

(11) Número de Publicação: **PT 1557411 E**

(12) FASCÍCULO DE PATENTE DE INVENÇÃO

(51) Classificação Internacional:

C07D 213/75 (2011.01) **C07D 213/85** (2011.01)
C07D 241/04 (2011.01) **C07D 401/12** (2011.01)
C07D 403/12 (2011.01) **C07D 405/12** (2011.01)
C07D 417/12 (2011.01) **C07D 471/04** (2011.01)
A61K 31/495 (2011.01) **A61K 31/496** (2011.01)
A61K 31/498 (2011.01) **A61K 31/506** (2011.01)
A61K 31/517 (2011.01) **A61K 31/5377**
(2011.01)
A61P 5/28 (2011.01) **A61P 13/08** (2011.01)
A61P 17/08 (2011.01) **A61P 17/14** (2011.01)
A61P 35/00 (2011.01)

(22) Data de pedido: **2003.07.11**

(30) Prioridade(s): **2002.07.12 JP 2002203690**

(43) Data de publicação do pedido: **2005.07.27**

(45) Data e BPI da concessão: **2012.10.17**
225/2012

(73) Titular(es):

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

(72) Inventor(es):

MASAKAZU IMAMURA **JP**
TAKASHI FURUTANI **JP**
NOBUAKI TANIGUCHI **JP**
MASAHIKO HAYAKAWA **JP**
KENICHI KAWAGUCHI **JP**

(74) Mandatário:

JOSÉ EDUARDO LOPES VIEIRA DE SAMPAIO
R DO SALITRE 195 RC DTO 1250-199 LISBOA **PT**

(54) Epígrafe: **DERIVADO DE N-FENIL-(2R,5S)DIMETILPIPERAZINA**

(57) Resumo:

PRETENDE-SE PROPORCIONAR UM NOVO DERIVADO DE N-FENIL-(2R,5S)DIMETILPIPERAZINA ÚTIL A TÍTULO DE FÁRMACO ANTIANDROGÉNICO QUE É MELHOR DO QUE O COMPOSTO JÁ EXISTENTE NO EFEITO DE DIMINUIR SUFICIENTEMENTE AS DIMENSÕES DA GLÂNDULA PRÓSTATA E POSSUI UMA ACTIVIDADE EXCELENTE POR VIA ORAL. ESTE COMPOSTO É ÚTIL PARA EVITAR OU PARA TRATAR O CANCRO DA PRÓSTATA, O AUMENTO DAS DIMENSÕES DA GLÂNDULA PRÓSTATA, ETC. TAMBÉM SE PRETENDE PROPORCIONAR UM NOVO INTERMEDIÁRIO QUE É ÚTIL PARA A PRODUÇÃO DO COMPOSTO ACIMA.

RESUMO

"DERIVADO DE N-FENIL-(2R, 5S)DIMETILPIPERAZINA"

Pretende-se proporcionar um novo derivado de N-fenil-(2R,5S)dimetilpiperazina útil a título de fármaco antiandrogénico que é melhor do que o composto já existente no efeito de diminuir suficientemente as dimensões da glândula próstata e possui uma actividade excelente por via oral. Este composto é útil para evitar ou para tratar o cancro da próstata, o aumento das dimensões da glândula próstata, etc. Também se pretende proporcionar um novo intermediário que é útil para a produção do composto acima.

Descrição

"DERIVADO DE N-FENIL-(2R, 5S)DIMETILPIPERAZINA"

Domínio Técnico

A invenção presente diz respeito a novos derivados de N-fenil-(2R, 5S)dimetilpiperazina e aos seus sais úteis a título de medicamentos, em especial como agentes antiandrogénicos.

Estado da Técnica

O androgénio, que é um tipo de hormona esteróide, é segregado nos testículos e no córtex supra-renal e provoca uma acção de hormona androgénica. O androgénio é absorvido por uma célula para actuar sobre um receptor de androgénio, e o receptor combinado com o androgénio forma um dímero. Em seguida, o dímero liga-se a um elemento de reacção ao androgénio num AND para acelerar a síntese de um m-ARN e para induzir proteínas que dirigem acções androgénicas, através das quais diversas acções são expressas *in vivo* (Prostate Suppl., **6**, 1996, 45-51, Trends in Endocrinology and Metabolism, 1998, **9**(8), 317-324).

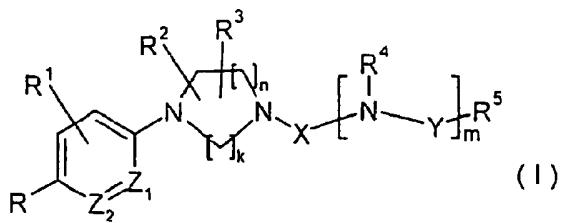
As doenças nas quais o androgénio actua como factor agravante incluem cancro da próstata, hiperplasia

benigna da próstata, virilismo, hirsutismo, alopecia, acne, seborreia, e outras semelhantes. Portanto, têm sido empregues agentes antiandrogénicos para tratar estas doenças que se podem atribuir ao androgénio.

