

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 439 947**

51 Int. Cl.:

**C07J 63/00** (2006.01)

**A61K 31/56** (2006.01)

**A61P 35/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **28.02.2007 E 07712803 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **25.09.2013 EP 1996604**

54 Título: **Compuestos esteroideos como inhibidores de la sulfatasa esteroidea**

30 Prioridad:

**01.03.2006 GB 0604142**

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

**27.01.2014**

73 Titular/es:

**STERIX LIMITED (100.0%)  
190 BATH ROAD  
SLOUGH, BERKSHIRE SL1 3XE, GB**

72 Inventor/es:

**POTTER, BARRY VICTOR LLOYD;  
REED, MICHAEL JOHN;  
WOO, LOK WAI LAWRENCE;  
PUROHIT, ATUL y  
FOSTER, PAUL**

74 Agente/Representante:

**PÉREZ BARQUÍN, Eliana**

**ES 2 439 947 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

Compuestos esteroideos como inhibidores de la sulfatasa esteroidea

5 **Campo de la invención**

La presente invención se refiere a un compuesto. En particular la presente invención proporciona compuestos capaces de inhibir la sulfatasa esteroidea.

10 **Antecedentes de la invención**

El cáncer de mama es una enfermedad devastadora que continúa siendo una causa principal de muerte en mujeres en la mayor parte de los países occidentales. Se estima que afecta aproximadamente a 1 millón de mujeres al año en todo el mundo.<sup>1</sup>

15 Gran Bretaña presenta uno de los índices de mortalidad más elevados de cáncer de mama en el mundo con más de 35.000 mujeres diagnosticadas cada año que representan aproximadamente uno de cada cinco de todos los casos de cáncer. Se estima que 1 de cada 10 mujeres que viva hasta la edad de 85 años en Gran Bretaña desarrollará cáncer de mama durante el transcurso de su vida. Aunque los procedimientos modernos de tratamiento, así como la  
20 detección precoz de la enfermedad, han mejorado en gran medida los índices de supervivencia, el cáncer de mama continúa siendo la causa principal de muerte en mujeres de edades comprendidas entre 35 y 54 años.<sup>2</sup>

25 Todas las mujeres están en riesgo de padecer cáncer de mama aunque se han identificado una serie de factores de riesgo, estando relacionados la mayoría de ellos con los antecedentes hormonales y reproductores de las mujeres, así como con sus antecedentes familiares de la enfermedad. Las mujeres con mayor riesgo son generalmente aquellas con antecedentes familiares marcados de la enfermedad, comienzo precoz de menarquía, comienzo tardío de la menopausia o un primer embarazo a término completo después de la edad de 30 años.<sup>2</sup>

30 En las etapas más tempranas del cáncer de mama, la cirugía parece ser el tratamiento de elección. En la mayor parte de los casos están implicadas las técnicas quirúrgicas que conservan el pecho, tal como una incisión local del bulto o de los bultos en los pechos, en lugar de la mastectomía. Para evitar una recaída de la enfermedad, se prescribe con frecuencia la radioterapia, particularmente si se han implicado técnicas que conservan los pechos.<sup>3</sup> También se usa para reducir los tumores grandes a un tamaño que pueda operarse, de modo que pueda llevarse a  
35 cabo una cirugía de conservación.<sup>4</sup>

40 Para los cánceres de mama avanzados, cuando el tumor se ha extendido o recaído, el objetivo del tratamiento no es ya curar sino lograr el control paliativo. Este es el caso cuando las metástasis del tumor han alcanzado ubicaciones tales como los huesos, la piel, la linfa, los ganglios o el cerebro. El tratamiento varía dependiendo del estado hormonal del paciente (si la que debe tratarse es una mujer premenopáusica o posmenopáusica) y dependiendo del tipo de tumor. De hecho, se ha demostrado que determinados tumores dependen de estrógenos para su crecimiento y desarrollo, provocando lo que se denomina un cáncer de mama dependiente de hormonas (HDBC, véase I-1). Aunque ningún HDBC se trata con quimioterapia, cuando el objetivo es destruir células tumorales de forma  
45 diferencial usando una combinación de agentes citotóxicos,<sup>5</sup> es de esperar que los HDBC respondan a la terapia endocrina.

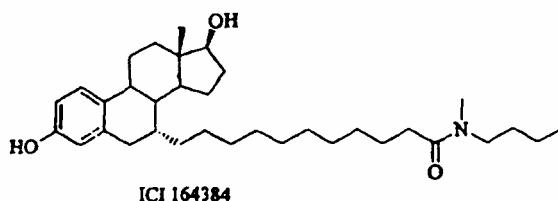
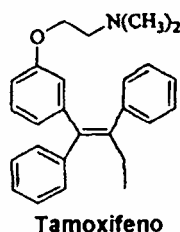
50 El concepto de tumores dependientes de hormonas apareció al comienzo de la década de 1960, cuando el modelo de acción de los estrógenos se introdujo por primera vez.<sup>6</sup> Para que los estrógenos regulen el crecimiento y la función celular en los seres humanos, debe estar presente una proteína específica, denominada receptor de estrógenos humano (hER).<sup>7</sup> Esta proteína, localizada en el núcleo, interactúa con estrógenos, teniendo como consecuencia la formación de un complejo de unión. Este actúa como factor de transcripción activando la producción de ARN-m de genes específicos, siendo uno o más de los mismos, probablemente, esenciales para el crecimiento eficaz de las células tumorales.

55 Los pacientes con un nivel mensurable de proteína receptora se clasifican como positivos al receptor del estrógeno (ER+) en oposición a los negativos al receptor del estrógeno (ER-). Aproximadamente el 50 % de las mujeres premenopáusicas y el 75% de las mujeres posmenopáusicas están comprendidas en el grupo ER+<sup>8</sup> en el que el desarrollo de los cánceres de mama puede estar directamente relacionado con la presencia de estrógenos. La terapia endocrina, en la que el uso de fármacos produce una privación de estimulación estrógena a las células, se ha demostrado que es un procedimiento eficaz para el tratamiento de HDBC. Originalmente, se desarrollaron dos  
60 clases de fármacos, que responden a diferentes estrategias: antiestrógenos e inhibidores de aromatasa.

Los antiestrógenos, como antagonistas del receptor del estrógeno, han sido uno de los primeros tratamientos considerados para el HDBC. Su acción se basa en su capacidad para unirse de forma competitiva a la proteína hER del receptor específico, impidiendo de este modo el acceso de los estrógenos endógenos a su sitio de unión específico. En consecuencia, la hormona natural es incapaz de mantener el crecimiento tumoral.

De los antiestrógenos usados habitualmente en la terapia del cáncer de mama, el más ampliamente usado es el tamoxifeno (a continuación) debido al perfil de toxicidad muy bajo de la molécula. A pesar de su esqueleto no esteroideo, el tamoxifeno posee una actividad agonista-antagonista mixta que limita su potencial terapéutico.<sup>9</sup> Además, se ha informado de algunas formas de resistencia al fármaco en pacientes después de un tratamiento con tamoxifeno a largo plazo.<sup>10</sup>

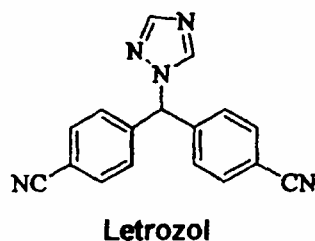
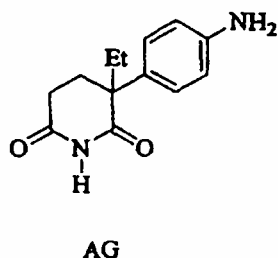
Se han descubierto hace tiempo nuevos fármacos antiestrógenos puros, tales como ICI 164384 (a continuación), pero la pérdida de potencia comparada con la del tamoxifeno sugiere la necesidad de diseñar dianas mucho más potentes.<sup>11</sup>



Desde hace algunos años, ha surgido un nuevo tipo de antiestrógeno que combina el agonismo del estrógeno sobre los tejidos diana tales como hueso o hígado y el antagonismo y/o agonismo mínimo en los tejidos reproductores tales como las mamas o el útero.<sup>12</sup> Estos compuestos, diseñados como moduladores selectivos del receptor del estrógeno (SERM), no solo son potencialmente eficaces para reducir el riesgo en el paciente de carcinoma de mama, sino que también se ha demostrado que aumentan la densidad mineral del hueso y previenen la osteoporosis en las mujeres posmenopáusicas. El raloxifeno es el primero de esta clase de compuestos que se usa clínicamente.<sup>13</sup> Actualmente, existen más SERM en ensayos clínicos y estas moléculas podrían sustituir un día al tamoxifeno como la primera línea de tratamiento para mujeres con HDDB.

