



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 360 567**

51 Int. Cl.:

A61K 31/56 (2006.01)

A61K 31/565 (2006.01)

A61K 31/567 (2006.01)

C07J 1/00 (2006.01)

C07J 41/00 (2006.01)

C07J 31/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **08003806 .0**

96 Fecha de presentación : **28.09.2000**

97 Número de publicación de la solicitud: **1955700**

97 Fecha de publicación de la solicitud: **13.08.2008**

54

Título: **Tratamiento terapéutico de afecciones regidas por el receptor de andrógenos.**

30

Prioridad: **30.09.1999 US 157275 P**
30.09.1999 US 157347 P
16.11.1999 US 166116 P

45

Fecha de publicación de la mención BOPI:
07.06.2011

45

Fecha de la publicación del folleto de la patente:
07.06.2011

73

Titular/es: **HARBOR BIOSCIENCES, Inc.**
9171 Towne Centre Drive, Suite 180
San Diego, California 92122, US

72

Inventor/es: **Frincke James M.**

74

Agente: **Elzaburu Márquez, Alberto**

ES 2 360 567 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

Tratamiento terapéutico de afecciones regidas por el receptor de andrógenos.

Antecedentes de la invención

5 La invención proporciona métodos y composiciones que comprenden esteroides o análogos, tales como análogos de androst-5-en-3 β ,17 β -diol ("AED") o 1,3,5(10)-estatrien-17 α -etiril-3 β ,17 β -diol ("EED") para su uso como agentes para modular la actividad biológica del receptor de andrógenos ("AR") o para tratar trastornos que responden a andrógenos o trastornos relacionados, tales como cáncer de próstata e hipertrofia prostática benigna ("BPH").

10 El cáncer de próstata representa la malignidad no cutánea diagnosticada con más frecuencia en hombres mayores y es la segunda causa principal de muerte relacionada con el cáncer en hombres estadounidenses. La ablación de los andrógenos ha sido la piedra angular del tratamiento para las formas avanzadas de esta enfermedad, generalmente mediante una combinación de terapias antiandrógenos quirúrgicas o médicas. Los antiandrógenos que se emplean habitualmente incluyen hidroxiflutamida (HF), acetato de ciproterona y bicalutamida (casodex). Los tratamientos de ablación de andrógenos se emplean para reducir el nivel de andrógenos endógenos. Sin embargo, la mayoría de los casos de cáncer de próstata dependientes de andrógenos parecen avanzar hasta malignidades independientes de andrógenos. Limitando la disponibilidad de andrógenos a los cánceres de próstata regionales o metastásicos normalmente induce la remisión, pero después de un tiempo el cáncer a menudo se hace refractario a los tratamientos de ablación de andrógenos. Se ha sugerido que los cambios genéticos del gen AR pueden contribuir a una respuesta corta a una terapia antiandrógenos. Sin embargo, el mecanismo responsable de la conversión de las células del cáncer de próstata a una condición independiente de andrógenos no están totalmente caracterizados.

20 La BPH es una enfermedad que afecta aproximadamente al 60% de los hombres mayores de aproximadamente 60 años. Una acumulación elevada de hormonas masculinas, tales como dihidrotestosterona ("DHT") en el tejido de la próstata puede contribuir al agrandamiento de la próstata. La acumulación de DHT parece ser el resultado de unos niveles del receptor de DHT intracelulares elevados. El aumento está asociado con un aumento en los niveles de estógeno con relación a los niveles de andrógenos, que disminuyen con la edad. Los síntomas urológicos consisten de un flujo débil de orina, un comienzo retrasado de la micción, y repetidas infecciones de la vejiga y los riñones. El tratamiento de la BPH incluye cirugía para eliminar la obstrucción, pero esto no siempre es eficaz o tiene efectos secundarios no deseados, por ejemplo incontinencia o menor líbido. Otros tratamientos, tales como la ablación de andrógenos mediante orquiectomía bilateral o quimioterapia de ablación de andrógenos, son demasiado invasivos o tienen efectos secundarios no deseados. Existen métodos menos invasivos, por ejemplo dilatación con balones, tratamiento con hipertermia o microondas, pero tienen una eficacia limitada.

30 La quimioterapia para trastornos, tales como el cáncer de próstata y la BPH, o sus síntomas, incluyen administrar inhibidores de la síntesis de andrógenos, tales como inhibidores de la 5 α -reductasa, para inhibir la producción de hormonas sexuales, tales como la testosterona o la dihidrotestosterona, o administrar naftopiridilo para la disuria. El tratamiento con inhibidores de la 5 α -reductasa se ha combinado con otros tratamientos, tales como antiestrógenos, inhibidores de la aromatasas (estrógeno sintetasa), inhibidores de la 17 β -hidroxiesteroide deshidrogenasa o agonistas o antagonistas de la hormona liberadora de hormona luteinizante. Otros tratamientos propuestos incluyen administrar inhibidores de la aromatasas, tales como 4-hidroxiandrosteno-3,17-diona. La quimioterapia generalmente presenta inconvenientes. Puede tener efectos secundarios no deseados, en particular en pacientes ancianos, o puede resultar ineficaz con el tiempo. Se han descrito diversos tratamientos y sus limitaciones; véanse, por ejemplo, las patentes de EEUU 4.059.630, 4.310.523, 4.659.695, 4.970.204, 5.137.882, 5.372.998, 5.494.914, 5.561.124, 5.593.981, 5.994.334, 5.994.335, 5.998.377, 6.015.808, 6.093.722, 6.110.906 y la publicación europea EP 0.401.653.

45 Se han descrito las propiedades biológicas del AED y de compuestos esteroides relacionados; véanse, por ejemplo, las patentes de EEUU nº 2.833.793, 2.911.418, 3.148.198, 3.471.480, 3.710.795, 3.711.606, 3.976.691, 4.268.441, 4.427.649, 4.542.129, 4.666.898, 4.898.894, 4.956.355, 4.978.532, 5.001.119, 5.043.165, 5.077.284, 5.028.631, 5.110.810, 5.157.031, 5.162.198, 5.175.154, 5.206.008, 5.277.907, 5.292.730, 5.296.481, 5.372.996, 5.387.583, 5.407.684, 5.424.463, 5.461.042, 5.478.566, 5.506.223, 5.518.725, 5.527.788, 5.527.789, 5.532.230, 5.559.107, 5.562.910, 5.583.126, 5.585.371, 5.587.369, 5.591.736, 5.593.981, 5.610.150, 5.635.498, 5.641.766, 5.841.768, 5.656.621, 5.660.835, 5.677.366, 5.686.438, 5.596.106, 5.700.793, 5.707.983, 5.709.878, 5.710.143, 5.714.181, 5.728.688, 5.736.537, 5.744.462, 5.753.237, 5.756.482, 5.776.921, 5.776.923, 5.780.460, 5.795.880, 5.798.347, 5.798.348, 5.804.578, 5.807.848, 5.807.849, 5.811.418, 5.824.313, 5.824.668, 5.824.671, 5.827.841, 5.837.269, 5.837.700, 5.843.932, 5.846.963, 5.856.340, 5.859.000, 5.869.090, 5.863.910, 5.872.114, 5.872.147 y 5.910.407; las patentes alemanas nº 2.035.738 y 2.705.917; las publicaciones PCT nº WO 95/21617, WO 97/48367, WO 98/05338, WO 98/50040, WO 98/50041, WO 98/58650; y la publicación europea nº 0020029.

55 Se han descrito receptores de andrógenos y coactivadores, tales como ARA₇₀, ARA₂₄, ARA₅₄, ARA₅₅, y Rb, y métodos para utilizarlos, por ejemplo en las patentes de EEUU 5.789.170, 5.614.620; y en la publicación internacional nº WO 00/04152.

Los métodos y composiciones de la invención logran uno o más de varios objetos. Los objetos de la invención incluyen proporcionar métodos y composiciones para inhibir la proliferación de células de cáncer de próstata en un sujeto. Otros objetos son proporcionar métodos para fabricar y utilizar composiciones y formulaciones que comprenden análogos de EED u otros compuestos descritos en la presente. Otros objetos serán evidentes a partir de la descripción.

5

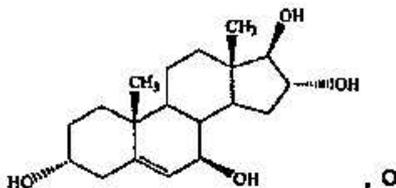
Sumario de la invención

Según el objeto, la invención proporciona el uso como un medicamento de un compuesto, en el que:

(a) el compuesto es 17 α -etinilandro-5-en-3 β ,7 β ,17 β -triol (compuesto 1.2.1.3), que tiene la estructura

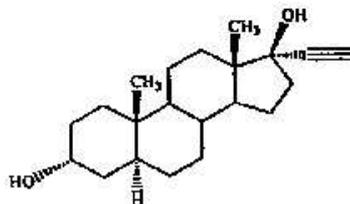


(b) el compuesto es andro-5-en-3 α ,7 β ,16 α ,17 β -tetrol (compuesto 2.2.6.1), que tiene la estructura



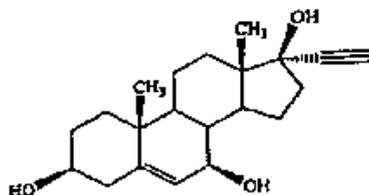
10

(c) el compuesto es 17 α -etinilandrostan-3 α ,17 β -diol (compuesto 2.1.1.3), que tiene la estructura



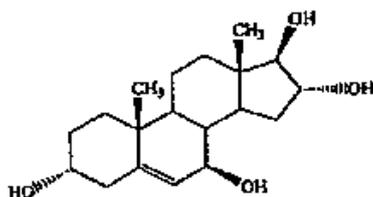
La invención proporciona además el uso de un compuesto para la preparación de un medicamento para el tratamiento de la hiperplasia prostática benigna, el cáncer de próstata o el cáncer de mama, en el que:

(a) el compuesto tiene la estructura



(compuesto 1.2.1.3),

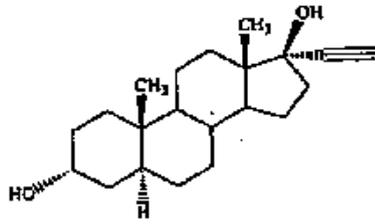
(b) el compuesto tiene la estructura



(compuesto 2.2.6.1), o

15

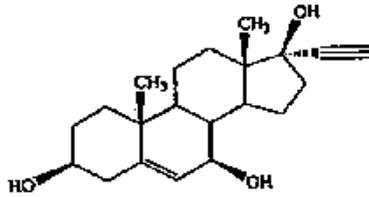
(c) el compuesto tiene la estructura



(compuesto 2.1.1.3).

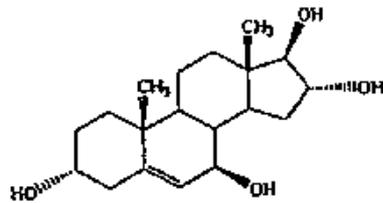
La invención proporciona además un compuesto que tiene la estructura

(a)



(compuesto 1.2.1.3), o

(b)

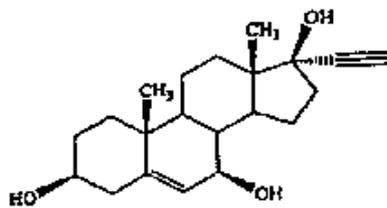


(compuesto 2.2.6.1).