Os agentes antiandrogénicos, que têm substratos com estrutura semelhante a esteróides ou não esteróide são habitualmente utilizados nos domínios clínicos. Embora o acetato de clormadinona e outros semelhantes sejam conhecidos como antiandrogénicos esteróides, sabe-se que, uma vez que a separação das acções destes compostos das dos outros esteróides com estruturas semelhantes não é suficiente, eles provocam alterações no teor em hormonas esteróides, e induzem efeitos colaterais importantes tais como a diminuição da libido e outros semelhantes (Jpn. J. Clin. Oncol., 1993, **23**(3), 178-185).

Por outro lado, uma vez que entre os compostos que possuem uma estrutura não esteróide, são conhecidos derivados de acilanilida tais como a flutamida (Documento de Patente 1) e a bicalutamida (Documentos de Patente 2 e 3), mas estes compostos não são suficientes na sua acção antiandrogénica. Portanto, no tratamento do cancro da próstata, uma terapia de combinação com um agonista LH-RH é em geral adoptada (Documento sem ser de Patente 1).

Os compostos da invenção presente que se incluem na gama da seguinte fórmula geral definida nas Reivindicações do Documento de Patente 4:



Podendo encontrar-se os símbolos desta fórmula, no Documento de Patente 4, têm a mesma acção farmacológica, mas os compostos da invenção presente não são descritos nem sugeridos a título de exemplos específicos no Documento acima. Os compostos descritos no Documento acima que apresentam acção mais forte apresentam problemas de actuação agonista, de perda de massa corporal, e outros semelhantes, para além do seu efeito principal. Além disto, o composto do Documento acima que não apresenta estes efeitos colaterais e tem uma actividade forte possui uma actividade pequena, por via oral. Portanto, tem sido pretendido desenvolver-se um agente farmacêutico que melhore estes aspectos.

[Documento de Patente 1] JP-A-49-813.32

[Documento de Patente 2] EP-A-0 100 172

[Documento de Patente 3] Panfleto de Publicação Internacional WO 95/19.770

[Documento de Patente 4] Panfleto de Publicação Internacional WO 00/17.163

[Documento sem ser de Patente 1] Nihon Rinsho 1998, 56(8), 2124-2128

Descrição da Invenção

Em resultado dos estudos extensivos para resolver os problemas dos compostos (descritos no Documento de Patente 4, os inventores presentes verificaram que os derivados de N-fenil-(2R,5S)dimetilpiperazina não descritos no Documento de Patente 4 têm um efeito excelente na diminuição de dimensões da glândula próstata após administração por via oral, sem perda de massa corporal. Foi deste modo conseguida a invenção presente.

Uma vez que os compostos da invenção presente não são especificamente descritos por exemplos ou de outra forma semelhante e que os compostos da invenção presente denotam farmacocinética apropriada no corpo, era inesperado que os compostos exibissem um efeito excelente na diminuição das dimensões da glândula próstata, com base nas suas actividades *in vitro*.

Um objecto da invenção presente é proporcionar um novo derivado de N-fenil-(2R,5S)dimetilpiperazina e um seu sal útil como medicamento, em especial a título de agente antiandrogénico.

A invenção presente inclui as seguintes concretizações:

1. Um composto seleccionado de entre os seguintes derivados de N-fenil-(2R,5S)dimetilpiperazina, ou um seu sal, hidrato ou solvato:

(2R,5S)-4-(3-cloro-4-cianofenil)-N-(2-ciclopropilpirimidin-5-il)-2,5-dimetilpiperazina-1-carboxamida;

(2R,5S)-4-(3-cloro-4-cianofenil)-N-(6-ciano-3-piridil)-2,5-dimetilpiperazina-1-carboxamida;

(2R,5S)-4-(4-ciano-3-metoxifenil)-2,5-dimetil-N-(6-trifluorometil-3-piridil)piperazina-1-carboxamida;

(2R,5S)-4-(3-bromo-9-cianofenil)-2,5-dimetil-N-(6-trifluorometil-3-piridil)piperazina-1-carboxamida; e

(2R,5S)-4-(4-ciano-3-trifluorometilfenil)-N-(2-ciclopropilpirimidin-5-il)-2,5-dimetilpiperazina-1-carboxamida.

2. Uma composição farmacêutica incluindo um derivado de N-fenil-(2R,5S)dimetilpiperazina de acordo com 1 acima ou um seu sal aceitável do ponto de vista farmacêutico, a título de ingrediente activo.

3. Um derivado de N-fenil-(2R,5S)dimetilpiperazina de acordo com 1 acima ou um seu sal aceitável do ponto de vista

farmacêutico, para utilização no tratamento do cancro da próstata.

Melhor Maneira de Levar a Cabo a Invenção

Quanto se segue descreve em mais pormenor a invenção presente.

Os compostos da invenção presente formam sais. Especificamente, os sais são sais de adição a ácidos com ácidos inorgânicos ou com ácidos orgânicos, ou sais com bases inorgânicas ou com bases orgânicas, e são preferidos os sais aceitáveis do ponto de vista farmacêutico. Especificamente, incluem-se nestes sais os sais de adição a ácidos minerais tais como o ácido clorídrico, o ácido bromídrico, o ácido iodídrico, o ácido sulfúrico, o ácido nítrico, e o ácido fosfórico; ou a ácidos orgânicos tais como o ácido fórmico, o ácido acético, o ácido propiónico, o ácido oxálico, o ácido malónico, o ácido succínico, o ácido fumárico, o ácido maleico, o ácido láctico, o ácido málico, o ácido tartárico, o ácido cítrico, o ácido metanossulfônico, o ácido etanossulfônico, e o ácido benzenossulfônico; ou aminoácidos ácidos tais como o ácido aspártico e o ácido glutâmico; ou a sais com bases inorgânicas tais como os de sódio, potássio, magnésio, cálcio, alumínio, e lítio; ou com bases orgânicas tais como metilamina, etilamina, e etanolamina; ou a aminoácidos básicos tais como lisina e ornitina; e outros semelhantes. Além disto, os sais podem ser sais de amónio. Os sais de

amónio podem ser especificamente aqueles com halogenetos de alquilo inferior, triflatos de alquilo inferior, tosilatos de alquilo inferior, halogenetos de benzilo, ou outros semelhantes, preferivelmente iodeto de metilo ou cloreto de benzilo.