El uso de agentes terapéuticos que inhiben una o varias enzimas de la ruta de biosíntesis de esteroides representa otra estrategia importante para el control del desarrollo de tumores dependientes del estrógeno.<sup>14</sup> La enzima aromatasa, que convierte los esteroides C19 andrógenos en esteroides C18 estrógenos, ha sido la diana principal para reducir los niveles de estrógeno. Este complejo enzimático, que contiene una hemoproteína citocromo P450, cataliza la aromatización del anillo A del andrógeno con la subsiguiente pérdida del grupo metilo de C19 proporcionando estrógenos.

La aminoglutetimida (a continuación) fue el primer inhibidor de aromatasa usado para el tratamiento del cáncer de mama. Sin embargo, presentaba una serie de efectos secundarios indeseables debido a su amplio espectro de efectos inhibitorios sobre otras enzimas dependientes de P450 y los esfuerzos para mejorar la estructura original han conducido a una serie de compuestos no esteroideos que participan en ensayos clínicos.<sup>15</sup> La última generación desarrolló compuestos tales como letrozol, que combina gran potencia y gran selectividad por la enzima, y, también, se toleran mejor.



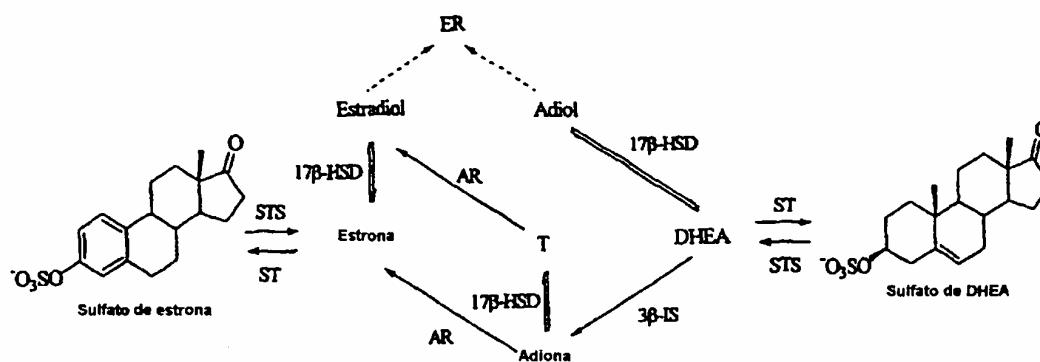
Estructura de diferentes tipos de inhibidores de aromatasa. Generación I: aminoglutetimida, AG; generación III, letrozol.

Tradicionalmente, los inhibidores de aromatasa se reservan como segunda línea de tratamiento para pacientes con HDDB avanzado cuyas enfermedades no se controlan ya mediante tamoxifeno. No obstante, debido al perfil de toxicidad extremadamente bueno de algunos de los inhibidores de aromatasa más recientes, se han realizado ensayos clínicos recientes para evaluar su idoneidad como tratamiento de primera línea para HDDB.

Durante la última década han surgido indicios sólidos, tanto bioquímica como clínicamente, de que solo la inhibición de la enzima aromatasa no puede proporcionar una reducción eficaz de la estimulación estrógena de HDDB, siendo

la razón que están implicadas otras rutas en la biosíntesis del estrógeno. Se considera actualmente que la ruta de la sulfatasa es la vía principal para la síntesis del estrógeno del tumor de mama, ya que se encontró que la actividad de la sulfatasa proporciona 10 veces más estrógenos que la actividad de la aromatasa.<sup>16</sup>

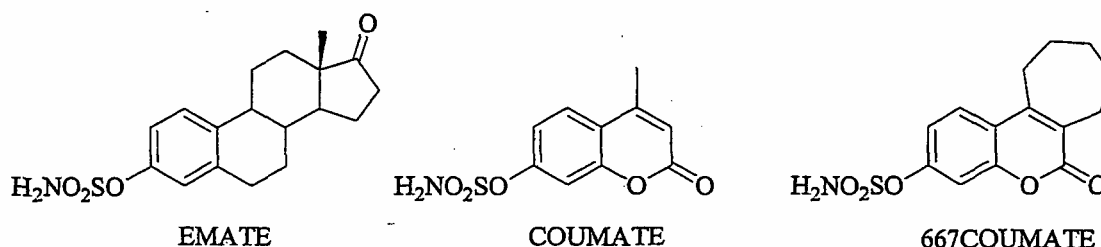
- 5 En la ruta de la sulfatasa, los estrógenos se sintetizan a partir del precursor sulfato de estrona muy disponible, mediante dos enzimas (esquema a continuación): la estrona sulfatasa (STS) que hidroliza el sulfato de estrona en la estrona y la 17β-hidroxiesteroide deshidrogenasa (17β-HSD) que reduce la estrona en el estradiol. Estas dos enzimas representan las últimas dianas para las estrategias de privación de estrógeno.



10 Origen de estrógenos en células de mama normales y tumorales. AR, aromatasa; ST: sulfotransferasa esteroidea; STS, sulfatasa esteroidea; 17β-HSD, 17β-hidroxiesteroide deshidrogenasa; 3β-IS, 3β-hidroxiesteroide deshidrogenasa Δ<sup>5</sup>, Δ<sup>4</sup>-isomerasa; ER, receptor de estrógeno.

15 Se han identificado varios inhibidores potentes para la estrona sulfatasa. Todos ellos comparten la característica estructural común de un anillo aromático que porta un sustituyente que imita el anillo A fenólico del sustrato enzimático, el sulfato de estrona. En el desarrollo de los inhibidores esteroideos, se ha introducido en C3 una amplia diversidad de grupos químicos, encontrándose que, de los mismos, el 3-O-sulfamato era el más potente para la molécula de estrona. El compuesto resultante, 3-O-sulfamato de estrona (a continuación) condujo a la identificación de la estructura de O-sulfamato de arilo como un farmacóforo activo requerido para la inhibición potente de STS. Se demostró que EMATE inhibe la actividad de la sulfatasa esteroidea en función del tiempo y de la concentración<sup>17</sup> y que era activa *in vivo* mediante administración por vía oral.<sup>18</sup> Sin embargo, se reveló que era muy estrógeno, lo que aumentaba la necesidad de diseñar inhibidores STS que carezcan de actividad agonística sobre el hER.