5 El compuesto de la invención puede ser un polvo o gránulos.

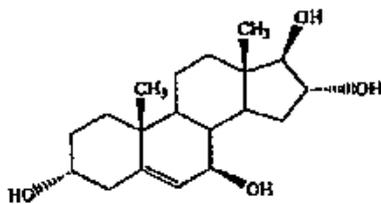
La invención proporciona además una formulación que comprende uno o más excipientes, y un compuesto, en el que el compuesto tiene la estructura

(a)



(compuesto 1.2.1.3),

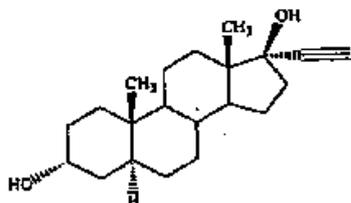
(b)



(compuesto 2.2.6.1), o

10

(c)



(compuesto 2.1.1.3).

Descripción detallada de la invención

Tal como se emplea en la presente y a menos que se indique lo contrario o que se insinúe por el contexto, los siguientes términos tienen los significados definidos en la presente.

5 **Estereoisómeros:** los compuestos según la invención incluyen isómeros ópticos enriquecidos o resueltos en cualquiera o en todos los átomos asimétricos, como resulta evidente a partir de los dibujos. Tanto las mezclas racémicas como las mezclas diastereoméricas, así como los isómeros ópticos individuales, pueden aislarse o sintetizarse de forma que estén sustancialmente exentos de sus compañeros enantioméricos o diastereoméricos.

10 Se emplea uno o más de los siguientes métodos para preparar los isómeros puros o enantioméricamente enriquecidos de la presente. Los métodos se listan aproximadamente en su orden de preferencia, es decir, normalmente se empleará la síntesis estereoespecífica a partir de precursores quirales antes que la resolución cromatográfica o antes que la cristalización espontánea.

15 La síntesis estereoespecífica se emplea de modo conveniente cuando el material de partida quiral apropiado esté disponible, y las etapas de la reacción se eligen para que no se produzca una racemización no deseada en los sitios quirales. Una ventaja de la síntesis estereoespecífica es que no produce enantiómeros no deseados que deban retirarse del producto final, disminuyendo con ello el rendimiento sintético global. En general, los expertos en la técnica sabrán qué materiales de partida y condiciones de reacción deben utilizarse para obtener los isómeros puros o enantioméricamente enriquecidos deseados mediante síntesis estereoespecífica.

20 Otro método de síntesis de utilidad general es la resolución cromatográfica de los enantiómeros sobre resinas de cromatografía quiral. Estas resinas se cargan en columnas, denominadas habitualmente columnas de Pirkle, y están disponibles en el mercado. Las columnas contienen una fase estacionaria quiral. El racemato se coloca en disolución y se carga en la columna, y después se separa mediante HPLC. Véase, por ejemplo, Proceedings Chromatographic Society, International Symposium on Chiral Separations, 3-4 de septiembre, 1987. Los ejemplos de columnas quirales que pueden utilizarse para la selección de la técnica de separación óptima incluyen Diacel
25 Chriacel OD, Regis Pirkle D-fenilglicina covalente, Regis Pirkle de tipo 1A, Astec Cyclobond II, Astec Cyclobond III, Serva Chiral D-DL = Daltosil 100, Bakerbond DNGLeu, Sumipax OA-1000, columna de triacetato de celulosa de Merck, Astec Cyclobond I-Beta, o Regis Pirkle D-naftilalanina covalente. Es probable que no todas estas columnas sean eficaces con todas las mezclas racémicas. Sin embargo, los expertos en la técnica comprenderán que puede ser necesaria una cierta cantidad de separación habitual para identificar la fase estacionaria más eficaz. Cuando se
30 emplean estas columnas resulta deseable utilizar realizaciones de los compuestos de la invención en las que las cargas no estén neutralizadas, por ejemplo cuando las funcionalidades ácidas, tales como carboxilo, no estén esterificadas ni amidadas.

35 Otro método supone convertir los enantiómeros en la mezcla en diastereómeros con auxiliares quirales, y después separar los conjugados mediante una cromatografía en columna normal. Este es un método muy adecuado, en particular cuando la realización contiene carboxilo, amino o hidroxilo libres que formarán una sal o un enlace covalente con un auxiliar quiral. Merece la pena explorar a los aminoácidos, ácidos orgánicos o ácidos organosulfónicos quiralmente puros como auxiliares quirales, todos los cuales son conocidos en la técnica. Pueden formarse sales con estos auxiliares, o pueden unirse de modo covalente (pero reversible) al grupo funcional. Por ejemplo, pueden utilizarse D- o L-aminoácidos puros para amidar el grupo carboxilo de las realizaciones de la
40 invención que comprendan un grupo carboxilo y después separarse mediante cromatografía.

45 La resolución enzimática es otro método de valor potencial. En estos métodos se preparan derivados covalentes de los enantiómeros en la mezcla racémica, en general ésteres de alquilo inferior (por ejemplo de carboxilo), y después se expone el derivado a una ruptura enzimática, en general una hidrólisis. Para que este método sea un éxito, debe escogerse una enzima que sea capaz de una ruptura estereoespecífica, por lo que con frecuencia resulta necesario seleccionar rutinariamente varias enzimas. Si se van a romper ésteres, entonces se seleccionará un grupo de esterasas, fosfatasas y lipasas, y se determinará su actividad sobre el derivado. Las esterasas típicas son las que proceden del hígado, páncreas u otros órganos animales, e incluyen esterasas de hígado porcino.

Si la mezcla enantiomérica se separa de la disolución o de un fundido en forma de un conglomerado, es decir, una mezcla de cristales enantioméricamente puros, entonces los cristales pueden separarse de modo mecánico,

produciendo con ello la preparación enantioméricamente enriquecida. Sin embargo, este método no resulta práctico para preparaciones a gran escala y tienen un valor limitado para compuestos racémicos verdaderos.

La síntesis asimétrica es otra técnica para lograr un enriquecimiento enantiomérico. Por ejemplo, un grupo protector quiral se hace reaccionar con el grupo que se va a proteger y se deja que la mezcla de reacción se equilibre. Si la reacción es enantioméricamente específica, entonces el producto estará enriquecido en ese enantiómero.

Otra orientación para la separación de mezclas enantioméricas puede encontrarse, como ejemplo y sin limitación, en "Enantiomers, Racemates, and resolutions", Jean Jacques, Andre Collet, y Samuel H. Wilen (Krieger Publishing Company, Malabar, FL, 1991, ISBN 0-89464-618-4), parte 2, Resolution of Enantiomer Mixture, páginas 217-435; más en concreto, sección 4, Resolution by Direct Crystallization, páginas 217-251, sección 5, Formation and Separation of Diastereomers, páginas 251-369, sección 6, Crystallization-induced Asymmetric Transformations, páginas 369-378, y sección 7, Experimental Aspects and Art of Resolutions, páginas 378-435; aún más en concreto, sección 5.1.4, Resolution of Alcohols, Transformation of Alcohols into Salt-Forming Derivatives, páginas 263-266, sección 5.2.3, Covalent Derivatives of Alcohols, Thiols, and Phenols, páginas 332-335, sección 5.1.1, Resolution of Acids, páginas 257-259, sección 5.1.2, Resolution of Bases, páginas 259-260, sección 5.1.3, Resolution of Amino Acids, páginas 261-263, sección 5.2.1, Covalent Derivatives of Acids, página 329, sección 5.2.2, Covalent derivatives of Amines, páginas 330-331, sección 5.2.4, Covalente Derivatives of Aldehydes, Ketones, and Sulfoxides, páginas 335-339, y sección 5.2.7, Chromatographic Behaviour of Covalent Diastereomers, páginas 348-354.

Los compuestos según la invención son útiles para tratar trastornos que estén asociados o que respondan a la modulación de la actividad AR, incluyendo cáncer de próstata, acné, alopecia androgénica, hirsutismo, hipogonadismo y cáncer de mama. Estos compuestos pueden utilizarse opcionalmente en terapias de combinación para tratar cualquiera de estas enfermedades o trastornos. Las combinaciones incluyen un compuesto o compuestos según la invención combinados con cirugía, terapia de radiación, agentes citotóxicos, agentes citostáticos o terapias con hormonas, incluyendo cualquiera de las terapias o tratamientos descritos en la presente o en cualquiera de las referencias citadas en la presente.

Los compuestos según la invención también son útiles para determinar si el AR u otro receptor de esteroides, por ejemplo un receptor huérfano, están presentes en una población celular o en un extracto celular. En estas aplicaciones, los compuestos generalmente estarán marcados, por ejemplo con radiomarcadores (^{14}C , ^3H , ^{32}P , ^{35}S o un isótopo de yodo radiactivo) o estarán marcados con un resto reticulante. En aplicaciones relacionadas, los compuestos son útiles como patrones de referencia para comparar su capacidad para modular la actividad AR con la capacidad de moduladores de AR conocidos, tales como AED. En estas aplicaciones, se emplea un compuesto según la invención en un sistema de ensayo adecuado, por ejemplo que comprenda células (*in vitro* o *in vivo*) que contengan AR funcionales, un gen que responda a AR, por ejemplo ornitina carboxilasa, que pueda ensayarse de modo conveniente, un compuesto según la invención y un compuesto de ensayo. En estos métodos, se estudia el efecto del compuesto según la invención sobre la capacidad del compuesto de ensayo para modular el AR, normalmente utilizando un sistema controlado de modo adecuado, por ejemplo con concentraciones variables del compuesto según la invención o con concentraciones variables del compuesto de ensayo. Se han descrito sistemas de ensayo o sus componentes que comprenden AR; véanse, por ejemplo, las patentes de EEUU 4.981.784 y 5.071.773, Evans et al., Science, 240:889-895, 1988, T. Berger et al., J. Steroid Biochem. Molec. Biol., 41:773-778, 1992, J. Simenthal et al., J. Biol. Chem., 266:510-514, 1991, G. Scalabrino et al., Mol. Cell. Endocrinol., 77:1-35, 1991, O. Janne et al., Ann. N.Y. Acad. Sci., 438:72-84, 1984, y R. Djurhuus, Anal. Biochem., 113:352-355, 1981.

Una dosis eficaz de un compuesto según la invención o de "ingrediente activo" para su uso en aplicaciones terapéuticas, por ejemplo el tratamiento del cáncer de próstata, dependerá hasta cierto punto al menos de factores tales como el estado del trastorno que se está tratando, si el compuesto o compuestos se están utilizando de modo profiláctico (dosis menores) o la gravedad de la malignidad, el método de administración, y la formulación farmacéutica. Estos factores serán determinados por el médico empleando estudios de escalada de dosis convencionales. Generalmente, la dosis administrada al sujeto será de aproximadamente 0,03 a aproximadamente 30 mg/kg de peso corporal diarios, en general de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 10 mg/kg de peso corporal diarios. Por ejemplo, para la administración tópica, la dosis candidata diaria para un adulto humano de aproximadamente 70 kg de peso corporal variará de aproximadamente 1 mg a aproximadamente 750 mg, en general de aproximadamente 5 mg a aproximadamente 300 mg, normalmente entre aproximadamente 30 mg y aproximadamente 250 mg. Una dosis diaria puede tomar la forma de una dosis o sitio de administración único o múltiple. Para un compuesto de fórmula 1 ó 2 que se administra por vía parenteral, por ejemplo intravenosa, subcutánea o intramuscular, la dosis será en general menor (por ejemplo, de aproximadamente 0,02 a aproximadamente 6 mg/kg) que la dosis administrada por vía oral.

