidad industrial

35 Los compuestos de la presente invención son agentes antiandrogénicos fuertes que muestran una pequeña influencia sobre las hormonas sexuales en la sangre sin perder el peso corporal ni actividad agonista. Además, los compuestos son excelentes en actividades orales en comparación con compuestos convencionales.

Por lo tanto, los compuestos de la presente invención son útiles para tratar o prevenir agentes de enfermedad tales como cáncer de próstata, hiperplasia prostática benigna, virilismo, hirsutismo, calvicie, acné y seborrea.  
40

**REIVINDICACIONES**

1. Un compuesto seleccionado entre los siguientes derivados de N-fenil-(2R,5S)dimetilpiperazina, o una sal, hidrato o solvato de los mismos:
- 5 (2R,5S)-4-(3-cloro-4-cianofenil)-N-(2-ciclopropilpirimidin-5-il)-2,5-dimetilpiperazin-1-carboxamida;  
(2R,5S)-4-(3-cloro-4-cianofenil)-N-(6-ciano-3-piridil)-2,5-dimetilpiperazin-1-carboxamida;  
(2R,5S)-4-(4-ciano-3-metoxifenil)-2,5-dimetil-N-(6-trifluorometil-3-piridil)piperazin-1-carboxamida;  
10 (2R,5S)-4-(3-bromo-4-cianofenil)-2,5-dimetil-N-(6-trifluorometil-3-piridil)piperazin-1-carboxamida; y  
(2R,5S)-4-(4-ciano-3-trifluorometilfenil)-N-(2-ciclopropilpirimidin-5-il)-2,5-dimetilpiperazin-1-carboxamida.
2. Una composición farmacéutica que comprende un derivado de N-fenil-(2R,5S)dimetilpiperazina de acuerdo con la reivindicación 1, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo como un ingrediente activo.
- 15 3. Un derivado de N-fenil-(2R,5S)dimetilpiperazina de acuerdo con la reivindicación 1, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en el tratamiento de cáncer de próstata.