25 Para evitar los problemas relacionados con un núcleo esteroide activo, se han sintetizado inhibidores basados en no esteroides. Los sulfamatos de cumarina tales como el 7-O-sulfamato de 4 -metilcumarina (COUMATE, a continuación), en el que se conserva el farmacóforo activo, se han encontrado entre los primeros inhibidores de este tipo que se han identificado.<sup>19</sup> Aunque COUMATE es menos potente que EMATE, tiene la ventaja de no ser estrógeno.<sup>20</sup> Se han desarrollado algunos sulfamatos basados en cumarina tricíclicos que han resultado ser mucho más potentes que COUMATE, aunque conservando su característica no estrógena.<sup>21</sup> 667COUMATE, que es unas 3 veces más potente *in vitro* que el EMATE está actualmente en desarrollo preclínico para ensayos clínicos.<sup>22</sup>



35 Estructuras de los inhibidores de sulfatasa esteroidea EMATE, COUMATE y 667COUMATE.

40 El documento PCT/GB92/01587 da a conocer nuevos inhibidores de sulfatasa esteroidea y composiciones farmacéuticas que los contienen para su uso en el tratamiento de tumores dependientes de estrona, especialmente el cáncer de mama. Estos inhibidores de sulfatasa esteroideas son ésteres de sulfamato, tales como 3-sulfamato de N,N-dimetilestrona y, preferentemente, 3-sulfamato de estrona (EMATE). Se sabe que el EMATE es un potente inhibidor de E1-STS ya que presenta más del 99% de inhibición de la actividad de E1-STS en células MCF-7 intactas a una concentración 0,1 mM. El EMATE también inhibe la enzima E1-STS en función del tiempo y de la

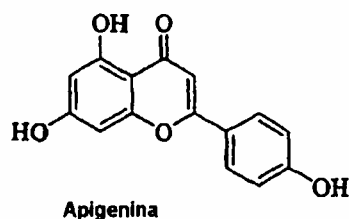
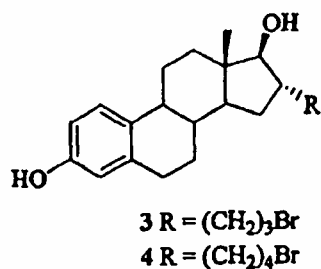
concentración, lo que indica que actúa como un inactivador dirigido al sitio activo. Aunque el EMATE se diseñó originalmente para la inhibición de E1-STS, también inhibe la deshidroepiandrosterona sulfatasa (DHA-STS), que es una enzima que se cree que tiene un papel esencial en la regulación de la biosíntesis del esteroide estrógeno androstenediol. Asimismo, no existen pruebas que sugieran que el androstenediol puede tener una importancia incluso mayor como promotor del crecimiento del tumor de mama. El EMATE es también activo *in vivo* ya que produjo la inhibición casi completa de las actividades de E1-STS (99 %) y de DHA-STS (99 %) en el hígado de ratas cuando se administra por vía oral o por vía subcutánea. Además, se ha demostrado que el EMATE tiene una memoria que potencia los efectos en ratas. Los estudios en ratones han sugerido una asociación entre la actividad de DHA-STS y la regulación de parte de la respuesta inmunitaria. Se cree que ésta puede también tener lugar en seres humanos. El átomo de O de puente del resto de sulfamato en EMATE es importante para la actividad inhibidora. Por lo tanto, cuando el átomo de O en la posición 3 se sustituye por otros heteroátomos como en el 3-N-sulfamato de estrona y 3-S-sulfamato de estrona, estos análogos son inactivadores más débiles independientes del tiempo.

Aunque la potencia óptima para la inhibición de E1-STS puede haberse logrado en EMATE, es posible que la estrona pueda liberarse durante la inhibición de la sulfatasa y que el EMATE y su congénere estradiol puedan poseer actividad estrógena.

17 $\beta$ -HSD, que cataliza la etapa final en la biosíntesis de estrógenos y andrógenos, aparece también como diana para las estrategias de privación de estrógenos. Esta enzima es responsable de la interconversión de la forma oxidada (menos activa) y de la forma reducida (más activa) de los esteroides. Su actividad apoya directamente el crecimiento y desarrollo de tumores dependientes de estrógenos ya que preferentemente reduce la estrona dando estradiol<sup>25</sup> y en menor medida, mediante la conversión del andrógeno DHEA en androstenediol (Adiol), que se ha demostrado recientemente que presenta propiedades estrógenas y que es capaz de unirse al receptor del estrógeno.<sup>26</sup>

17 $\beta$ -HSD pertenece a una familia de isoenzimas, 11 de las cuales se han identificado y clonado hasta la fecha.<sup>27</sup> Cada tipo presenta una afinidad selectiva al sustrato y una actividad direccional que significa que se ha conseguido la selectividad de la acción del fármaco. El tipo 1 de 17 $\beta$ -HSD es el isotipo que cataliza la interconversión de estrona y estradiol.

A diferencia de inhibidores de STS, se ha informado solamente de unos pocos inhibidores de 17 $\beta$ -HSD. La mayoría de los inhibidores esteroideos para 17 $\beta$ -HSD de tipo 1 tienen en común una estructura modificada del anillo D. Se ha demostrado que los derivados de estradiol que contienen una cadena lateral con un grupo saliente bueno en la posición 16 $\alpha$  son una clase potente de inhibidores. En particular, se ha observado que 16 $\alpha$ -(bromoalquil)-estradiol<sup>28</sup> en el que las cadenas laterales presentan gran reactividad frente a los residuos de aminoácidos nucleófilos en el sitio activo de la enzima eran inhibidores irreversibles prometedores. Los análogos que contienen restos cortos de bromoalquilo en la posición 16 muestran la actividad más elevada con 16 $\alpha$ -(bromopropil)-estradiol, seguido de 16 $\alpha$ -(bromobutil)-estradiol, el más potente de la serie (3 y 4). Ellos, sin embargo, resultaron ser agonistas puros del receptor del estrógeno.



Inhibidores 17 $\beta$ -HSD de tipo 1: 16 $\alpha$ -(bromopropil)-estradiol, 3;

16 $\alpha$ -(bromopropil)-estradiol, 4 y un derivado de flavona, apigenina.

En un esfuerzo por eliminar la estrogenicidad intrínseca de inhibidores potentes y, posiblemente, modificar al mismo tiempo las propiedades antiestrógenas en la molécula, se sintetizaron varios derivados de 16 $\alpha$ -(ampliamente)-estradiol que portan la cadena lateral de C7 $\alpha$ -alquilamida del antiestrógeno conocido ICI 164384.<sup>29</sup> Sin embargo, se obtuvo una inhibición bastante escasa de 17 $\beta$ -HSD de tipo 1, con propiedades estrógenas y antiestrógenas no anuladas o introducidas por completo respectivamente.

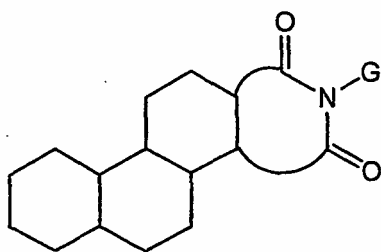
En paralelo, se han diseñado inhibidores no esteroideos de 17 $\beta$ -HSD de tipo 1. Los flavonoides que son estructuralmente similares a los estrógenos, son capaces de unirse al receptor del estrógeno con actividades

estrógenas o antiestrógenas.<sup>30</sup> Su acción sobre la actividad de la aromatasa está bien documentada y en estudios recientes se observó que reducen la conversión de estrona en estradiol catalizada por 17 $\beta$ -HSD de tipo I.<sup>31</sup> Los derivados de flavona, tales como la apigenina (figura 6) surgieron en un estudio de SAR como compuestos prometedores con alguna actividad inhibitora sobre 17 $\beta$ -HSD de tipo I sin ser estrógenos a la concentración inhibitora.<sup>32</sup>

Ahmed y col. (Biochem. Biophys. Res. Commun. 27 de enero 1997; 254(3):811-5) describen un estudio relacionado con la actividad de la estructura de inhibidores esteroideos y no esteroideos de STS.