Além disto, os compostos da invenção presente podem formar hidratos e solvatos, por exemplo com etanol. Os compostos também podem exibir polimorfismo cristalino.

Os compostos da invenção presente e os seus sais aceitáveis do ponto de vista farmacêutico são úteis a título de agentes para o tratamento de doenças nas quais o androgénio actua como factor de agravamento, tais como o cancro da próstata, a hiperplasia prostática benigna, o virilismo, o hirsutismo, a alopecia, a acne, e a seborreia, com base na sua actuação antiandrogénica excelente e nas suas actividades por via oral.

Podem isolar-se os compostos da invenção presente e purificar-se sob a forma de bases livres, dos seus sais, dos seus hidratos, dos seus solvatos, ou de formas cristalinas polimórficas. Também se podem produzir sais dos compostos da invenção presente submetendo o composto a uma reacção habitual de formação de sais.

O isolamento e a purificação podem ser levados a cabo aplicando as operações habituais tais como a extracção, a concentração, a remoção por evaporação, a

cristalização, a filtração, a recristalização, e diversos tipos de cromatografia.

Podem obter-se diversos isómeros por síntese estereo-selectiva, utilizando compostos de partida, reagentes, ou condições reaccionais apropriadas, ou separá-los uns dos outros utilizando as diferenças entre as suas propriedades físicas e químicas entre os isómeros. Por exemplo, os isómeros ópticos podem levar a isómeros estereoquimicamente puros seleccionando matérias-primas adequadas ou por resolução óptica de compostos racémicos (por exemplo, um método de transformar um composto racémico num sal diastereomérico com uma base habitual opticamente activa, seguindo-se uma resolução óptica).

Podem preparar-se as preparações farmacêuticas que contêm, a título de ingrediente(s) activo(s), um ou mais dos compostos da invenção presente ou os seus sais, utilizando um veículo, e outros aditivos utilizados em geral na formulação.

A administração pode assumir a forma de uma administração oral por intermédio de comprimidos, pílulas, cápsulas, grânulos, pós ou líquidos, ou de uma administração parenteral por intermédio de injecções tais como injecções endovenosas ou injecções intramusculares, ou a de supositórios ou de preparações subcutâneas. A sua dose pode ser determinada adequadamente, dependendo dos sintomas, da idade e do género dos pacientes aos quais são

administradas, mas é, em geral, de entre cerca de 0,01 e 50 mg/adulto/dia no caso de uma administração oral, e de entre cerca de 0,001 e 5 mg/adulto/dia no caso da administração parenteral. Isto pode ser administrado de uma só vez, ou repartido numa série de porções para administração em 2 a 4 vezes.

A título de composição sólida para administração por via oral de acordo com a invenção presente, são empregues comprimidos, pós, grânulos, etc. Nas composições sólidas destes tipos, mistura-se uma, ou mais, substância activa com pelo menos um diluente inerte, tal como lactose, manitol, glucose, hidroxipropilcelulose, celulose microcristalina, amido, polivinilpirrolidona, ácido metassilícico, ou aluminato de magnésio. De acordo com uma forma habitual, a composição pode conter aditivos para além dos diluentes inertes, por exemplo, um lubrificante tal como o estearato de magnésio, um desintegrante tal como celuloseglicolato de cálcio, um estabilizador tal como lactose, e um promotor da dissolução tal como o ácido glutâmico ou o ácido aspártico. Caso tal seja necessário, podem revestir-se os comprimidos ou as pílulas com uma película de substâncias gástricas ou entéricas tais como sacarose, gelatina, hidroxipropilcelulose, ou ftalato de hidroxipropilmetylcelulose.

A composição líquida para administração oral inclui emulsões, soluções, suspensões, xaropes, elixires aceitáveis do ponto de vista farmacêutico, e outras

semelhantes, contendo diluentes inertes convencionais tais como água pura ou metanol. Para além dos diluentes inertes, a composição pode conter mais adjuvantes farmacêuticos tais como promotores de molhabilidade e de suspensão, e também edulcorantes, sabores, aromas e conservantes.

[Exemplos]

Em seguida descreve-se a invenção presente em mais pormenor através de referências aos Exemplos.

Exemplo de Referência 2

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

Dissolvem-se em 50 mL de dicloroetano, 1,81 g de 4-[(2S,5R)-4-benzil-2,5-dimetilpiperazin-1-il]-2-metilbenzonitrilo, e depois adicionam-se-lhe 1,62 g de clorocarbonato de 1-cloroetilo, e em seguida aquece-se ao refluxo de um dia para o outro. Depois de se concentrar a solução reaccional, adiciona-se-lhe 50 ml de metanol, e em seguida aquece-se ao refluxo de um dia para o outro. Depois de se concentrar a solução reaccional, adiciona-se-lhe água, e em seguida lava-se com éter. Basifica-se a solução aquosa com uma solução aquosa 1 M de hidróxido de sódio, e em seguida extrai-se com acetato de etilo. Secou-se a fase orgânica sobre sulfato de sódio anidro, e depois remove-se

o solvente por evaporação para se obterem 1,11 g do composto em título.