Las formulaciones farmacéuticas que comprenden un compuesto según la invención comprenderán generalmente uno o más vehículos o excipientes, y opcionalmente otros ingredientes terapéuticos. El vehículo o vehículos serán en general "aceptables" en el sentido de ser compatibles con los otros ingredientes de la formulación, y fisiológicamente inocuos para el receptor. Estos vehículos o excipientes son conocidos, por ejemplo, cargas, lubricantes, ligantes y diversos excipientes líquidos para formulaciones líquidas. Los vehículos adecuados incluyen los descritos en las referencias citadas en la presente.

- 5 Las formulaciones adecuadas incluyen disoluciones acuosas u oleosas del ingrediente activo. Las formulaciones adecuadas para la administración parenteral del ingrediente activo incluyen composiciones acuosas y no acuosas, en las que el ingrediente activo se disuelve o se suspende en disolución. Estas formulaciones comprenden generalmente aproximadamente 25-300 mg/ml del ingrediente activo, habitualmente aproximadamente 40-200 mg/ml. Las formulaciones adecuadas para la administración parenteral incluyen disoluciones para inyección estériles acuosas y no acuosas que pueden contener antioxidantes, tampones, bacteriostatos o solutos que hacen que la formulación sea isotónica con la sangre del receptor previsto. Otras formulaciones parenterales pueden comprender suspensiones estériles acuosas y no acuosas que pueden incluir agentes suspensores y agentes espesantes.
- 10 Las formulaciones adecuadas para la administración tópica incluyen cremas o ungüentos en los que el compuesto de fórmula 1 ó 2 se disuelve o se suspende en un vehículo adecuado, en especial un disolvente o vehículo no acuoso para el ingrediente activo. El ingrediente activo está presente generalmente en dichas formulaciones a una concentración del 0,5% al 20% en p/p, a menudo del 0,5% al 10% en p/p. Estas formulaciones son adecuadas para su uso en aplicaciones tales como el tratamiento de la alopecia androgénica o el acné.
- 15 Las formulaciones adecuadas para la administración bucal o sublingual incluyen pastillas para chupar que comprenden el ingrediente activo, que está presente opcionalmente en una base aromatizada, tal como sacarosa y goma arábiga o tragacanto. Las pastillas pueden comprender el ingrediente activo en una base inerte, tal como gelatina y glicerina, o sacarosa y goma arábiga, y los colutorios pueden comprender el ingrediente activo en un vehículo líquido adecuado.
- 20 Las formulaciones para la administración rectal pueden presentarse como un supositorio con una base adecuada que comprende, por ejemplo, mantequilla de cacao o un salicilato.
- 25 Las formulaciones adecuadas para la administración intrapulmonar o nasal tendrán un tamaño de partícula, por ejemplo en el intervalo de 0,01 a 200 micrómetros (incluyendo unos tamaños de partícula en el intervalo entre 0,01 y 500 micrómetros en incrementos de 0,1 micrómetros, tales como 0,1, 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, 1, 2, 5, 30 micrómetros, 35 micrómetros, etc.), que se administran mediante inhalación a través del conducto nasal o mediante inhalación a través de la boca para alcanzar los diversos bronquios o sacos alveolares. Las formulaciones adecuadas para la administración mediante aerosol o polvo seco pueden prepararse según métodos convencionales y pueden administrarse con otros agentes terapéuticos, tales como los compuestos utilizados hasta la fecha para el tratamiento o la profilaxis del cáncer de próstata.
- 30 Las formulaciones adecuadas para la administración vaginal pueden presentarse como pesarios, tampones, cremas, geles, pastas, espumas o formulaciones para pulverizar que contengan, además del ingrediente activo, vehículos tales como los conocidos en la técnica por ser apropiados.
- 35 Las formulaciones que comprenden un ingrediente activo se presentan en recipientes de dosis unitarias o de dosis múltiples, por ejemplo ampollas y viales sellados, y pueden conservarse en forma liofilizada que sólo requiere la adición de un vehículo líquido estéril, por ejemplo agua para inyección, inmediatamente antes del uso. Las disoluciones y suspensiones para inyección improvisadas se preparan a partir de polvos estériles, gránulos y comprimidos del tipo previamente descrito. Las formulaciones de dosificación unitaria preferidas son las que contienen una dosis diaria o una subdosis diaria de la unidad, según se describió en la presente, o una fracción apropiada de éstas, del ingrediente activo.
- 40 Debe entenderse que, además de los ingredientes mencionados en concreto anteriormente, las formulaciones de esta invención pueden incluir otros agentes convencionales en la técnica relacionados con el tipo de formulación en cuestión, por ejemplo los adecuados para la administración oral pueden incluir agentes aromatizantes o colorantes.
- La invención proporciona además composiciones veterinarias que comprenden al menos un ingrediente activo junto con un vehículo veterinario para éste.
- 45 Los vehículos veterinarios son materiales útiles para el objetivo de administrar la composición y pueden ser materiales sólidos, líquidos o gaseosos que por lo demás sean inertes o aceptables en la técnica veterinaria y que sean compatibles con el ingrediente activo. Estas composiciones veterinarias pueden administrarse por vía oral, parenteral o mediante cualquier otra vía deseada.
- 50 Los ingredientes activos pueden utilizarse para proporcionar formulaciones farmacéuticas de liberación controlada que contengan un ingrediente activo ("formulaciones de liberación controlada"), en las que la liberación del ingrediente activo sea controlada y regulada para permitir una dosificación con menor frecuencia o para mejorar el perfil farmacocinético o de toxicidad de un ingrediente activo concreto.
- 55 Las formulaciones incluyen las adecuadas para cualquiera de las anteriores vías de administración. Las formulaciones pueden presentarse de modo conveniente en una forma de dosificación unitaria y pueden prepararse mediante cualquiera de los métodos conocidos en la técnica de la farmacia. Las técnicas y las formulaciones en general se encuentran en Reminton's Pharmaceutical Sciences (Mack Publishing Co., Easton, Pa.). Estos métodos incluyen la etapa de asociar el ingrediente activo con el vehículo que constituye uno o más ingredientes o

excipientes accesorios. En general, las formulaciones se preparan asociando de modo íntimo e uniforme el ingrediente activo con vehículos líquidos o vehículos sólidos finamente divididos, o ambos, y después, si es necesario, dando forma al producto.

5 Las formulaciones de la invención adecuadas para la administración oral se preparan como unidades discretas, tales como cápsulas, sellos o comprimidos que contienen cada una una cantidad predeterminada del ingrediente activo; como un polvo o gránulos; como una disolución o una suspensión en un líquido acuoso o un líquido no acuoso; o como una emulsión líquida de aceite en agua o un emulsión líquida de agua en aceite. El ingrediente activo también puede presentarse como una píldora grande, electuario o pasta.

10 Un comprimido se fabrica mediante compresión o moldeado, opcionalmente con uno o más ingredientes accesorios. Los comprimidos fabricados por compresión pueden prepararse mediante compresión en una máquina adecuada del ingrediente activo en forma fluida, tal como polvo o gránulos, opcionalmente mezclado con un agente ligante, lubricante, diluyente inerte, conservante, tensioactivo o dispersante. Los comprimidos fabricados por moldeado pueden fabricarse mediante moldeado en una máquina adecuada de una mezcla del ingrediente activo en polvo humedecido con un diluyente líquido inerte. Los comprimidos pueden estar opcionalmente revestidos o marcados con surcos y se formulan opcionalmente para proporcionar una liberación lenta o controlada del ingrediente activo desde ellos.

15 Si se desea, la fase acuosa de la base de crema puede incluir, por ejemplo, alcohol polihidroxílico, es decir, un alcohol que tenga dos o más grupos hidroxilo, tal como propilenglicol, butan-1,3-diol, manitol, sorbitol, glicerol y polietilenglicol y sus mezclas. Las formulaciones tópicas pueden incluir, de modo deseable, un compuesto que potencie la absorción o la penetración del ingrediente activo a través de la piel u otras áreas afectadas. Los ejemplos de dichos potenciadores de la penetración dérmica incluyen sulfóxido de dimetilo y sus análogos relacionados.

20 La fase oleosa de las emulsiones de esta invención puede constituirse a partir de ingredientes conocidos de una manera conocida. Aunque la fase puede comprender solamente un emulsionante (también conocido como emulgente), resulta deseable que comprenda una mezcla de al menos un emulsionante con una grasa o un aceite o con ambos grasa y aceite. Preferiblemente, se incluye un emulsionante hidrófilo junto con un emulsionante lipófilo que actúe como estabilizante. También se prefiere incluir un aceite y una grasa. Juntos, el emulsionante o emulsionantes con o sin estabilizante o estabilizantes forman la denominada cera emulgente, y la cera junto con el aceite y la grasa forman la denominada base de ungüento emulgente que forma la fase dispersada oleosa de las formulaciones en crema.

25 Los emulgentes y estabilizantes de la emulsión adecuados para su uso en la formulación de la invención incluyen Tween.RTM.60, Span.RTM.80, alcohol cetoestearílico, alcohol bencílico, alcohol miristílico, monoestearato de glicerol y laurilsulfato de sodio.

30 La elección de aceites o grasas adecuadas para la formulación se basa en lograr las propiedades cosméticas deseadas. La crema preferiblemente debe ser no grasienta, no debe manchar y ser un producto lavable con la consistencia adecuada para evitar su filtración de los tubos u otros recipientes. Pueden utilizarse ésteres alquílicos mono- o dibásicos de cadena lineal o ramificada, tales como diisoadipato, estearato de isocetilo, diéster propilenglicólico de ácidos grasos de coco, miristato de isopropilo, oleato de decilo, palmitato de isopropilo, estearato de butilo, palmitato de 2-etilhexilo o una mezcla de ésteres de cadena ramificada conocida como Crodamol CAP, siendo los tres últimos los ésteres preferidos. Éstos pueden utilizarse de modo individual o en combinación dependiendo de las propiedades requeridas. Como alternativa, se emplean lípidos de alto punto de fusión, tales como parafina blanda blanca y/o parafina líquida u otros aceites minerales.

35 Ejemplos de métodos de síntesis: como ejemplo y no como limitación, se emplean los siguientes métodos para preparar uno o más de los compuestos descritos en la presente. Los materiales de partida o las variaciones sencillas de los esquemas se encuentran, por ejemplo, en las siguientes citas: patentes de EEUU 4.602.008, 4.989.694, 5.001.119, 5.175.154, 5.571.795, 5.627.270, 5.681.964, 5.714.481, 5.744.453, 5.939.545, 5.939.570, 5.962.442, 5.962.443, 5.994.568; las publicaciones internacionales nº WO 9.408.588, WO 9.508.558, WO 9.508.559, WO 9.638.466, WO 9.809.450; y las solicitudes de patente europea EP 232.788, y EP 430.078.