- 10 Las deshidrogenasas esteroideas (DH) tales como las estradiol 17 $\beta$ -hidroxiesteroide deshidrogenasas (E2HSD) tienen papeles clave en la regulación de la disponibilidad de los ligandos para interactuar con el receptor del estrógeno. E2HSD de tipo I reduce la estrona (E1) a estrógeno biológicamente activo, estradiol (E2), mientras que E2HSD de tipo II inactiva E2 catalizando su oxidación a E1. Por lo tanto, la identificación de compuestos con actividad inhibitora de DH, en particular inhibidores de E2HSD de tipo I, podrían tener valor terapéutico en la
- 15 inhibición de la formación de E2.

El documento WO 03/033518 divulga compuestos de la fórmula



- 20 en la que G es H o un sustituyente. Los compuestos tienen actividad como, entre otras cosas, inhibidores de la sulfatasa esteroidea.

### Aspectos resumidos de la presente invención

- 25 La presente invención proporciona compuestos novedosos que son capaces de actuar como inhibidores eficaces de sulfatasa esteroidea. La presente invención identifica los compuestos de la presente solicitud como inhibidores eficaces de sulfatasa esteroidea.

- 30 La figura 1 presenta algunas de las enzimas implicadas en la síntesis *in situ* de estrona a partir de sulfato de estrona y estradiol. "STS" indica estrona sulfatasa, "E2DH de tipo I" indica estradiol 17 $\beta$ -hidroxiesteroide deshidrogenasa de tipo I o estradiol 17 $\beta$ -hidroxiesteroide deshidrogenasa de tipo 1, 3, 5 y/o 7 y "E2DH de tipo II" indica estradiol 17 $\beta$ -hidroxiesteroide deshidrogenasa de tipo II o estradiol 17 $\beta$ -hidroxiesteroide deshidrogenasa de tipo 2 y/o 8.

- 35 Como puede observarse, dos enzimas que están implicadas en la síntesis periférica de estronas son la enzima estradiol 17 $\beta$ -hidroxiesteroide deshidrogenasa y la enzima estrona sulfatasa.

- Se cree que la síntesis *in situ* del estrógeno realiza una importante contribución a los niveles elevados de estrógenos en los tumores y, por lo tanto, los inhibidores específicos de la biosíntesis del estrógeno son de valor potencial para
- 40 el tratamiento de tumores dependientes del sistema endocrino.

Además, incluso aunque la formación de estrógeno en la mama con tumor maligno y los tejidos endometriales por medio de la ruta de la sulfatasa realiza una contribución principal a la concentración elevada de estrógenos, existen aún otras rutas enzimáticas que contribuyen a la síntesis *in vivo* del estrógeno.

- 45 Por lo tanto, existe la necesidad urgente de desarrollar nuevas terapias para el tratamiento de estos cánceres.

La presente invención, por lo tanto, pretende superar uno o más de los problemas asociados a los procedimientos de la técnica anterior de tratamiento de cánceres de mama y de endometrio.

- 50 En un aspecto, por lo tanto, la presente invención proporciona el uso de un compuesto para la preparación de un medicamento que puede afectar, tal como inhibir sustancialmente, la ruta de la estrona sulfatasa (cuya ruta convierte la estrona en estradiol y a la inversa) y/o afectan, tal como inhiben sustancialmente, a la ruta de la esteroide deshidrogenasa, cuya ruta convierte la estrona en estradiol y a la inversa.

55

Este aspecto de la presente invención es ventajoso porque mediante la administración de un tipo de compuesto es posible bloquear la síntesis de estradiol a partir de estrona o E1S. Por consiguiente, la presente invención proporciona compuestos que tienen ventajas terapéuticas considerables, particularmente para tratar los cánceres de mama y de endometrio.

5

**Aspectos detallados de la presente invención**

Según un aspecto de la presente invención, se proporciona la reivindicación 1.

10 Según un aspecto de la presente invención, se proporciona una composición farmacéutica que comprende la reivindicación 1, mezclado con un vehículo, diluyente, excipiente o coadyuvante farmacéuticamente aceptables.

Según un aspecto de la presente invención, se proporciona la reivindicación 1, para su uso en medicina.

15 Según un aspecto de la presente invención, se proporciona el uso de la reivindicación 1, en la fabricación de un medicamento para su uso en la terapia de una afección o enfermedad asociada con sulfatasa esteroidea (STS).

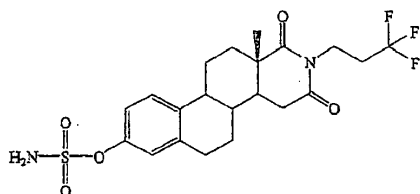
Según un aspecto de la presente invención, se proporciona el uso de la reivindicación 1, en la fabricación de un producto farmacéutico para la inhibición de la actividad de sulfatasa esteroidea (STS).

20

Para facilitar la referencia, estos y otros aspectos de la presente invención se discuten ahora en las cabeceras de las secciones apropiadas. No obstante, las enseñanzas de cada sección no se limitan necesariamente a cada sección particular.

25 Aspectos preferentes

Un compuesto muy preferente tiene la fórmula



30

o una forma de sal o de éster farmacéuticamente aceptable del mismo.

GRUPO G

35 El grupo G tiene la fórmula -A-B, en la que A es un grupo alquileo lineal, ramificado o cíclico de 1 a 9 átomos de carbono y B es un grupo de la fórmula  $-(CF_2)_mCF_3$  en la que m es 0 o un número entero de 1 a 9. Preferentemente, B tiene un átomo de carbono. Preferentemente, A es un grupo de la fórmula  $-(CH_2)_n-$  en la que n es un número entero de 1 a 9. Preferentemente, A tiene dos átomos de carbono.

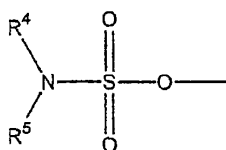
40 Preferentemente, el grupo G tiene la fórmula  $-(CH_2)_n(CF_2)_mCF_3$  en la que n es un número entero de 1 a 9, m es 0 o un número entero de 1 a 9. Preferentemente, n+m se encuentra entre 1 y 10. Preferentemente, n es 2. Preferentemente, m es 0.

Del modo más preferentemente, el grupo G es 3,3,3-trifluoropropil( $-CH_2CH_2CF_3$ ).

45

GRUPO R<sup>1</sup>

R<sup>1</sup> es un grupo sulfamato de la fórmula



50

En algunos aspectos de la presente invención, preferentemente R<sup>4</sup> y R<sup>5</sup> son H.

Aspectos adicionales

55

Según un aspecto de la presente invención, se proporciona un compuesto según la presente invención para su uso

en medicina.

5 Según un aspecto de la presente invención, se proporciona una composición farmacéutica que comprende el compuesto según la presente invención opcionalmente mezclado con un vehículo, diluyente, excipiente o coadyuvante farmacéuticamente aceptable.

10 Según un aspecto de la presente invención, se proporciona el uso de un compuesto según la presente invención para la fabricación de un medicamento para su uso en la terapia de una afección o enfermedad relacionada con STS.

Según un aspecto de la presente invención, se proporciona el uso de un compuesto según la presente invención para la fabricación de un medicamento para su uso en la terapia de una afección o enfermedad relacionada con niveles adversos de STS.

15 En algunas aplicaciones, preferentemente los compuestos no tienen un efecto estrógeno o este es mínimo.

En algunas aplicaciones, preferentemente los compuestos no tienen un efecto estrógeno.

20 En algunas aplicaciones, preferentemente los compuestos tienen una acción reversible.

En algunas aplicaciones, preferentemente los compuestos tienen una acción irreversible.

En una realización los compuestos de la presente invención son útiles para el tratamiento del cáncer de mama.