RMN de ^1H (DMSO-d₆) δ : 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).

Exemplo de Referência 3-1

(2R,5S)-4-(4-Ciano-3-fluorofenil)-2,5-dimetilpiperazina-1-carboxilato de *terc*-butilo

Adicionaram-se a uma solução de 9,74 g de (2R,5S)-2,5-dimetilpiperazina-1-carboxilato de *terc*-butilo em 25 mL de DMI e 25 mL de acetonitrilo, 5 g de 2,4-difluorobenzonitrilo e 11,4 g de carbonato de césio, e em seguida agitou-se durante 2 dias a 120°C. Verteu-se a solução reaccional sobre água, e em seguida extraiu-se com acetato de etilo. Em seguida lavou-se a fase orgânica com salmoura saturada, secou-se sobre sulfato de sódio anidro. Removeu-se o solvente por evaporação e purificou-se o resíduo resultante por cromatografia em coluna sobre silicagel para se obterem 4,66 g do composto em título a partir do eluído em hexano-acetato de etilo (a 80:20, em volume).

RMN de ^1H (CDCl_3) δ : 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).

Exemplo de Referência 3-3

(2R,5S)-4-(3-Cloro-4-cianofenil)-2,5-dimetilpiperazina-1-carboxilato de *terc*-butilo

FABMS 349 $[\text{M}+\text{H}]^+$

Exemplo de Referência 4-1

4-[(2S,5R)-4-Benzil-2,5-dimetilpiperazin-1-il]-2-metoxobenzonitrilo

Dissolve-se em 20 mL de THF e 6 mL de metanol, 5,17 g de 4-[(2S,5R)-4-benzil-2,5-dimetilpiperazin-1-il]-2-fluorobenzonitrilo, e em seguida adicionam-se 9,83 g de *t*-butóxido de potássio, seguindo-se uma agitação à temperatura ambiente de um dia para o outro. Adiciona-se uma solução aquosa saturada de cloreto de amónio à solução reaccional, e em seguida extrai-se com clorofórmio. Em seguida seca-se a fase orgânica sobre sulfato de sódio anidro, removeu-se o solvente por evaporação e purificou-se o resíduo resultante por cromatografia em coluna sobre silicagel para se obterem 4,72 g do composto em título a partir de um eluído com hexano-acetato de etilo (a 80:20, em volume).

RMN de ^1H (DMSO-d₆) 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).

Exemplo de Referência 4-3

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

Sintetizou-se o composto de um modo semelhante ao do Exemplo de Referência 4-1, partindo de 4-[(2S,5R)-2,5-dimetilpiperazin-1-il]-2,6-difluorobenzonitrilo e de 1 equivalente de *terc*-butóxido de potássio.

FABMS 264 [M+H]⁺

Exemplo de Referência 6-1

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

Dissolveram-se em 150 mL de diclorometano 15,0 g de (2R,5S)-4-(4-ciano-3-fluorofenil)-2,5-dimetilpiperazina-1-carboxilato de *terc*-butilo, e depois adicionaram-se à solução 30 mL de ácido trifluoroacético, e em seguida agitou-se à temperatura ambiente de um dia para o outro.

Terminada a reacção evaporou-se a solução, adicionou-se ao resíduo ácido clorídrico 1 M, e lavou-se com clorofórmio. Tornou-se básica a fase aquosa com uma solução aquosa 5 M de hidróxido de sódio, e em seguida extraiu-se com clorofórmio. Secou-se a fase orgânica sobre sulfato de magnésio anidro, removeu-se o solvente por evaporação para se obterem 12,0 g do composto em título.

RMN de ^1H (CDCl_3) 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).

Levou-se a cabo uma investigação da pureza óptica utilizando uma coluna quiral, confirmando-se que o produto era um composto puro opticamente activo.

Período de retenção em HPLC: 17,00 min. (coluna: CHIRALCEL OD-H fabricada pela Daicel Chemical Industries, Ltd., dimensões: 0,46 cm de D.I. x 25 cm de L, fase móvel:

hexano:isopropanol:diétilamina (a 600:400:1). [% em volume], caudal: 0,5 mL/minuto, temperatura: 35°C, comprimento de onda: 254 nm)

Sintetizou-se de uma maneira análoga o Exemplo de Referência seguinte.

A este respeito, também se sintetizaram os Exemplos de Referência 6-1 e 6-2 de uma maneira semelhante

à utilizada para o Exemplo de Referência 2, e os valores das suas propriedades físicas ajustavam-se aos valores das propriedades físicas descritas neste documento.

Exemplo de Referência 6-2

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

RMN de ^1H (CDCl_3) 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).

Período de retenção em HPLC: 16,02 minutos (condições analíticas idênticas às do Exemplo de Referência 6-1).