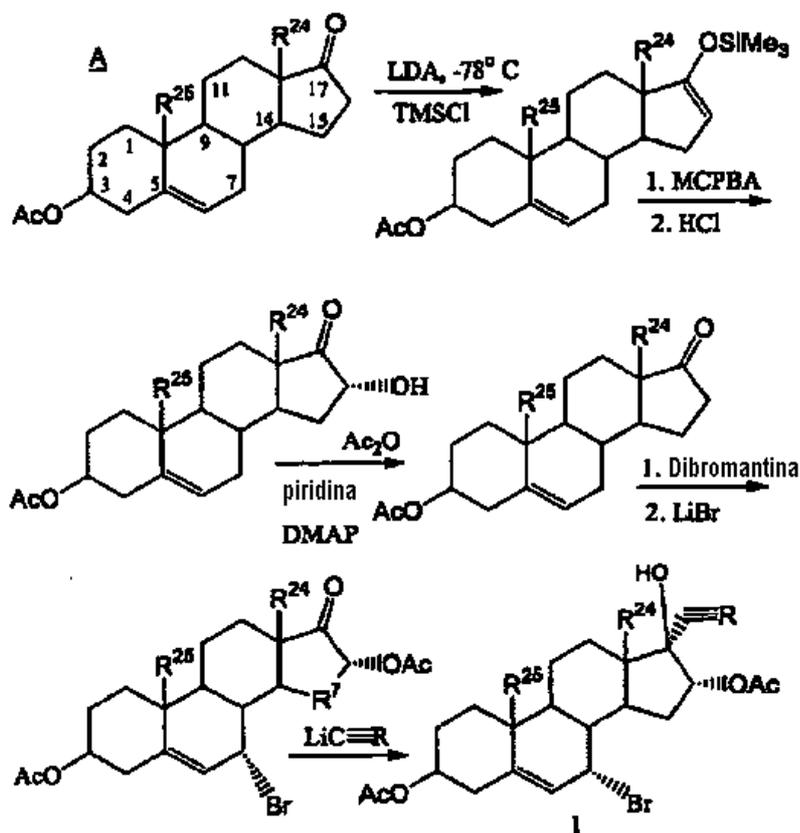
40 Esquema 1: Los principios para la síntesis de los compuestos según la invención se muestran en los esquemas que aparecen a continuación. Cuando R²⁴ y R²⁵ son ambos -CH₃ en la configuración β, H en las posiciones 9 y 14 está en la configuración α, el acetato en la posición 3 está en la configuración β, y H en la posición 8 está en la configuración β, el primer compuesto del esquema 1 es acetato de DHEA. Los grupos acetato en las posiciones 3, 7, 16, 17 u otras posiciones en este esquema y en otros esquemas descritos en la presente pueden ser independientemente otros restos éster según se describe en la presente, por ejemplo ésteres C₂₋₅₀ incluyendo -C(O)-(CH₂)₀₋₄-(CF₂)₀₋₄-CF₃, incluyendo -C(O)-CF₃, -C(O)-alquilo C₂₋₂₉ opcionalmente sustituido, -C(O)-CH₂-alqueno C₂₋₂₈ opcionalmente sustituido, -C(O)-CH₂-alquino C₂₋₂₈ opcionalmente sustituido, -C(O)-(CH₂)₀₋₆-fenilo opcionalmente sustituido, o -C(O)-(CH₂)₀₋₆-heterociclo opcionalmente sustituido, u otros restos orgánicos según se describe en la presente o en las referencias citadas.

Los sustituyentes típicos para estos restos orgánicos se describen en la presente, por ejemplo uno, dos, tres o más -

O-, =O, hidroxilo opcionalmente protegido, -S-, tiol opcionalmente protegido, -NH-, -NH₂- opcionalmente protegido, -C(O)OH opcionalmente protegido, -C(O)-NH-, -C(O)-NH₂, -NH₂-C(O)-H, -NH₂-C(O)-C₀₋₄H₁₋₉, -NH₂-C(O)-O-C₀₋₄H₁₋₉, -CN, -NO₂, -N₃ o halógeno, seleccionados independientemente. Los grupos reactivos se protegen cuando sea necesario, por ejemplo =O normalmente estará protegido en la reacción de LiCR que se emplea para generar el compuesto 1 en el esquema 1 a continuación.

5

Esquema 1



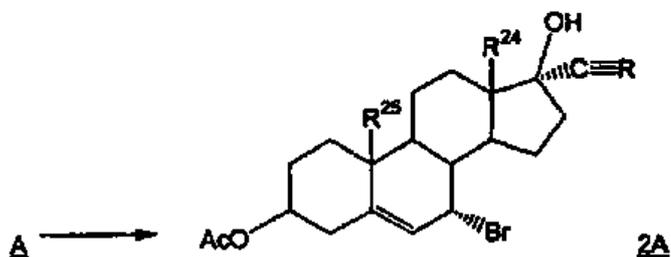
Abreviaturas: LDA = diisopropilamida de litio; MCPBA = ácido m-cloroperbenzoico; TMSCl = trimetilclorosilano; DMAP = 4-dimetilaminopiridina; Dibromantina = 1,3-dibromo-4,4-dimetilhidantoína.

10 R = CR^A; R^A = -H o un resto orgánico C₁-C₅₀ como se describe en la presente, por ejemplo -H, -alquilo C₁₋₂₀ opcionalmente sustituido, -alqueno C₁₋₂₀ opcionalmente sustituido, -alquino C₁₋₂₀ opcionalmente sustituido, -(CH₂)₀₋₆-fenilo opcionalmente sustituido, o -(CH₂)₀₋₆-heterociclo opcionalmente sustituido.

15 Esquema 2: los compuestos de fórmula 2A se preparan a partir de los compuestos de estructura A que aparecen en el esquema 1, utilizando las últimas dos etapas del esquema 1: (1) dibromantina, (2) LiBr, (3) Li-C-R, en la que R es CR^A, y R^A es -H o -alquilo C₁₋₁₂ opcionalmente sustituido. Cuando H en las posiciones 9 y 14 está en la configuración α, y H en la posición 8 está en la configuración β, el primer compuesto en el esquema 1 es acetato de DHEA. Los sustituyentes típicos para el resto alquilo R^A incluyen uno, dos o más de -O-, =O opcionalmente protegido, hidroxilo opcionalmente protegido, -S-, tiol opcionalmente protegido, -NH-, -NH₂ opcionalmente protegido, -C(O)OH opcionalmente protegido, -C(O)-NH-, -C(O)-NH₂, -NH₂-C(O)-H, -NH₂-C(O)-C₀₋₄H₁₋₉, -NH₂-C(O)-O-C₀₋₄H₁₋₉, -CN, -NO₂, -N₃ o halógeno, seleccionados independientemente.

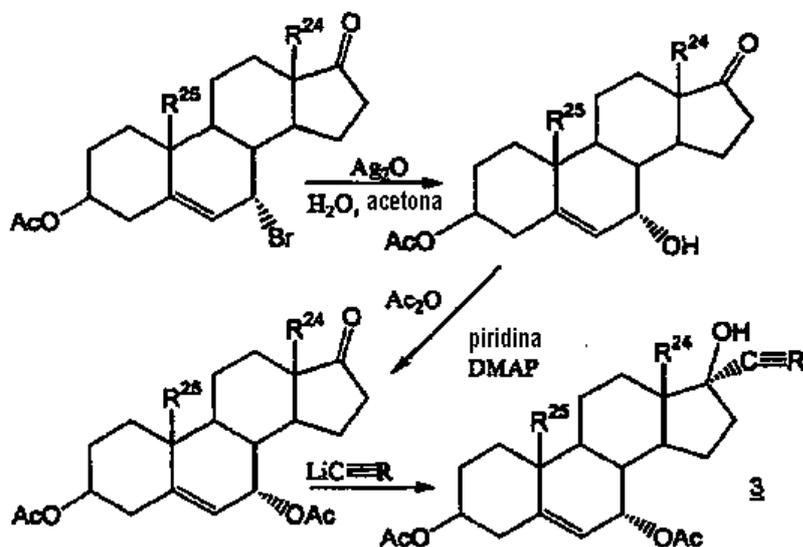
20

Esquema 2



Esquema 3: la bromación alílica en C-7 se logra fundamentalmente como se muestra en el esquema 1. R y R^A son como se definió en los esquemas 1 y 2.

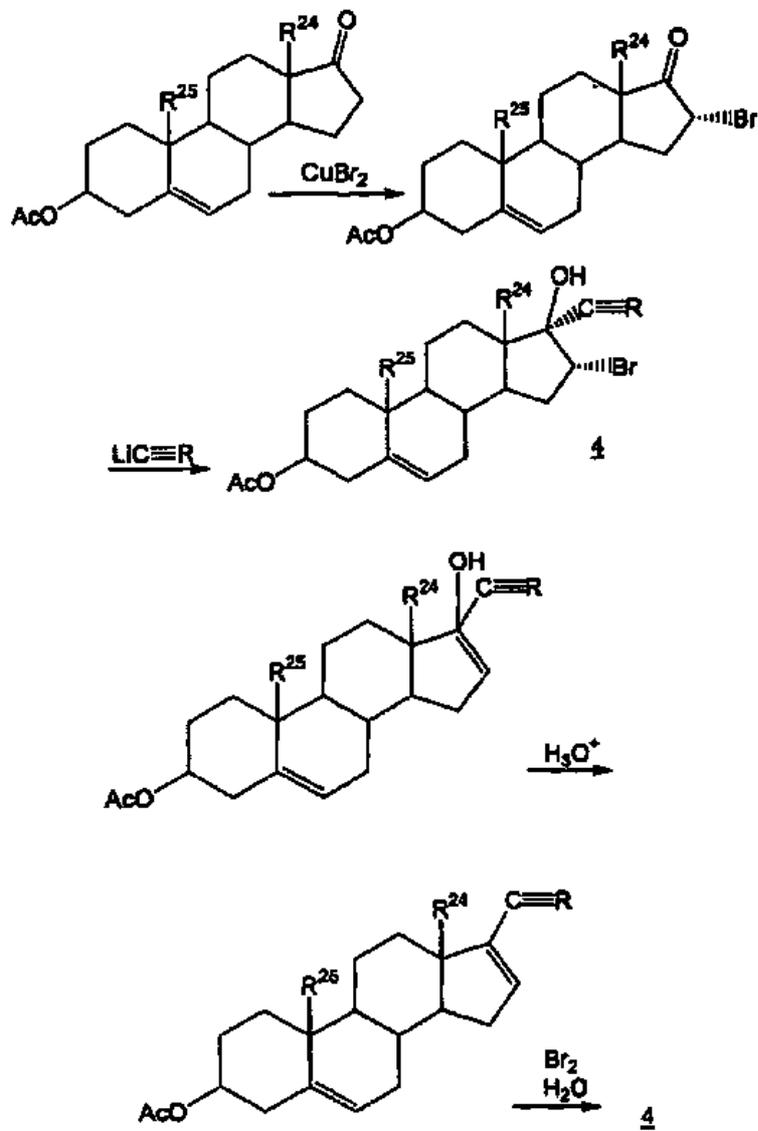
Esquema 3



5 Esquema 4: la adición de un reactivo de litio (acetiluro de litio cuando R es -CH) en la posición 17 >C=O en presencia del bromuro en C-16 produce la formación de un epóxido o una redistribución de pinacol. Como alternativa, los compuestos sin la estructura 3 pueden deshidratarse mediante una catálisis ácida suave para formar los compuestos de fórmula 4 mediante el tratamiento del alcano con Br₂, H₂O. R y R^A son como se definió en los esquemas 1 y 2.