25 Los compuestos de la presente invención pueden estar en forma de sal.

30 La presente invención también abarca intermedios novedosos que son útiles para preparar los compuestos de la presente invención. Por ejemplo, la presente invención abarca precursores alcohólicos novedosos para los compuestos. A modo de ejemplo adicional, la presente invención abarca precursores bioprotectidos para los compuestos. En el presente documento se presentan ejemplos de cada uno de estos precursores. La presente invención también comprende un procedimiento que comprende cada uno de, o todos, estos precursores para la síntesis de los compuestos de la presente invención.

35 También hemos identificado que en algunos aspectos de la presente invención los presentes compuestos pueden inhibir también la actividad de la esteroide deshidrogenasa (HSD).

Por esteroide deshidrogenasa o HSD se quiere decir  $17\beta$  hidroxisteroide deshidrogenasa. En un aspecto la  $17\beta$  hidroxisteroide deshidrogenasa es EC 1.1.1.62.

40 Preferentemente, la HSD es del tipo 1, 3, 5 y/o 7. Preferentemente, la HSD convierte la estrona (cetona) en estradiol (hidroxilo).

45 Preferentemente la HSD es del tipo 2 y/u 8. Preferentemente, la HSD convierte el estradiol (hidroxilo) en estrona (cetona).

Por lo tanto, en aspectos adicionales la presente invención proporciona:

50 • El uso de un compuesto de la presente invención para la fabricación de un medicamento para su uso en la terapia de una afección o enfermedad asociada con la esteroide deshidrogenasa.

• El uso de un compuesto de la presente invención para la fabricación de un medicamento para su uso en la terapia de una afección o enfermedad asociada con niveles adversos de esteroide deshidrogenasa.

55 • El uso de un compuesto de la presente invención para la fabricación de un producto farmacéutico para inhibir la actividad de la esteroide deshidrogenasa.

• El uso de un compuesto de la presente invención para la fabricación de un producto farmacéutico para inhibir la actividad de la esteroide deshidrogenasa.

60 En algunos aspectos de la presente invención, es preferente que la esteroide deshidrogenasa sea esteroide deshidrogenasa de tipo I.

En algunos aspectos de la presente invención, es preferible que la esteroide deshidrogenasa sea esteroide deshidrogenasa de tipo II.

65 Preferentemente, la HSD es del tipo 1, 3, 5 y/o 7. Preferentemente, la HSD convierte la estrona (cetona) en estradiol



(hidroxilo).

Preferentemente, la HSD es del tipo 2 y/u 8. Preferentemente, la HSD convierte el estradiol (hidroxilo) en estrona (cetona).

5

#### Algunas ventajas

Una ventaja clave de la presente invención es que los compuestos de la presente invención pueden actuar como inhibidores de STS.

10

Otra ventaja de los compuestos de la presente invención consiste en que pueden ser potentes *in vivo*.

Algunos de los compuestos de la presente invención pueden ser compuestos no estrógenos. En el presente documento, la expresión "no estrógeno" significa que no presentan ninguna actividad o sustancialmente ninguna actividad estrógena.

15

Otra ventaja consiste en que algunos de los compuestos pueden no ser capaces de ser metabolizados a compuestos que muestran o inducen actividad hormonal.

20

Algunos de los compuestos de la presente invención presentan también ventajas porque pueden ser activos cuando se administran por vía oral.

Algunos de los compuestos de la presente invención tienen una duración de la acción mejorada *in vivo* en comparación con inhibidores de STS conocidos.

25

Algunos de los compuestos de la presente invención pueden ser útiles para el tratamiento del cáncer, tal como el cáncer de mama, así como (o como alternativa) afecciones no malignas, tales como la prevención de enfermedades autoinmunitarias, particularmente cuando los productos farmacéuticos pueden necesitar administrarse desde una temprana edad.

30

Por lo tanto, se cree también que algunos de los compuestos de la presente invención tienen usos terapéuticos diferentes del tratamiento de los cánceres dependientes del sistema endocrino, tal como el tratamiento de enfermedades autoinmunitarias.

35

#### Sulfatasa esteroidea

La sulfatasa esteroidea, que se denomina a veces sulfatasa esteroidea o esteril sulfatasa o "STS" para abreviar, hidroliza varios esteroides sulfatados, tales como el sulfato de estrona, el sulfato de deshidroepiandrosterona y el sulfato de colesterol. A la STS se le ha asignado el número de enzima EC 3.1.6.2.

40

La STS se ha clonado y expresado. Por ejemplo, véase Stein y col. (J. Biol. Chem. 264:13865-13872 (1989) y Yen y col. (Cell 49:443-454 (1987)).

45

La STS es una enzima que se ha implicado en diversas afecciones patológicas.

A modo de ejemplo, los expertos han descubierto que una deficiencia total en STS produce ictiosis. Según algunos investigadores, la deficiencia de STS es bastante común en Japón. Los mismos investigadores (Sakura y col., J. Inherit. Metab. Dis., noviembre de 1997; 20(6):807-10) han informado también que las enfermedades alérgicas, tales como asma bronquial, rinitis alérgica o dermatitis atópica, pueden estar asociadas a una deficiencia de sulfatasa esteroidea.

50

Además de los estados patológicos que están provocados por una carencia total de actividad de STS, un aumento de nivel de la actividad de STS puede provocar también estados patológicos. A modo de ejemplo, y como se indicó anteriormente, existen indicios sólidos que apoyan un papel de STS en el crecimiento y metástasis del cáncer de mama.

55

La STS se ha implicado también en otras afecciones patológicas. A modo de ejemplo, Le Roy y col. (Behav. Genet. Mar. de 1999; 29(2):131-6) han determinado que puede existir una correlación genética entre la concentración de sulfatasa esteroidea y la iniciación del comportamiento atacante en ratones. Los autores concluyen que la sulfatación de los esteroides puede ser el motor principal de una red compleja que incluye los genes que se ha demostrado que están implicados en agresión por mutagénesis.

60

#### Inhibición de STS

Se cree que algunas enfermedades asociadas a la actividad de STS son debidas a la conversión de una estrona sulfatada no activa a una estrona no sulfatada activa. En afecciones patológicas asociadas a la actividad de STS,

65

sería deseable inhibir la actividad de STS.

En el presente documento, el término "inhibe" incluye reduce y/o elimina y/o enmascara y/o impide la acción perjudicial de STS.

5

#### Inhibidor de STS

Según la presente invención, el compuesto de la presente invención es capaz de actuar como un inhibidor de STS.

10 En el presente documento, el término "inhibidor", tal como se utiliza en el presente documento con respecto al compuesto de la presente invención significa un compuesto que puede inhibir la actividad de STS, tal como reducir y/o eliminar y/o enmascarar y/o impedir la acción perjudicial de STS. El inhibidor de STS puede actuar como antagonista.

15 La capacidad de los compuestos para inhibir la actividad de la estrona sulfatasa puede evaluarse utilizando bien células MCF-7 intactas de cáncer de mama o bien microsomas de placenta. Además, puede usarse un modelo animal. En las siguientes secciones se presentan detalles de los protocolos de ensayo adecuados. Debe indicarse que podrían usarse otros ensayos para determinar la actividad de STS y por lo tanto la inhibición de STS. Por ejemplo, puede hacerse referencia también a las enseñanzas del documento WO-A-99/50453.

20

Preferentemente, para algunas aplicaciones, el compuesto se caracteriza además por la característica de que si el grupo sulfamato tuviera que reemplazarse por un grupo sulfato para formar un derivado de sulfato, entonces el derivado de sulfato sería hidrolizable por una enzima que tuviera actividad de sulfatasa esteroidea (E.C. 3.1.6.2), es decir cuando se incubara con sulfatasa esteroidea EC 3.1.6.2 a pH 7,4 y 37 °C.