Exemplo de Referência 9-1

2-Metilpirimidina-5-carboxilato de etilo

Suspenderam-se em 25 mL de éter, 762 mg de NaH a 60 %, e depois adicionaram-se gota a gota 20 g de formato de etilo arrefecendo sobre gelo. Em seguida, adicionaram-lhe gota a gota 12 mL de uma solução em éter de 5,0 g de 3,3-dietoxipropanoato de etilo. Passados 2 dias de agitação a esta temperatura, adicionou-se 2,50 g de cloridrato de acetamidina à mistura, e em seguida agitou-se durante 1 dia à temperatura ambiente. Em seguida, adicionaram-se à

solução reaccional 5 mL de ácido acético e água, e extraiu-se com acetato de etilo. Depois de se secar a fase orgânica sobre sulfato de sódio anidro, removeu-se o solvente por evaporação e submeteu-se o resíduo resultante a uma cromatografia em coluna sobre silicagel para se obterem 2,93 g do composto em título a partir de um eluído correspondente a acetato de etilo-hexano (a 3:7, em volume).

RMN de ^1H (DMSO- d_6) δ : 1,34 (3H, t), 2,71 (3H, s), 4,36 (2H, q), 9,12 (2H, s).

Sintetizou-se de um modo semelhante o seguinte Exemplo de Referência.

Exemplo de Referência 9-3

2-Ciclopropilpirimidina-5-carboxilato de etilo

RMN de ^1H (DMSO- d_6) δ : 1,04-1,22 (4H, m), 1,33 (3H, t), 2,25-2,36 (1H, m), 4,35 (2H, q), 9,05 (2H, s).

Exemplo de Referência 12-1

Ácido 2-metilpirimidina-5-carboxílico

Em 30 mL de etanol e 20 mL de uma solução aquosa 1 M de hidróxido de sódio, agitaram-se durante 2 horas 2,9 g de 2-metilpirimidina-5-carboxilato de etilo. Removeu-se o

solvente por evaporação e adicionaram-se quantidades adequadas de água e de éter dietílico, seguindo-se uma operação de separação de líquidos. Acidificou-se ligeiramente a fase aquosa resultante com uma solução aquosa 1 M de ácido clorídrico e depois recolheram-se os cristais resultantes por filtração, lavou-se com água, e depois secou-se para se obterem 1,9 g do composto em título.

FABMS 139 [M+H]⁺

Sintetizou-se de um modo semelhante o seguinte Exemplo de Referência.

Exemplo de Referência 12-3

Ácido 2-ciclopropilpirimidina-5-carboxílico

FABMS 165 [M+H]⁺

Exemplo de Referência 1-1

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

Dissolveram-se em 20 mL de acetonitrilo 500 mg de 4-[(2S, SR)-2,5-dimetilpiperazin-1-il]-2-fluoro-6-metoxibenzonitrilo, e depois adicionaram-se à solução 274 mg de 4-isocianatobenzonitrilo, agitando-se em seguida

durante 1 hora à temperatura ambiente. Concentrou-se a solução reaccional, e depois adicionou-se-lhe acetato de etilo e filtrou-se. Removeu-se o solvente do filtrado por evaporação e cristalizou-se o sólido resultante a partir de hexano-acetato de etilo (a 85:15, em volume) para se obterem 535 mg do composto em título.

Exemplo de Referência 3-2

(2R, 5S)-4-(4-Ciano-3-fluoro-5-metoxifenil)-N-(2-ciclopropilpirimidina-5-il)-2,5-dimetilpiperazina-1-carboxamida

Suspendeu-se em 10 mL de acetato de etilo 374 mg de ácido 2-ciclopropilpirimidina-5-carboxílico, e depois adicionaram-se à solução 345 mg de trietilamina e 690 mg de DPPA, agitando-se então durante 2 horas à temperatura ambiente. Lavou-se a solução reaccional com uma solução aquosa saturada de bicarbonato de sódio e depois com água. Secou-se a solução sobre sulfato de sódio anidro, removeu-se o solvente por evaporação. Adicionou-se-lhe tolueno e removeu-se o solvente por evaporação para se obter 2-ciclopropilpirimidina-5-carboxilazida. Dissolveu-se a azida de ácido resultante em 20 mL de tolueno e aqueceu-se a solução ao refluxo durante 30 minutos para se transformar a azida de ácido na 2-ciclopropil-5-isocianatopiridina, e em seguida arrefeceu-se a solução reaccional em gelo. Dissolvem-se em 3 ml de acetato de etilo 500 mg de 4-[(2S, 5R)-2,5-dimetilpiperazin-1-il]-2-fluoro-6-

metoxibenzonitrilo, e adicionou-se a solução resultante gota a gota à solução reaccional acima, agitando-se em seguida durante 18 horas à temperatura ambiente. Evaporou-se a solução reaccional e submeteu-se o resíduo resultante a uma cromatografia em coluna sobre silicagel, cristalizando-se o produto oleoso proveniente de um eluído de metanol-clorofórmio (a 3:97, em volume) a partir de acetato de etilo-éter dietílico, para se obterem 626 mg do composto em título.

A tabela que se segue mostra estruturas e propriedades físicas dos compostos da invenção presente sintetizados de um modo semelhante à utilizada no Exemplo de Referência acima.

A este respeito, os símbolos na tabela têm os seguintes significados.