10

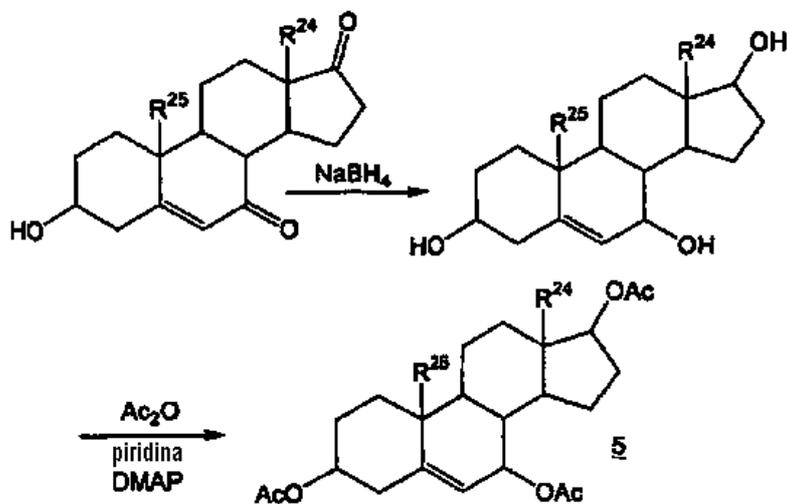
Esquema 4



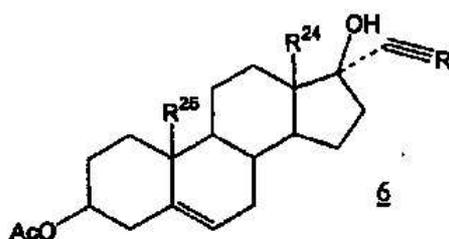
Esquema 5: el borohidruro de sodio produce una mezcla de epímeros en C-7, que pueden separarse mediante métodos convencionales, por ejemplo HPLC, TLC o cromatografía en columna. Para obtener el compuesto 7 α -OH puro se realiza una bromación alílica, seguida de una hidrólisis, por ejemplo fundamentalmente como se describe en los esquemas 1 y 3.

5

Esquema 5



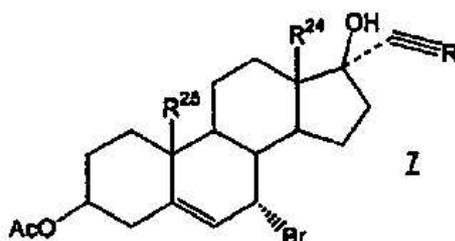
Esquema 6



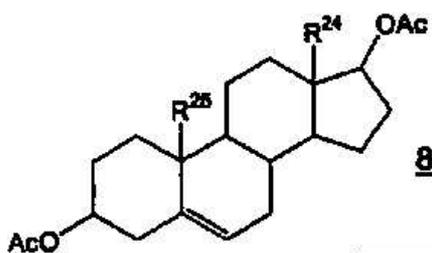
5

Esquema 6: los compuestos de fórmula 6 se preparan mediante el tratamiento del acetato con acetiluro de litio como en los esquemas 1, 2, 3 ó 4. R y R^A son como se definió en los esquemas 1 y 2.

Esquema 7: los compuestos de fórmula 7 se preparan a partir del 3-acetato con los reactivos descritos en los esquemas 1 y 4. R y R^A son como se definió en los esquemas 1 y 2.



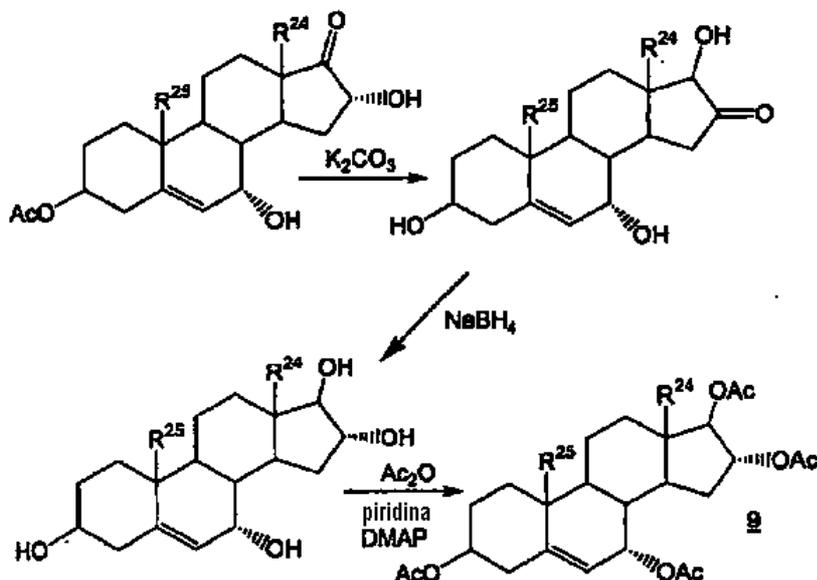
Esquema 8: los compuestos de fórmula 8 se preparan a partir de los compuestos de fórmula 7 mediante una reducción con borohidruro de sodio en C-17, seguido de una acetilación.



10

Esquema 9: el material de partida se prepara utilizando las reacciones descritas en los esquemas 1 y 3.

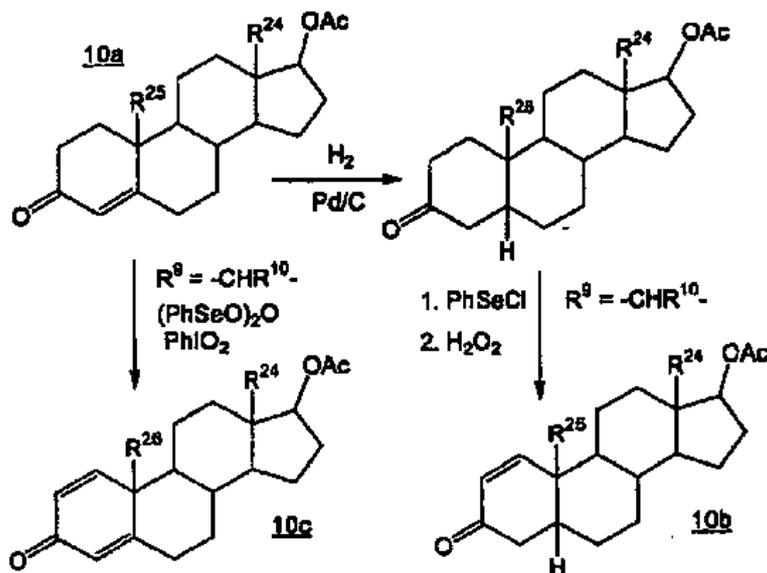
Esquema 9



Esquema 10: una reducción y una acetilación en C-3 y una hidrólisis y una oxidación en C-17 permite que los compuestos de fórmula 10a y 10b sean funcionalizados, tal como se muestra en los esquemas 1-9, en C-3, C-16 y C-17. El 7-oxoacetato puede sustituirse por el compuesto de fórmula A de 3-acetato, y la funcionalización en C-3, C-16 y C-17 se logra de modo similar para los compuestos 7-oxo utilizando las reacciones que aparecen en los esquemas 1-9.

Un tratamiento de 10a con LDA, seguido de la alquilación del enolato, permite la introducción de cadenas laterales, que pueden ser, por ejemplo, alquilo C₁-C₂₀ (metilo, etilo), alqueno C₁-C₂₀ (CH₂=CH-(CH₂)₀₋₆-), bencilo, -(CH₂)₁₋₄-O-(CH₂)₀₋₄CH₃.

Esquema 10



Los esquemas 1-9 muestran la introducción de la función hidroxilo en las posiciones mostradas. Los métodos para convertir el hidroxilo en otros grupos funcionales se realizan fundamentalmente como se describe, por ejemplo, en las referencias citadas en la presente. Por ejemplo, los ésteres de los compuestos de fórmula 1- 10c, tales como -O-C(O)-R⁸, en el que R⁸ es un resto orgánico C₁-50, se preparan a partir del alcohol de esteroide mediante un tratamiento con el anhídrido de ácido o cloruro de ácido (R⁸-C(O)-Cl) apropiados para formar cualquier éster deseado. Los éteres, tales como -O-R⁸, se preparan a partir de alcoholes mediante la formación del alcóxido de metal alcalino (Na⁺ o K⁺), seguido de un tratamiento con un yoduro primario o secundario (R⁸-I). Los tionoésteres, R⁸-C(S)-O-, se preparan tratando el éster R⁸-C(O)-O- con reactivo de Lawesson.

Los sulfatos, NaO-S(O)(O)-O- , $\text{R}^{\text{B}}\text{-O-S(O)(O)-O-}$, por ejemplo $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{0-18}\text{-S(O)(O)-O-}$, se preparan mediante el tratamiento de alcoholes con ácido clorosulfónico, seguido por NaOH o, como alternativa, por la oxidación de sulfitos utilizando KMnO_4 . Si se desea el éster alquílico (por ejemplo, metílico) puede utilizarse un alquilclorosulfonato (metilclorosulfonato). Los sulfitos HO-S(O)-O- y las sales de amonio $\text{NH}_4\text{-O-S(O)-O-}$, o ésteres $\text{R}^{\text{B}}\text{-O-S(O)-O-}$ (por ejemplo, $\text{CH}_3\text{-O-S(O)-O-}$) se preparan mediante métodos convencionales. Las sales de amonio se preparan mediante el tratamiento de los alcoholes como amoniaco y dióxido de azufre. Los ésteres tales como los ésteres alquílicos, alquenílicos y alquinílicos (por ejemplo, éster metílico) se obtienen cuando los alcoholes se tratan con alquilclorosulfito (por ejemplo, metilclorosulfito), alquenilclorosulfito o alquinilclorosulfito, en presencia de una base adecuada, tal como trietilamina. Los fosfoésteres, $\text{R}^{\text{B}}\text{-O-P(OR}^{\text{PR}}\text{)(O)-O-}$, se preparan tratando el alcohol con dietilclorofosfato en presencia de Na_2CO_3 . Como alternativa, si el alcohol se trata con diésteres del ácido fosfórico en presencia de trifenilfosfina (PPh_3) y dietilazodicarboxilato (DEAD), se forman los correspondientes triésteres con inversión (reacción de Mitsunobu).

Los fosfotioésteres, $\text{R}^{\text{B}}\text{-O-P(SR}^{\text{PR}}\text{)(O)-O-}$, se generan mediante el tratamiento de alcoholes con el análogo de monotio de dietilclorofosfato, según se describió para los fosfoésteres, para producir los fosfotioésteres. Los carbonatos, $\text{R}^{\text{B}}\text{-O-C(O)-O-}$, se generan a partir del correspondiente alcohol de esteroide utilizando el cloroformiato ($\text{R}^{\text{B}}\text{-C(O)-Cl}$), por ejemplo cloroformiato de alquilo, alqueno o alquino C_{1-20} (por ejemplo, $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{0-5}\text{-C(O)Cl}$). Los carbamatos, $\text{R}^{\text{B}}\text{-NH-C(O)-O-}$, se preparan a partir de alcoholes de esteroides mediante un tratamiento con isocianatos ($\text{R}^{\text{B}}\text{-N=C=O}$) o NaOCN , en presencia de ácido trifluoroacético. Los ésteres de aminoácidos, ZNX-CHY-C(O)-O- , se generan acoplado el alcohol de esteroide con el cloruro de ácido del aminoácido N-protégido. Se emplea la oxidación de los grupos hidroxilo que están unidos al núcleo de esteroide para obtener cetonas y funcionalidades relacionadas. Por ejemplo, puede lograrse la conversión de alcoholes en cetonas utilizando una diversidad de agentes oxidantes, tales como CrO_3 en AcOH , o clorocromato de piridinio, dicromato de piridinio o cloruro de oxalilo con trietilamina (oxidación de Swern). Las tiocetonas ($=\text{S}$) se preparan tratando las cetonas con reactivo de Lawesson (2,4-bis(4-metoxifenil)-1,3,2,4-ditiadifosfetan-2,4-disulfuro, disponible en el mercado en Aldrich). Los tioacetales, $-\text{C}(\text{SR}^{\text{B}})(\text{SR}^{\text{B}})-$, se preparan a partir de cetonas ($-\text{C}(\text{O})-$) mediante un tratamiento con tioles $\text{R}^{\text{B}}\text{-SH}$ bajo condiciones de catálisis ácida (por ejemplo, HCl). Los fosfonoésteres, $\text{RO-P(OR}^{\text{PR}}\text{)(O)-}$, se generan mediante la adición del diéster del ácido fosforoso a cetonas en presencia de KF para producir hidroxifosfonoésteres. Se puede retirar opcionalmente el grupo hidroxilo utilizando una secuencia de deshidratación e hidrogenación.