25

En una realización preferente, si el grupo sulfamato del compuesto tuviera que reemplazarse por un grupo sulfato para formar un compuesto de sulfato entonces el compuesto de sulfato sería hidrolizable por una enzima que tuviera actividad de sulfatasa esteroidea (E.C. 3.1.6.2) y proporcionaría un valor de Km inferior a 200 mmolar, preferentemente inferior a 150 mmolar, preferentemente inferior a 100 mmolar, preferentemente inferior a 75 mmolar, preferentemente inferior a 50 mmolar, cuando se incubara con sulfatasa esteroidea EC 3.1.6.2 a pH 7,4 y 37 °C.

30

En una realización preferida, si el grupo sulfamato del compuesto tuviera de reemplazarse por un grupo sulfato para formar un compuesto de sulfato entonces el compuesto de sulfato sería hidrolizable por una enzima que presentara actividad de sulfatasa esteroidea (E.C. 3.1.6.2) y proporcionaría un valor de Km inferior a 200 μmolar, preferentemente inferior a 150 μmolar, preferentemente inferior a 100 μmolar, preferentemente inferior a 75 μmolar, preferentemente inferior a 50 μmolar, cuando se incubara con sulfatasa esteroidea EC 3.1.6.2 a pH 7,4 y 37 °C.

35

En una forma de realización preferida, el compuesto de la presente invención no es hidrolizable por una enzima que tenga actividad de sulfatasa esteroidea (E.C. 3.1.6.2).

40

Para algunas aplicaciones, preferentemente el compuesto de la presente invención tiene una selectividad de por lo menos aproximadamente 100 veces con respecto a la diana deseada (por ejemplo STS), preferentemente una selectividad de por lo menos aproximadamente 150 veces con respecto a la diana deseada, preferentemente una selectividad de por lo menos aproximadamente 200 veces con respecto a la diana deseada, preferentemente una selectividad de por lo menos aproximadamente 250 veces con respecto a la diana deseada, preferentemente una selectividad de por lo menos aproximadamente 300 veces con respecto a la diana deseada, preferentemente una selectividad de por lo menos aproximadamente 350 veces con respecto a la diana deseada.

45

50 Debe indicarse que el compuesto de la presente invención puede tener otras propiedades beneficiosas además de su capacidad para inhibir la actividad de DH o como alternativa a la misma.

#### Esteroides deshidrogenasa

55 La esteroide deshidrogenasa o "DH" en abreviatura puede clasificarse en dos tipos, tipo I y tipo II. Los dos tipos de enzima, como estradiol 17β-hidroxiesteroide deshidrogenasas (E2HSD), tienen papeles clave en la regulación de la disponibilidad de los ligandos para interactuar con el receptor de estrógeno. El tipo I reduce la estrona (E1) dando estrógeno biológicamente activo, estradiol (E2) mientras que E2HSD de tipo II inactiva E2 catalizando su oxidación a E1.

60

#### Inhibición de DH

Se cree que algunas enfermedades asociadas a la actividad de DH son debidas a la conversión de una estrona no activa en un estradiol activo. En las afecciones patológicas asociadas con la actividad de DH, sería deseable inhibir la actividad de DH.

65

En el presente documento, el término “inhibir” incluye reducir y/o eliminar y/o impedir la acción perjudicial de DH.

#### Inhibidor de DH

5 Según la presente invención, el compuesto de la presente invención es capaz de actuar como inhibidor de DH.

En el presente documento, el término “inhibidor”, tal como se usa en el presente documento con respecto al compuesto de la presente invención significa un compuesto que puede inhibir la actividad de DH, tal como reducir y/o eliminar y/o enmascarar y/o impedir la acción perjudicial de DH. El inhibidor de DH puede actuar como antagonista.

La capacidad de los compuestos para inhibir la actividad de la esteroide deshidrogenasa puede evaluarse usando bien células T47D de cáncer de mama en las que la actividad de E2HSD de tipo I es abundante o bien células MDA-MB-231 para estudios con inhibidor de tipo II. En ambas líneas celulares la formación de productos es lineal con respecto al tiempo y al número de células. En la sección de Ejemplos se presentan detalles sobre un protocolo de ensayo adecuado.

Debe indicarse que el compuesto de la presente invención puede tener otras propiedades beneficiosas además de su capacidad para inhibir la actividad de STS o como alternativa a la misma.

#### Grupo sulfamato

El grupo sulfamato tiene la fórmula:

25  $(R^4)(R^5)N-S(O)(O)-O-$

en la que  $R^4$  y  $R^5$  se seleccionan independientemente de entre H, alquilo que contiene un máximo de 10 átomos de carbono, cicloalquilo que comprende un máximo de 10 átomos de carbono, alqueno que contiene un máximo de 10 átomos de carbono y arilo que contiene un máximo de 10 átomos de carbono, o combinaciones de los mismos, en la que el o cada alquilo o cicloalquilo o alqueno opcionalmente contienen uno o más heteroátomos y en la que al menos uno de  $R^4$  y  $R^5$  es H.

Cuando están sustituidos, los compuestos N-sustituidos de la presente invención pueden contener un sustituyente de N-alquilo, N-alqueno, N-cicloalquilo o N-arilo, que contienen preferentemente o que contiene cada uno un máximo de 10 átomos de carbono. Cuando  $R^4$  y/o  $R^5$  es alquilo, los valores preferentes son aquellos en los que  $R^4$  y  $R^5$  se seleccionan cada uno independientemente de entre los grupos alquilo inferior que contienen de 1 a 6 átomos de carbono, es decir metilo, etilo, propilo, etc.  $R^4$  o  $R^5$  pueden ser metilo. Cuando  $R^4$  y/o  $R^5$  es arilo, los valores típicos son fenilo y toliolo ( $PhCH_3$ ; o). Cuando  $R^4$  y  $R^5$  representan cicloalquilo, los valores típicos son ciclopropilo, ciclopentilo, ciclohexilo, etc.

Al menos uno de  $R^4$  y  $R^5$  es H.

En algunas realizaciones más preferentes, cada uno de  $R^4$  y  $R^5$  es H.

#### 45 Ensayo para la determinación de la actividad de STS usando células cancerosas (protocolo 1)

Inhibición de la actividad de sulfatasa esteroidea en células MCF-7

La actividad de la sulfatasa esteroidea se mide *in vitro* usando células MCF-7 intactas de cáncer de mama humano. Esta línea celular dependiente de hormonas se usa ampliamente para estudiar el control del crecimiento de las células de cáncer de mama humano. Posee actividad significativa de sulfatasa esteroidea (MacIndoe y col., *Endocrinology*, 123, 1281-1287 (1988); Purohit y Reed, *Int. J. Cancer*, 50, 901-905 (1992)) y está disponible en los Estados Unidos en la American Type Culture Collection (ATCC) y en el Reino Unido (por ejemplo en The Imperial Cancer Research Fund).

Las células se mantienen en Medio esencial mínimo (MEM) (Flow Laboratories, Irvine, Escocia) que contiene HEPES 20 mM, suero de ternero fetal al 5 %, glutamina 2 mM, aminoácidos no esenciales y bicarbonato de sodio al 0,075 %. Hasta 30 matraces de cultivo de tejido de 25 cm<sup>2</sup> replicados se siembran con aproximadamente  $1 \times 10^5$  células/matraz usando el medio anterior. Las células se cultivan a una confluencia del 80 % y el medio se cambia cada tres días.