Ex°.: Exemplo No., Me: metilo, e MS: este símbolo significa um valor obtido por FABMS $[M+H]^+$, a não ser aonde se indicar algo especificamente em contrário. pf: ponto de fusão ($^{\circ}\text{C}$), mostra-se entre parênteses o solvente de recristalização e descreve-se a temperatura a que ocorreu decomposição acompanhando o seu valor com um (dec.). HPLC: período de retenção em HPLC (coluna: CHIRALCEL OJ-H fabricada pela Daicel Chemical Industries, Ltd., dimensões: 4,6 cm \times 250 mm, fase móvel: hexano:etanol (a 8:2), caudal: 0,5 mL/minuto, temperatura: 40 $^{\circ}\text{C}$, comprimento de onda: 254 nm).

Tabela 1

Ex°.	R1	R2	Sal de Cy	Dados Físicos	Ex°.	R1	R2	Sal de Cy	P	Dados Físicos
1-1*	OMe	F		MS: 408						
					3-9	Cl	H		MS: 411	
3-12	Cl	H		MS: 395						
					3-15	OMe	H		pf: 211-212 (AcOEt)	
					3-23	Br	H		pf: 216-218 (AcOEt-hexano) HPLC: 24, 9min	
3-30	CF ₃	H		MS: 445						

* Exemplo de Referência

Além disto, listam-sena tabela que se segue os valores de RMN dos Exemplos acima.

Tabela 2

Ex.	¹ H-NMR (DMSO-d ₆) 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 lg), 4,47 (1H, s)

Ex.	¹ H-NMR (DMSO-d ₆) δ:
	1g), 7,0 (1H, dd), 7,18 (1H), 7,67 (1H, d), 8,72 (2H, s), 8,78 (1H, s)
3-	1,09 (3H, d, J=7), 1,20 (3H, d, J=6), 3,33-3,50
12	(2H, m), 3,69 (1H, d, J=13), 3,90 (1H, d, J=14), 4,31 (1H, s lg), 4,51 (1H, s lg), 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-	1,09 (3H, d), 1,20 (3H, d), 3,30-3,38 (1H, m),
23	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-	0,88-1,01 (4H, m), 1,11 (3H, d), 1,20 (3H, d),
30	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 lg)

(Métodos de teste)

Pode confirmar-se a utilidade dos compostos da invenção presente recorrendo aos seguintes métodos de teste.

**1. Acção reguladora da activação da transcrição
em relação ao receptor de androgénio humano**

**Aquisição de um transformante estável do gene
repórter MMTV e de um transformante estável do gene
repórter SV40, expressando o receptor de androgénio humano**

Semearam-se células CHO numa placa para cultura de células, com um diâmetro de 100 mm, numa quantidade de 1×10^6 células. Passadas 12 a 18 horas, adicionou-se-lhes um plasmídeo expressando um receptor de androgénio humano, plasmídeo MMTV-LTR repórter com luciferase (incluindo também um gene de resistência à neomicina) co-precipitado com fosfato de cálcio, para se levar a cabo a transfecção. Passadas 15 horas, removeu-se o meio e diluíram-se as células até diversas concentrações em células que se voltaram, respectivamente, a semear, e adicionou-se GENETICIN™ (neomicina) ao meio para assegurar uma concentração final de 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Ao fim de cerca de 1 semana, separaram-se as células seleccionadas com neomicina e introduziram-se células clonadas portadoras de um gene de receptor de androgénio humano e de um gene repórter de MMTV-luciferase que se isolaram e se obtiveram limitando a diluição (transformante estável CHO/MMTV).

De um modo semelhante ao acima, obteve-se um transformante estável do gene repórter SV40 (transformante estável CHO/SV40).

a) Avaliação da acção activadora da transcrição em relação ao receptor de androgénio humano (acção agonista)

Semearam-se células transformantes estáveis CHO/MMTV e células transformantes estáveis CHO/SV40, cada um destes tipos em placas para luminescência com 96 poços, para cultura de células, numa quantidade de 2×10^4 células/poço. Passadas 6 a 8 horas, adicionou-se cada um dos compostos da invenção presente. Passadas cerca de 18 horas a seguir à adição dos compostos, removeu-se o meio de cultura e adicionou-se-lhes 20 μ L de uma solução contendo 1 % de triton-X e 10 % de glicerina, para dissolver as células, e adicionou-se-lhes também 100 μ L de uma solução substrato de luciferase contendo luciferina 0,47 mM. Em seguida, mediu-se a intensidade da luz emitida com um luminómetro, sendo a intensidade considerada como a actividade da luciferase obtida pela activação da transcrição da MMTV-LTR devida à activação do receptor de androgénio humano e à activação não específica da transcrição do promotor SV40.