La sustitución de los grupos hidroxilo se utiliza para generar una serie de funcionalidades. Por ejemplo, los tioles, $-\text{SH-}$, se preparan a partir de alcoholes mediante la conversión del alcohol con una inversión al bromuro utilizando PBr_3 . El tratamiento del bromuro con tiourea, seguido de NaOH , produce el tiol. Los tioéteres, $\text{R}^{\text{B}}\text{-S-}$, se preparan a partir de tioles mediante un tratamiento con NaOH y el haluro requerido, por ejemplo, haluro de alquilo. Como alternativa, los derivados de alcohol, tal como los tosيلات o los mesيلات, pueden ser desplazados por aniones tiolato, $\text{R}^{\text{B}}\text{-S}^-$, para producir el tioéter. Los tioésteres, R-C(O)-S- , se preparan tratando el tosيلات (mesيلات) del alcohol con la sal de sodio del tioácido.

La sustitución de los grupos hidroxilo puede utilizarse para generar ésteres, $\text{R}^{\text{B}}\text{-O-C(O)-}$, y amidas, $\text{NHR}^{\text{B}}\text{-C(O)-}$, unidos al esteroide en átomos de carbono. Para las amidas y las aminas, R^{B} es $-\text{H}$, un grupo protector o un resto orgánico C_{1-50} . Éstos se sintetizan a partir del bromuro de esteroide con una inversión mediante un desplazamiento con NaCN . El grupo cianuro puede hidrolizarse para producir la amida o el ácido. El ácido se esterifica o se trata mediante reacciones de acoplamiento de péptidos convencionales con un aminoácido O-protégido en presencia de agentes activantes de carboxilo adecuados, tales como diciclohexilcarbodiimida (DCC), para formar un esteroide, $-\text{C(O)-NH-CHY-C(O)-OR}$, en el que Y es la cadena lateral de un aminoácido o un resto orgánico $\text{C}_1\text{-C}_{10}$, y R es un grupo protector (o hidrógeno cuando esté desprotegido).

Las aminas y los derivados de amina, por ejemplo, $\text{R}^{\text{B}}\text{-NH-}$, $\text{R}^{\text{B}}\text{-C(O)NH-}$, $\text{R}^{\text{B}}\text{OC(O)-NH-}$ o $\text{R}^{\text{B}}\text{-O-C(O)-CHR}^{\text{B}}\text{-NH-}$, unidos a los átomos de carbono del esteroide, se preparan generalmente mediante métodos convencionales. Por ejemplo, las aminas (NH_2 -esteroide) en general se preparan utilizando la redistribución de Hoffmann (Br_2 , NaOH) a partir de la amida ($\text{NH}_2\text{-C(O)-esteroide}$) o la redistribución de Curtius (NaN_3) a partir del cloruro de ácido del esteroide. El sustituyente R^{B} puede introducirse posteriormente mediante alquilación. Los alcoholes de esteroides pueden utilizarse como material de partida bajo condiciones de Mitsunobu convencionales (PPh_3 , DEAD) para producir N-Boc-sulfonamidas utilizando N-(t-butoxicarbonil)-p-toluensulfonamida. Se puede retirar de modo selectivo cualquier grupo protector. Un tratamiento con ácido trifluoroacético produce la sulfonamida ($\text{R}^{\text{B}}\text{-S(O)(O)-NH-esteroide}$). Como alternativa, el naftalenuro de sodio desprotege para producir el compuesto de N-Boc. Las aminas (NH_2 -esteroide) pueden convertirse en amidas ($\text{R}^{\text{B}}\text{NH-C(O)-esteroide}$) utilizando cloruros de acilo ($\text{R}^{\text{B}}\text{-C(O)-Cl}$). Un tratamiento con cloroformiato de cloro produce el N-carbamato ($\text{R}^{\text{B}}\text{-O-C(O)-NH-esteroide}$). La amina (NH_2 -esteroide) puede alquilarse con un α -bromoéster ($\text{R}^{\text{B}}\text{-C(O)-CHY-NH}_2$) para producir el esteroide sustituido con aminoácido ($\text{R}^{\text{B}}\text{-O-C(O)-CHY-NH-esteroide}$).

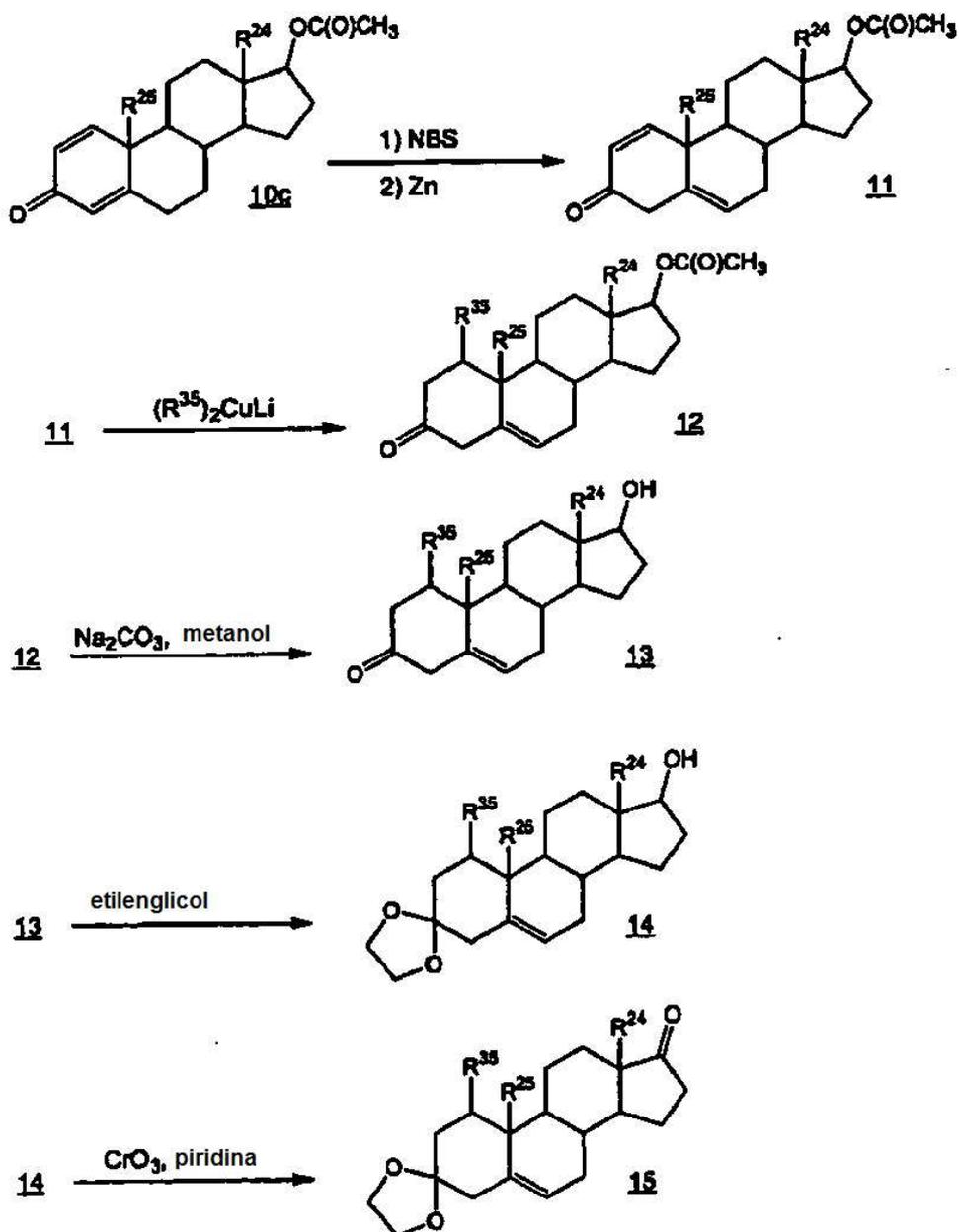
Cuando las reacciones, tales como las sustituciones, producen una mezcla de productos, el intermedio deseado se separa opcionalmente de los otros productos o se enriquece al menos parcialmente (por ejemplo, se enriquece al menos aproximadamente en 10 veces, normalmente al menos aproximadamente en 50-100 veces) con respecto a

los otros productos, antes de realizar las posteriores reacciones. Una sustitución en los átomos de carbono del esteroide generalmente se realiza con más eficacia en la posición 3, que está relativamente no impedida estéricamente, y la posición C-17 en general es un poco menos accesible que la posición C-3. Las reactividades relativas de las posiciones C-3, C-7 y C-16 permite utilizar sus reactividades para controlar la introducción secuencial de diferentes grupos funcionales en la misma molécula de esteroide. Además, los grupos, tales como hidroxilo en las posiciones más reactivas, C-3 o C-17, pueden protegerse o desprotegerse secuencialmente para permitir la introducción de grupos funcionales en otras posiciones, tales como C-7 o C-16.

Los polímeros, tales como PEG, se unen a los compuestos fundamentalmente como se describió anteriormente. Por ejemplo, PEG 200 o PEG 300 se une al esteroide en las posiciones 3, 7, 16, 17 u otras posiciones, a través de un enlace éter (PEG-O-esteroide) utilizando un alcóxido de PEG (PEG-ONa), para desplazar el bromuro de esteroide. Como alternativa, el PEG-Br puede tratarse con el alcóxido de esteroide. También pueden prepararse polietilenglicol ésteres, tales como los descritos en la patente de EEUU 5.681.984, utilizando un compuesto de fórmula 1 adecuado y los métodos descritos en ella. Los monosacáridos o los polisacáridos y los oligonucleótidos se unen a los grupos hidroxilo del esteroide utilizando métodos conocidos; véase, por ejemplo, la patente de EEUU 5.627.270.

Esquema 11: los compuestos de fórmula 1 ó 2 que contienen un resto orgánico que está unido en la posición 1 se preparan fundamentalmente como sigue. La reacción de bromación alílica para generar 11 puede utilizar cualquier reactivo adecuado, por ejemplo, N-bromosuccinimida ("NBS"), para producir el derivado de 1-bromo. Este intermedio se trata con cinc para producir el derivado alquilado 12. Los restos orgánicos se introducen en la posición 1 utilizando un reactivo correspondiente, por ejemplo, $(R^{35})_2CuLi$, en el que R^{35} es un resto orgánico C_1-C_{25} que puede comprender 1, 2, 3, 4 o más sustituyentes, por ejemplo, -O-, -S-, -NH-, $-OR^{PR}$, una cetona protegida (por ejemplo, etilén cetal), $-SR^{PR}$ o $-N(R^{PR})_2$. En otras realizaciones, R^{35} es R^1 . Por tanto, cuando R^{35} es metilo, un grupo metilo se introduce en la posición 1, o cuando R^{35} es $-CH_2-OR^{PR}$, el grupo $-CH_2-OR^{PR}$ se introduce en la posición 1. El compuesto 12 se convierte en el derivado de 17-hidroxilo 13 mediante una hidrólisis utilizando métodos convencionales, por ejemplo, un tratamiento con carbonato de sodio en metanol. El compuesto 15 se convierte en el derivado de 17-hidroxi mediante la reducción de la cetona, por ejemplo, utilizando $LiBH_4$ o $NaBH_4$ en etanol, o mediante hidrogenación catalítica con H_2/Ni , H_2/Pt o H_2/Pd . La hidrogenación catalítica también producirá la reducción del doble enlace en 12, 13, 14 ó 15. Como alternativa, se obtiene un hidroxilo en las posiciones 3 y 17 reduciendo la cetona en el compuesto 12 y retirando el grupo acetato, o directamente reduciendo la 3-cetona en el compuesto 13.