Las monocapas intactas de células MCF-7 en matraces de cultivo de tejido de 25 cm<sup>2</sup> por triplicado se lavan con solución salina equilibrada de Eagle (EBSS de ICN Flow, High Wycombe, Reino Unido) y se incuban durante 3 a 4 horas a 37 °C con 5 pmol ( $7 \times 10^5$  dpm) de 3-sulfato de [6,7-<sup>3</sup>H]estrona (actividad específica 60 Ci/moles de New England Nuclear, Boston, Mass., Estados Unidos) en MEM exento de suero (2,5 ml) junto con 3-sulfamato de estrona (11 concentraciones: 0; 1 fM; 0,01 pM; 0,1 pM; 1 pM; 0,01 nM; 0,1 nM; 1 nM; 0,01 mM; 0,1 mM; 1 mM). Tras

la incubación cada matraz se enfría y el medio (1 ml) se pipetea en tubos separados que contienen [14C]estrona (7 × 103 dpm) (actividad específica 97 Ci/moles de Amersham International Radiochemical Centre, Amersham, Reino Unido). La mezcla se agita vigorosamente durante 30 segundos con tolueno (5 ml). Los experimentos han mostrado que > 90 % de [14C]estrona y < 0,1 % de 3-sulfato de [3H]estrona se elimina de la fase acuosa mediante este tratamiento. Una porción (2 ml) de la fase orgánica se retira, se evapora y el contenido de 3H y de 14C del residuo se determina por espectrometría de centelleo. Se calculó la masa de 3-sulfato de estrona hidrolizado a partir de los recuentos de 3H obtenidos (corregidos para los volúmenes del medio y de la fase orgánica usada y para recuperación de la [14C]estrona añadida) y la actividad específica del sustrato. Cada lote de experimentos incluye incubaciones de microsomas preparadas a partir de placenta humana positiva a sulfatasa (control positivo) y matraces sin células (para evaluar la hidrólisis no enzimática aparente del sustrato). Se determina el número de núcleos de células por matraz usando un contador Coulter después del tratamiento de las monocapas celulares con zaponina. Se usa un matraz de cada lote para evaluar el estado de la membrana celular y la viabilidad usando el procedimiento de exclusión con azul de tripano (Phillips, H.J. (1973) en: Tissue culture and applications, [eds: Kruse, D.F. y Patterson, M.K.]; págs. 406-408; Academic Press, Nueva York).

Los resultados de la actividad de la sulfatasa esteroidea se expresan como la media ± 1 D.T.. del producto total (estrona + estradiol) formado durante el periodo de incubación (20 horas) calculado para 106 células y, para valores que tienen importancia estadística, como el porcentaje de reducción (inhibición) sobre incubaciones que no contienen 3-sulfato de estrona. Se usó la prueba t de Student desapareada para evaluar la importancia estadística de los resultados.

#### Ensayo para la determinación de la actividad de STS usando microsomas de placenta (protocolo 2)

Inhibición de la actividad de la sulfatasa esteroidea en microsomas de placenta

Una placenta humana positiva a sulfatasa de embarazos a término normal se pica minuciosamente con tijeras y se lava una vez con tampón de fosfato frío (pH 7,4, 50 mM), después se vuelve a suspender en tampón de fosfato frío (5 ml/g de tejido). La homogenización se realiza con un homogenizador Ultra-Turrax usando tres arranques de 10 segundos separados por periodos de enfriamiento de 2 minutos en hielo. Se eliminan los núcleos y los residuos celulares por centrifugación (4 °C) a 2.000 g durante 30 minutos y las porciones (2 ml) del sobrenadante se almacenan a 20 °C. La concentración de proteína de los sobrenadantes se determina por el procedimiento de Bradford (Anal. Biochem., 72, 248-254 (1976)).

Se realizan incubaciones (1 ml) usando una concentración de proteína de 100 mg/ml, concentración del sustrato de 20 mM 3-sulfato de [6,7-3H]estrona (actividad específica 60 Ci/moles de New England Nuclear, Boston, Mass., Estados Unidos) y un periodo de incubación de 20 minutos a 37 °C. Si fuera necesario se usan ocho concentraciones de compuestos: 0 (es decir, referencia); 0,05 mM; 0,1 mM; 0,2 mM; 0,4 mM; 0,6 mM; 0,8 mM; 1,0 mM. Tras la incubación, cada muestra se enfría y el medio (1 ml) se pipeteó en tubos separados que contienen [14C]estrona (7 × 103 dpm) (actividad específica 97 Ci/moles de Amersham International Radiochemical Centre, Amersham, Reino Unido.). La mezcla se agita vigorosamente durante 30 segundos con tolueno (5 ml). Los experimentos han mostrado que > 90 % de [14C] estrona y < 0,1 % de 3-sulfato de [3H]estrona se elimina de la fase acuosa mediante este tratamiento. Una porción (2 ml) de la fase orgánica se retira, se evapora y se determina por espectrometría de centelleo el contenido de 3H y de 14C del residuo. Se calcula la masa de 3-sulfato de estrona hidrolizada a partir de los recuentos de 3H obtenidos (corregidos para los volúmenes del medio y de la fase orgánica usada, y para recuperación de la [14C]estrona añadida) y la actividad específica del sustrato.

#### Modelo animal para ensayo para la determinación de la actividad de STS (protocolo 3)

Inhibición de la actividad de la estrona sulfatasa *in vivo*

Los compuestos de la presente invención pueden estudiarse usando un modelo animal, en particular en ratas ovariectomizadas. En este modelo los compuestos que son estrógenos estimulan el crecimiento uterino.

El compuesto (10 mg/kg/día durante cinco días) se administró por vía oral a ratas, recibiendo otro grupo de animales solamente vehículo (propilenglicol). Otro grupo recibió el compuesto EMATE por vía subcutánea en una cantidad de 10 µg/día durante cinco días. Al final del estudio se obtuvieron muestras de tejido hepático y se analizó la actividad de la estrona sulfatasa utilizando sulfato de 3H estrona como sustrato según se describió anteriormente (véase el documento PCT/GB95/02638).

#### Modelo animal de ensayo para la determinación de la actividad estrógena (protocolo 4)

Carencia de estrogenicidad *in vivo*

Los compuestos de la presente invención pueden estudiarse utilizando un modelo animal, en particular en ratas ovariectomizadas. En este modelo los compuestos que son estrógenos estimulan el crecimiento uterino.

El compuesto (10 mg/kg/día durante cinco días) se administró por vía oral a ratas, recibiendo otro grupo de animales solamente vehículo (propilenglicol). Otro grupo recibió el compuesto estrógeno EMATE por vía subcutánea en una cantidad de 10 µg/día durante cinco días. Al final del estudio se obtuvieron úteros y se pesaron expresándose los resultados en peso uterino/peso corporal total x 100.

5 Los compuestos que no presentan un efecto significativo sobre el crecimiento uterino no son estrógenos.

#### Terapia

10 Los compuestos de la presente invención pueden usarse como agentes terapéuticos, es decir en aplicaciones terapéuticas.

El término "terapia" incluye efectos curativos, efectos de alivio y efectos de prevención.

15 La terapia puede ser en personas o animales, preferentemente animales hembra.

#### Composiciones farmacéuticas

20 En un aspecto, la presente invención proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto según la presente invención y opcionalmente un vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable (incluidas las combinaciones de los mismos).

25 Las composiciones farmacéuticas pueden ser para uso humano o animal en medicina y veterinaria y comprenderán típicamente uno cualquiera o más de entre un diluyente, vehículo o excipiente farmacéuticamente aceptable. Los vehículos o diluyentes aceptables para uso terapéutico son bien conocidos en la técnica farmacéutica y están descritos, por ejemplo, en Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co. (A. R. Gennaro edit. 1985). La elección del vehículo, excipiente o diluyente farmacéutico puede seleccionarse con respecto a la vía de administración deseada y a la práctica farmacéutica normal. Las composiciones farmacéuticas pueden comprender como, o además de, el vehículo, excipiente o diluyente, cualesquiera aglutinante(s), lubricante(s), agente(s) de suspensión, agente(s) de recubrimiento, agente(s) de solubilización adecuado(s).