A acção activante da transcrição por parte do composto da invenção presente foi calculada consoante a equação seguinte, sob a forma de uma razão em relação à actividade de transcrição induzida por DHT 1 nM.

$$\text{Razão de indução (\%)} = 100 \cdot (X-B) / (I-B)$$

I: (actividade de luciferase MMTV) / (actividade de luciferase SV40) no caso de se adicionar DHT 1 nM

B: (actividade de luciferase MMTV) / (actividade de luciferase SV40) sem tratamento

X: (actividade de luciferase MMTV) / (actividade de luciferase SV40) no caso de se adicionar o composto da invenção presente

A razão de indução agonista do composto da invenção presente [Exemplo 3-12] foi determinada como sendo de 1 % ou menos.

b) Avaliação da acção inibidora da activação da transcrição em relação ao receptor de androgénio humano (acção antagonista)

Inoculararam-se células transformantes estáveis CHO/MMTV e células transformantes estáveis CHO/SV40, cada um destes tipos em placas para luminescência com 96 poços para cultura de células, numa quantidade de 2×10^4 células. Passadas 6 a 8 horas, adicionaram-se aos poços os compostos da invenção presente em conjunto com DHT (a uma concentração final de 0,3 nM). Passadas cerca de 18 horas depois da adição do composto, adicionaram-se 20 μ L de uma solução contendo 1 % de triton-X e 10 % de glicerina para dissolver as células, e 100 μ L de uma solução de substrato de luciferase contendo luciferina 0,47 mM. Em seguida, mediu-se a intensidade da luz emitida com um luminómetro,

sendo a intensidade considerada como a actividade da luciferase obtida pela activação da transcrição da MMTV-LTR devida à activação do receptor de androgénio humano e à activação não específica da transcrição do promotor SV40.

Calculou-se a acção inibidora da activação da transcrição por parte do composto da invenção presente de acordo com a equação seguinte, como uma razão em relação à actividade de transcrição induzida por DHT 0,3 nM.

$$\text{Razão de inibição (\%)} = 100(I' - X') / (I' - B)$$

I' : (actividade de luciferase MMTV) / (actividade de luciferase SV40) no caso de apenas se adicionar DHT 0,3 nM

B : (actividade de luciferase MMTV) / (actividade de luciferase SV40) no caso de não se tratar

X' : (actividade de luciferase MMTV) / (actividade de luciferase SV40) no caso de se adicionar o composto da invenção presente em conjunto com DHT 0,3 nM

Determinou-se o IC_{50} a partir da concentração do composto da invenção presente à qual a taxa de inibição calculada pelo método acima atingia 50 %.

2. Avaliação da actividade de ligação em relação ao receptor de androgénio do rato.

(1) Preparação da fracção de citoplasma da próstata de rato

Retirou-se uma próstata ventral de um rato Wistar macho com 20-60 semanas de idade, 1 dia depois da remoção dos testículos. Depois de se homogeneizar e de em seguida se centrifugar a 800×g durante 20 minutos, centrifugou-se o sobrenadante a 223.000×g durante 60 minutos e recuperou-se o sobrenadante resultante para se obter uma fracção de citoplasma.

(2) Medição da ligação específica da ^3H -mibolerona ao receptor androgénico do citoplasma da próstata de rato

Utilizou-se uma solução na qual a fracção de citoplasma obtida em (1) foi ajustada a 2 mg/mL, em termos de uma concentração proteica que se utilizou como solução de receptor de androgénio de rato. Adicionaram-se a 400 μL desta solução de receptor de androgénio ^3H -mibolerona, acetato de triamcinolona, e sulfóxido de dimetilo (DMSO), de modo a que as concentrações finais fossem respectivamente de 1 nM, 1 μM , e 4 %, conseguindo-se um volume final de 500 μL . Passadas 18 horas de repouso a 4°C, adicionou-se-lhe 500 μL de uma solução contendo 0,05 % de dextrana-T70 e 0,5 % de Durco G-60 (Carvão activado) e misturou-se o conjunto. Passados 15 minutos de repouso a 4°C, levou-se a cabo uma centrifugação para recuperar o

sobrenadante. Depois de se adicionar 5 mL de Biofluor e se misturar com 600 μ L do sobrenadante recuperado, determinou-se a radioactividade para se quantificar a ligação total de 3 H-mibolerona ao receptor de androgénio de rato. Determinou-se a quantidade de ligação não específica adicionando uma solução em DMSO contendo mibolerona não marcada em vez da solução em DMSO acima, de modo a assegurar uma concentração final em mibolerona não marcada de 40 μ M, e levaram-se a cabo operações semelhantes às de acima. Considerou-se a diferença entre a quantidade ligada total e a quantidade ligada não específica como sendo a quantidade especificamente ligada ao receptor de androgénio.

(3) Actividade inibidora do composto da invenção presente contra a ligação específica à 3 H-mibolerona

Determinou-se uma quantidade de ligação específica da 3 H-mibolerona ao receptor de androgénio de rato no caso em que o composto da invenção presente estava presente, adicionando uma solução em DMSO contendo o composto da invenção presente numa concentração diferente em conjunto com 3 H-mibolerona, e fazendo a reacção de um modo semelhante ao descrito em (2). A partir deste valor e do valor determinado em (2), determinou-se o valor de IC_{50} da actividade inibidora do composto da invenção presente contra a ligação específica a 3 H-mibolerona. Além disto, determinou-se o valor da constante de dissociação K_i a partir de IC_{50} de acordo com a equação de Cheng e Prusoff*.

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

3. Diminuição da glândula próstata no rato macho maduro

Administrou-se a um rato macho Wistar com 9-10 semanas de idade o composto da invenção presente suspenso numa a solução de metilcelulose 0,5 %, uma vez ao dia, durante 15 dias seguidos. Passadas 6 horas da última final administração, mediu-se o peso húmido da sua próstata ventral e investigou-se uma diminuição da glândula próstata por acção do composto da invenção presente.