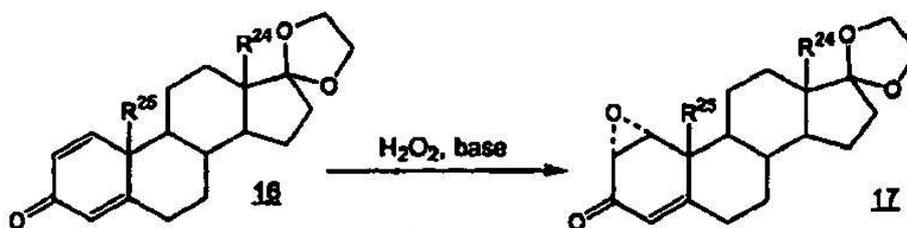
Esquema 11



Esquema 12: los compuestos de fórmula 1 ó 2 que contienen un hidroxilo o un éter que esté unido en la posición 1 se preparan fundamentalmente como sigue. Un hidroxilo se introduce en la posición 1 mediante la oxidación de un material de partida adecuado utilizando peróxido de hidrógeno alcalino para obtener el epóxido 16. El compuesto 16 se convierte en el derivado de 1-hidroxilo mediante un tratamiento, por ejemplo, con un exceso de litio metálico y un exceso de cloruro de amonio en NH_4 -THF (1:1) a reflujo para producir 17. El grupo cetol se hidroliza para producir la 17-cetona. El grupo cetol en la posición 1 opcionalmente después se convierte en otros restos fundamentalmente como se describió anteriormente.

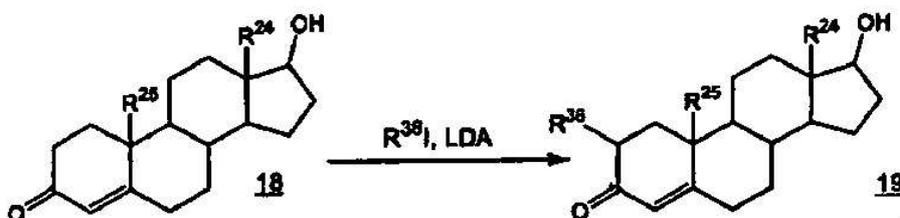
5

Esquema 12



Esquema 13: los compuestos de fórmula 1 ó 2 que contienen un resto orgánico que esté unido en la posición 2 se preparan fundamentalmente como sigue. Los restos orgánicos se introducen en la posición 2 utilizando el correspondiente reactivo, por ejemplo $(R^{36})_2CuLi$, en el que R^{36} es un resto orgánico C_1-C_{25} que puede comprender 1, 2, 3, 4 o más sustituyentes, por ejemplo -O-, -S-, -NH-, OR^{PR} , una cetona protegida (por ejemplo, etilén acetal), - SR^{PR} o $-N(R^{PR})_2$. En otras realizaciones, R^{36} es R^3 . Por tanto, cuando R^{36} es metilo, un grupo metilo se introduce en la posición 2, o cuando R^{36} es $-CH_2-OR^{PR}$, el grupo $-CH_2-OR^{PR}$ se introduce en la posición 2. El material de partida 18 es testosterona cuando R^{24} y R^{25} son ambos metilo. El compuesto 18 se alquila utilizando un agente alquilante, tal como el yoduro $R^{36}I$, en presencia de una base fuerte, tal como diisopropilamida de litio ("LDA"), *t*-pentóxido de *n*-butil-litio de sodio o $(C_2H_5)_2Ni$, para producir R^{36} unido al esteroide en las configuraciones α y β . El grupo $2\beta-R^{36}$ se epimeriza para producir la configuración 2α utilizando una base fuerte, por ejemplo un alcóxido de sodio, tal como metóxido de sodio, en un alcohol, tal como metanol. Como alternativa, los dos epímeros se separan al menos sustancialmente mediante métodos habituales.

Esquema 13



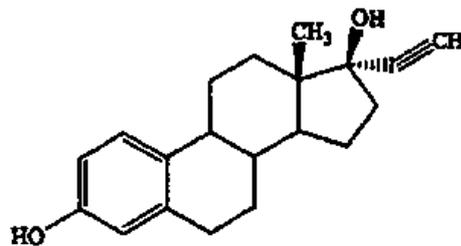
Otros compuestos de fórmula 1 y 2 se preparan utilizando métodos similares, por ejemplo, a los descritos en la presente o en las referencias citadas.

Los siguientes ejemplos de referencia ilustran más a fondo la invención.

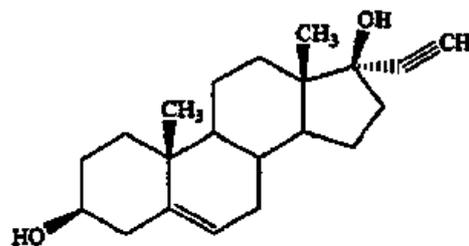
Ejemplo de referencia 1. Ensayo de actividad AR. Una función biológica del AR es actuar como factor de transcripción, que puede modular la transcripción de genes diana. El AED, la 5α -dihidrotestosterona (DHT), el 17β -estradiol (E2) y la progesterona se adquirieron en Sigma. Los esteroides derivatizados con etinilo se adquirieron en Steraloids. El plásmido pSG5-AR de tipo salvaje (pSG5) y el virus de tumor de mamífero de ratón (MMTV)-cloranfenicol acetiltransferasa (CAT) se construyeron como se describe (6). Los números entre paréntesis, por ejemplo (6), en la anterior frase se refieren a las referencias bibliográficas listadas en la sección de referencias bibliográficas que aparece a continuación. Otros compuestos esteroides se sintetizaron utilizando protocolos habituales y otros han sido descritos (19, 20). La línea celular de cáncer de próstata humano, PC-3, y la línea celular de cáncer de mama humano, MCF-7, se mantuvieron en medio de Eagle modificado de Dulbecco (DMEM) que contenía suero de ternera fetal al 10%. La transfección del ADN y los ensayos de CAT se realizaron fundamentalmente como se describe (4, 6, 7). Brevemente, 4×10^5 células se cultivaron en placas de 60 mm 24 h antes de la transfección, y el medio se cambió a DMEM (sin rojo fenol) con suero de ternera fetal extraído con carbón al 10% una hora antes de la transfección. Las células se transfectaron utilizando el método de precipitación con fosfato de calcio. La cantidad total de ADN se ajustó a 8,5 μg con pSG5 en cada ensayo de transfección. Después de transfectar las células durante 24 horas se retiró el medio de transfección, se añadió DMEM fresco y se añadieron los esteroides. Las células entonces se incubaron en DMEM con esteroides durante 24 horas. Después de la incubación, las células se recogieron y se emplearon los extractos de las células enteras para el ensayo de CAT. La eficacia de la transfección se normalizó mediante una cotransfección con un vector de β -galactosidasa, que actúa como control interno. La actividad de la enzima CAT se cuantificó mediante un Phosphorimager, según las instrucciones del fabricante (Molecular Dynamics).

nº del compuesto de referencia	Nombre del compuesto de referencia
0	7-oxodeshidroepiandrosterona
1	17 α -etinil-17 β -hidroxi-4-estren-3-ona

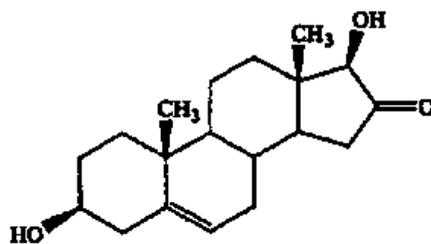
2	17 α -etinil-17 β -hidroxi-4-estren-3-ona
3	17 α -etinil-17 β -hidroxi-5(10)-estren-3-ona
4	1,3,5(10)-estratrien-17 α -etinil-3 β ,17 β -diol
5	androst-5-on-3 β ,11 β ,17 β -triol
6	17 α -etinilandrost-5-en-3 β ,17 β -diol
7	17 α -etinil-17 β -hidroxi-4-androsten-3-ona
8	3 β ,17 β -dihidroxiandrost-5-en-16-ona
9	3 β ,17 β -dihidroxiandrost-4-eno
10	3 β -metilcarbonatandrost-5-en-1,17-diona
11	3 β ,17 β -dihidroxiandrost-5-en-11-ona
13	3 β ,17 β -diacetoxiandrost-5-en-7 α ,17 β -diol
14	3 β ,17 β -diacetoxiandrost-5-en-7-ona
15	3 β -metoxi-17 β -hidroxiandrost-5-en-7-ona
16	3 β -metoxiandrost-5-en-?,17 β -diol
17	17 β -metoxiandrost-3,5-dien-7-ona
18	ácido 17-metilmarranólico
19	17 β -hidroxiandrost-3,5-dien-7-ona
21	5 α -androstan-3 α ,17 β -diol
22	7-oxoandrost-3 β ,17 β -diol