Calculou-se a diminuição da glândula próstata pelo composto da invenção presente utilizando-se a fórmula seguinte, comparando um grupo ao qual o composto da invenção presente havia sido administrado em teste, com um grupo ao qual apenas se havia administrado metilcelulose, a título de grupo de controlo.

$$\text{Taxa de diminuição (\%)} = 100 (B-A) / B$$

A: Peso em húmido da próstata ventral no grupo em teste

B: Peso em húmido da próstata ventral no grupo de controlo

A partir da taxa de diminuição determinada acima, calculou-se um valor de ED₅₀ pelo método da regressão linear.

Para os compostos da invenção presente, a tabela que se3 segue mostra resultados da diminuição da glândula próstata em resultado de uma actividade *in vitro* descrita em 1. b) e em resultado de uma actividade *in vivo* descrita em 3.

Tabela 3

Exemplo	Acção inibidora da activação da transcrição (IC ₅₀ nM)	Diminuição da glândula próstata (ED ₅₀ mg/kg)
3-9	78	4,5
3-12	40	1,7
3-15	130	4,1
3-23	53	1,1
3-30	68	3,9
Composto de controlo 1	80	11,3
Composto de controlo 2	63	9,9

Composto de controlo 1: Exemplo 18-4 descrito no Documento de Patente 4
Composto de controlo 2: Exemplo 18-7 descrito no Documento de Patente 4

A título de compostos de controlo, seleccionaram-se os dois compostos acima clinicamente aplicáveis, que tinham estruturas semelhantes, uma actividade clínica suficiente, e que também não tinham qualquer acção problemática observada, tal como diminuição da massa corporal.

Isto é porque os compostos que apresentam a actividade de ligação mais forte no Documento de Patente 4, isto é, os dos Exemplos 13-1 e 21, exibem um forte efeito de diminuição da próstata, mas o seu desenvolvimento a título de agentes antiandrogénicos é problemático em razão de problemas tais como uma acção de diminuição da massa corporal, e uma acção agonista, e portanto eles são inadequados como compostos de controlo.

A partir destes resultados de teste, confirmou-se que, atenta a acção antiandrogénica do composto da invenção presente, a actividade *in vitro* do composto acima é de entre 1/2 e cerca de 2 vezes aquela, mas a sua actividade *in vivo* é inesperadamente forte, isto é, de entre 2 e 10 vezes, em comparação com a dos compostos de controlo. Este facto mostra que os compostos da invenção presente são compostos com uma actividade oral excelente.

Além disto, uma vez que os compostos têm uma actividade oral excelente, eles exibem o seu efeito a uma dose menor quando comparados com compostos convencionais, podendo portanto ser formulados como preparações de pequena dimensão e portanto podendo melhorar o seguimento do regime prescrito para o medicamento, por parte dos pacientes.

Além disto, os compostos da invenção presente são excelentes na sua solubilidade em água e portanto não é

preciso adicionar na sua formulação agentes para a solubilização.

Além disto, estes compostos não exibem nem uma acção de perda de massa corporal, nem uma acção agonista, e portanto o seu maior efeito é suficientemente forte.

Portanto, os compostos da invenção presente são úteis como agentes para tratamento de doenças nas quais o androgénio actua como factor agravante, tais como o cancro da próstata, a hiperplasia prostática benigna, o virilismo, o hirsutismo, a alopecia, a acne, e a seborreia.

Aplicabilidade Industrial

Os compostos da invenção presente são agentes antiandrogénicos fortes exibindo todos uma pequena influência nas hormonas sexuais no sangue, sem perda de massa corporal nem actividade agonista. Além disto, os compostos são excelentes nas suas actividades por via oral, em comparação com os compostos convencionais.

Portanto, os compostos da invenção presente são úteis como agentes para tratar e para evitar doenças tais como o cancro da próstata, a hiperplasia prostática benigna, o virilismo, o hirsutismo, a alopecia, a acne, e a seborreia.

REIVINDICAÇÕES

1. Um composto seleccionado de entre os seguintes derivados de N-fenil-(2R,5S)dimetilpiperazina, ou um seu sal, hidrato ou solvato:

(2R,5S)-4-(3-cloro-4-cianofenil)-N-(2-ciclopropilpirimidin-5-il)-2,5-dimetilpiperazina-1-carboxamida;

(2R,5S)-4-(3-cloro-4-cianofenil)-N-(6-ciano-3-piridil)-2,5-dimetilpiperazina-1-carboxamida;

(2R,5S)-4-(4-ciano-3-metoxifenil)-2,5-dimetil-N-(6-trifluorometil-3-piridil)piperazina-1-carboxamida;

(2R,5S)-4-(3-bromo-9-cianofenil)-2,5-dimetil-N-(6-trifluorometil-3-piridil)piperazina-1-carboxamida; e

(2R,5S)-4-(4-ciano-3-trifluorometilfenil)-N-(2-ciclopropilpirimidin-5-il)-2,5-dimetilpiperazina-1-carboxamida.

2. Uma composição farmacêutica contendo um derivado de N-fenil-(2R,5S)dimetilpiperazina consoante a Reivindicação 1 ou um seu sal, hidrato ou solvato aceitável do ponto de vista farmacêutico a título de ingrediente activo.

3. Um derivado de N-fenil-(2R,5S)dimetilpiperazina consoante a Reivindicação 1 ou um seu sal ou hidrato ou solvato aceitável do ponto de vista farmacêutico, para utilização no tratamento do cancro da próstata.

Lisboa, 8 de Novembro de 2012.