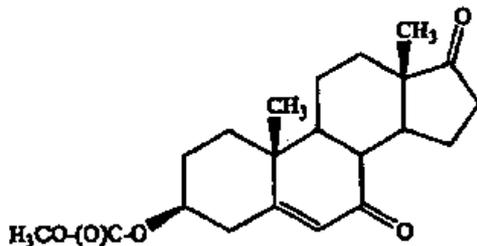
compuesto de referencia 4



compuesto de referencia 6



compuesto de referencia 8



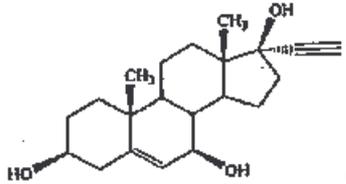
compuesto de referencia 10

- 5 **Ejemplo 2. Inducción de la actividad transcripcional mediada por AR.** Los compuestos de esteroides se seleccionaron por su capacidad para inducir la actividad transcripcional de AR en la línea celular PC-3 AR-negativa. Los resultados del ensayo CAT se obtuvieron mediante la cotransfección transitoria del plásmido AR y un plásmido indicador (MMTV-CAT) que contenía el gen CAT unido al elemento de respuesta a andrógenos (ARE). Después de la transfección, las células se trataron con diversos derivados de DHEA a 1000, 10 y 0,1 nM. Tal como se muestra en la figura 1, los compuestos de referencia 0, 4, 5, 6, 8, 10, 13, 15, 16, 18 y 22 tenían poca actividad androgénica pero sí inducían un nivel bajo de transactivación del gen CAT mediada por AR. El AED (compuesto de referencia 21) tenía aproximadamente la misma capacidad que DHT para estimular la transcripción del gen CAT mediada por AR.
- 10 **Ejemplo 3. Identificación de la actividad antiadiol de esteroides con bajos efectos androgénicos.** Se seleccionaron varios compuestos por su capacidad para modular los efectos del AED sobre la activación mediada por AR de la transcripción de genes en células PC-3. Las estructuras químicas de los compuestos de referencia 4, 6, 8 y 10 se muestran en la figura 2A. Las células PC-3 se cotransfectaron con pSG5 y el vector indicador MMTV-CAT en presencia de AED 50 nM y cada compuesto de referencia a una concentración de 10, 100 ó 1000 nM. Tal como se muestra en la figura 2B, los compuestos de referencia 4, 6, 8 y 10 antagonizan la actividad transcripcional de AR mediada por AED. A unas concentraciones de 0,1 μ M y 1 μ M, los compuestos de referencia 4 y 6 suprimían la transactivación de AR inducida por AED hasta menos del 30%. Los compuestos de referencia 0, 5, 13, 15, 18 y 22 muestran activación de la actividad transcripcional de AR mediada por AED o no producen efecto.
- 15 **Ejemplo 4. Identificación de los efectos anti-DHT de los esteroides.** Los compuestos de referencia 4, 6, 8 y 10 se estudiaron para determinar si estos antagonistas de AED tenían la capacidad de reprimir la transactivación de AR inducida por DHT. Se cotransfectaron células PC-3 con pSG5 y el plásmido indicador MMTV-CAT en presencia de DHT 1 nM y cada uno de los compuestos de referencia a 10, 100 ó 1000 nM. El compuesto de referencia 4 reprimió la transactivación de AR inducida por DHT hasta menos del 40% a 1 μ M (figura 3).
- 20 **Ejemplo 5. Supresión de la actividad transcripcional de AR inducida por AED en presencia de HF.** Para imitar el trastorno *in vivo* del bloqueo total de andrógenos en pacientes con cáncer de próstata, los compuestos 4, 6, 8 y 10 se estudiaron para determinar su capacidad para antagonizar la transactivación de AR inducida por AED en presencia de HF. En presencia de HF 1 μ M, AED 50 nM y cada uno de los compuestos a 0,01, 0,1 ó 1 μ M, las células PC-3 se tranfectaron de modo transitorio con pSG5 y el plásmido indicador MMTV-CAT. Tal como se muestra en la figura 4, HF suprimió la actividad de transcripción del AR mediada por AED en aproximadamente 40%. Los compuestos ensayados disminuyen la actividad de transcripción del AR mediada por AED en aproximadamente 75%.
- 25 **Ejemplo 6. Especificidad para las hormonas esteroides de los metabolitos de DHEA (nº 4, 6, 8 y 10).** La línea celular MCF-7 positiva al receptor de estrógenos (ER) se transfectó con un plásmido indicador CAT que contenía un elemento de respuesta a estrógenos unido al gen CAT. Las células PC-3 se transfectaron con el indicador MMTV-CAT y el receptor de progesterona (PR) o el receptor de glucocorticoides (GR) para ensayar la especificidad para hormonas esteroides de los compuestos de referencia 4, 6, 8 y 10. Los cuatro compuestos de referencia presentan algo de actividad estrogénica y sólo el compuesto de referencia 4, que tiene un grupo 17 α -etinilo, muestra una débil actividad PR. Ninguno de los cuatro compuestos de referencia mostró actividad GR.
- 30
- 35

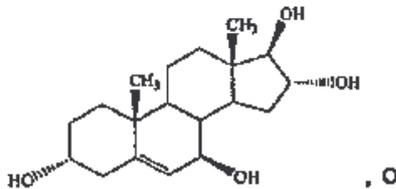
REIVINDICACIONES

1.- El uso como un medicamento de un compuesto, en el que

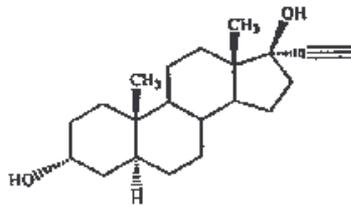
(a) el compuesto es 17α -etinilandrost-5-en- $3\beta,7\beta,17\beta$ -triol (compuesto 1.2.1.3), que tiene la estructura



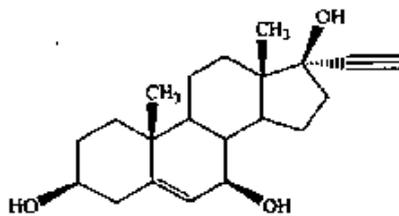
(b) el compuesto es androst-5-en- $3\alpha,7\beta,16\alpha,17\beta$ -tetrol (compuesto 2.2.6.1), que tiene la estructura



5 (c) el compuesto es 17α -etinilandrostan- $3\alpha,17\beta$ -diol (compuesto 2.1.1.3), que tiene la estructura

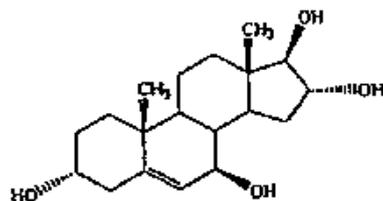


2.- El uso según la reivindicación 1, en el que el compuesto tiene la estructura



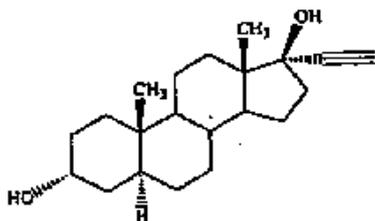
(compuesto 1.2.1.3).

3.- El uso según la reivindicación 1, en el que el compuesto tiene la estructura



(compuesto 2.2.6.1).

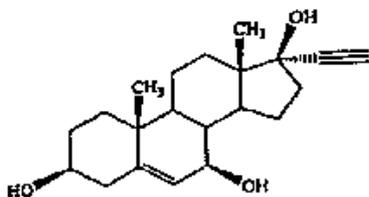
4.- El uso según la reivindicación 1, en el que el compuesto tiene la estructura



(compuesto 2.1.1.3).

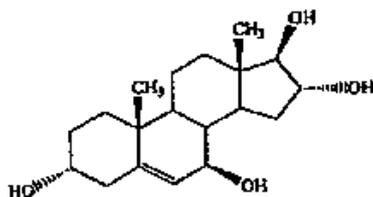
5.- El uso de un compuesto para la preparación de un medicamento para el tratamiento de la hiperplasia prostática benigna, el cáncer de próstata o el cáncer de mama, en el que

(a) el compuesto tiene la estructura



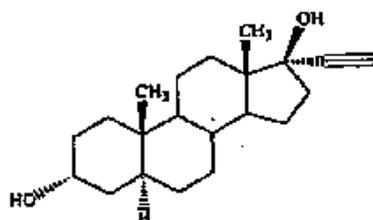
(compuesto 1.2.1.3),

(b) el compuesto tiene la estructura



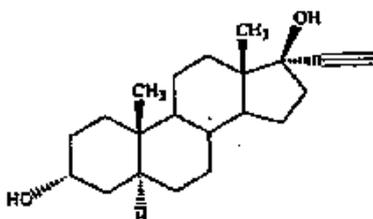
(compuesto 2.2.6.1), o

5 (c) el compuesto tiene la estructura



(compuesto 2.1.1.3).

6.- El uso según la reivindicación 5, en el que el compuesto tiene la estructura



(compuesto 2.1.1.3).

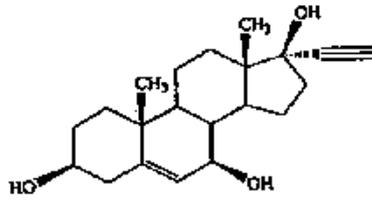
7.- El uso según la reivindicación 6, en el que el medicamento es para el tratamiento de la hiperplasia prostática benigna.

8.- El uso según la reivindicación 6, en el que el medicamento es para el tratamiento del cáncer de próstata.

10 9.- El uso según la reivindicación 6, en el que el medicamento es para el tratamiento del cáncer de mama.

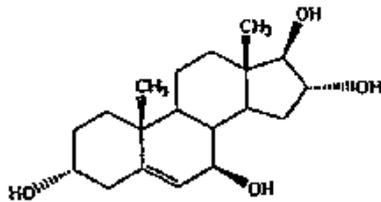
10.- Un compuesto que tiene la estructura

(a)



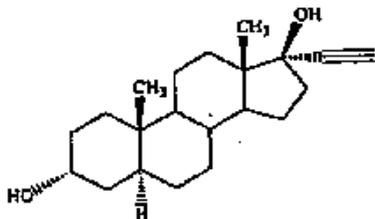
(compuesto 1.2.1.3), o

(b)



(compuesto 2.2.6.1).

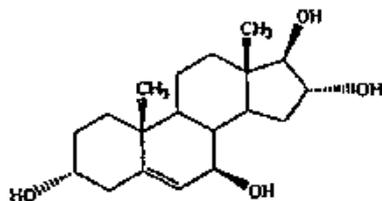
11.- El compuesto según la reivindicación 10, en el que el compuesto tiene la estructura



(compuesto 2.1.1.3).

5

12.- El compuesto según la reivindicación 10, en el que el compuesto tiene la estructura



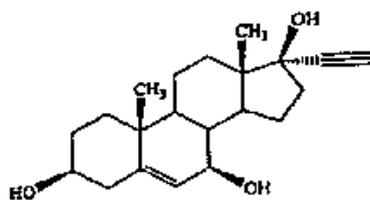
(compuesto 2.2.6.1).

13.- El compuesto según la reivindicación 11 ó 12, en el que el compuesto es un polvo o gránulos.

14.- Una formulación que comprende uno o más excipientes y un compuesto, en la que el compuesto tiene la estructura

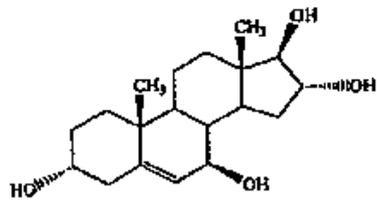
(a)

10



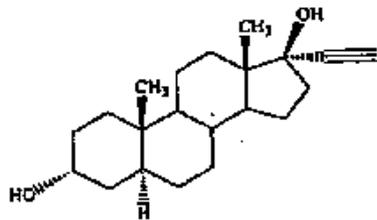
(compuesto 1.2.1.3),

(b)



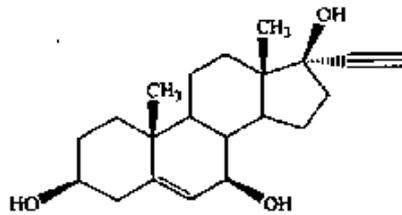
(compuesto 2.2.6.1), o

(c)



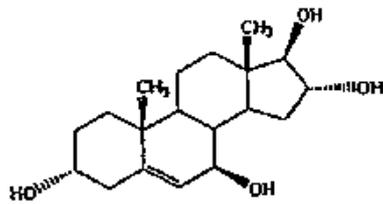
(compuesto 2.1.1.3).

15.- La formulación según la reivindicación 14, en la que el compuesto tiene la estructura



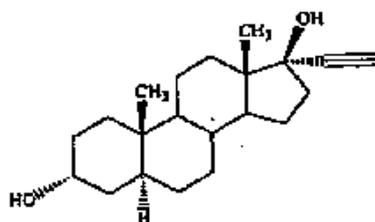
(compuesto 1.2.1.3).

16.- La formulación según la reivindicación 14, en la que el compuesto tiene la estructura



(compuesto 2.2.6.1).

5 17.- La formulación según la reivindicación 14, en la que el compuesto tiene la estructura



(compuesto 2.1.1.3).