30 Pueden proporcionarse conservantes, estabilizantes, colorantes e incluso agentes potenciadores de sabor a la composición farmacéutica. Ejemplos de conservantes incluyen benzoato de sodio, ácido sórbico y ésteres del ácido p-hidroxibenzoico. También pueden utilizarse antioxidantes y agentes de suspensión.

35 Pueden existir diferentes requisitos de composición/formulación dependiendo de los diferentes sistemas de administración. A modo de ejemplo, la composición farmacéutica de la presente invención puede formularse para su administración usando una minibomba o por vía de mucosas, por ejemplo, como pulverizador nasal o aerosol para inhalación o solución ingerible, o por vía parenteral, en la que la composición se formula mediante una forma inyectable, para administración, por ejemplo, por vía intravenosa, intramuscular o subcutánea. Como alternativa, la formulación puede diseñarse para su administración por ambas vías.

40 Cuando el agente debe administrarse por vía de mucosas a través de la mucosa gastrointestinal, debería ser capaz de permanecer estable durante el tránsito a través del aparato digestivo; por ejemplo, debería ser resistente a la degradación proteolítica, estable a pH ácido y resistente a los efectos detergentes de la bilis.

45 Cuando sea apropiado, las composiciones farmacéuticas pueden administrarse por inhalación, en forma de supositorio u óvulo vaginal, por vía tópica en forma de loción, solución, crema, pomada o polvos espolvoreables, mediante el uso de un parche cutáneo, por vía oral en forma de comprimidos que contienen excipientes tales como almidón o lactosa, o en cápsulas u óvulos ya sean solos o en mezcla con excipientes, o en forma de elixires, soluciones o suspensiones que contienen agentes potenciadores del sabor o colorantes, o pueden inyectarse por vía parenteral, por ejemplo por vía intravenosa, intramuscular o subcutánea. Para la administración parenteral, las composiciones pueden usarse mejor en forma de solución acuosa estéril que puede contener otras sustancias, por ejemplo suficientes sales o monosacáridos para hacer la solución isotónica con la sangre. Para la administración bucal o sublingual las composiciones pueden administrarse en forma de comprimidos o pastillas para chupar que pueden formularse de manera convencional.

#### Combinación farmacéutica

60 El compuesto de la presente invención puede usarse en combinación con uno o más de otros agentes activos, tal como uno u más de otros agentes farmacéuticamente activos.

65 A modo de ejemplo, los compuestos de la presente invención pueden usarse en combinación con otros inhibidores de STS y/o otros inhibidores tales como un inhibidor de aromatasa (tal como por ejemplo, 4-hidroxiandrostenediona (4-OHA)) y/o esteroides, tales como los esterneuroesteroides naturales sulfato de deshidroepiandrosterona (DHEAS) y sulfato de pregnenolona (PS) y/o otros compuestos orgánicos estructuralmente similares. Ejemplos de

otros inhibidores de STS pueden encontrarse en las referencias anteriores. A modo de ejemplo, los inhibidores de STS para su uso en la presente invención incluyen EMATE, y uno de los dos o ambos compuestos 2-etil y 2-metoxi 17-desoxi que son análogos al compuesto 5 presentado en el presente documento.

- 5 Además, o como alternativa, el compuesto de la presente invención puede usarse en combinación con un modificador de la respuesta biológica.

La expresión modificador de la respuesta biológica ("BRM") comprende citocinas, moduladores inmunitarios, factores de crecimiento, factores reguladores de la hematopoyesis, factores estimulantes de colonias, factores quimiotácticos, hemolíticos y trombolíticos, receptores de la superficie celular, ligandos, moléculas de adhesión a leucocitos, anticuerpos monoclonales, vacunas preventivas y terapéuticas, hormonas, componentes de la matriz extracelular, fibronectina, etc. Para algunas aplicaciones, preferentemente, el modificador de la respuesta biológica es una citocina. Ejemplos de citocinas incluyen: interleucinas (IL), tales como IL-1, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-11, IL-12, IL-19; factor de necrosis tumoral (TNF), tal como TNF- $\alpha$ ; Interferón alfa, beta y gamma; TGF- $\beta$ . Para algunas aplicaciones, la citocina es preferentemente el factor de necrosis tumoral (TNF). En algunas aplicaciones, el TNF puede ser cualquier tipo de TNF, tal como TNF- $\alpha$ , TNF- $\beta$ , incluidos los derivados o mezclas de los mismos. Más preferentemente la citocina es TNF- $\alpha$ . Las directrices sobre TNF pueden encontrarse en la técnica, como el documento WO-A-98/08870 y el documento WO-A-98/13348.

## 20 Administración

Típicamente, un médico determinará la dosis real que será la más adecuada para cada paciente y variará con la edad, peso y respuesta del paciente individual. Las dosificaciones siguientes son ejemplos del caso promedio. Pueden, desde luego, existir casos individuales en los que sean necesarios intervalos de dosificación mayores o menores.

Las composiciones de la presente invención pueden administrarse por inyección directa. La composición puede formularse para administración parenteral, por mucosas, intramuscular, intravenosa, subcutánea, intraocular o transdérmica. Dependiendo de la necesidad, el agente puede administrarse a una dosis comprendida entre 0,01 y 30 mg/kg de peso corporal, tal como entre 0,1 y 10 mg/kg, más preferentemente entre 0,1 y 1 mg/kg de peso corporal.

A modo de ejemplo adicional, los agentes de la presente invención pueden administrarse según un régimen de 1 a 4 veces al día, preferentemente una a dos veces al día. El nivel de la dosis específica y la frecuencia de dosificación para cualquier paciente particular puede variarse y dependerá de una variedad de factores que comprenden la actividad del compuesto específico usado, la estabilidad metabólica y la amplitud de acción de este compuesto, la edad, peso corporal, salud general, sexo, dieta, modo y tiempo de administración, velocidad de excreción, combinación farmacéutica, la gravedad de la enfermedad concreta y la terapia a la que está sometido el huésped.

Aparte de los modos típicos de administración, indicados anteriormente, el término "administrado" también comprende la administración por técnicas tales como transfección mediada por lípidos, liposomas, inmunoliposomas, lipofectina, anfóteros faciales catiónicos (CFA) y combinaciones de los mismos. Las vías para dichos mecanismos de administración incluyen, pero sin limitación, las vías a través de las mucosas, vía nasal, oral, parenteral, gastrointestinal, tópica o sublingual.

El término "administrado" incluye pero no se limita a la administración por vía de las mucosas, por ejemplo, como atomizador nasal o aerosol para inhalación o como solución ingerible; una vía parenteral en la que la administración es mediante una forma inyectable, tal como, por ejemplo, una vía intravenosa, intramuscular o subcutánea.

Por lo tanto, para la administración farmacéutica, los inhibidores de STS de la presente invención pueden formularse en cualquier manera adecuada que use técnicas de formulación farmacéutica convencionales y vehículos, coadyuvantes, excipientes, diluyentes farmacéuticos, etc. y habitualmente para administración parenteral. Las tasas de dosis eficaces aproximadas pueden estar comprendidas en el intervalo de entre 1 y 1.000 mg/día, tal como entre 10 y 900 mg/día o incluso de 100 a 800 mg/día, dependiendo de las actividades individuales de los compuestos en cuestión y para un paciente de peso corporal promedio (70 kg). Cantidades de dosificación más habituales para los compuestos preferentes y más activos estarán comprendidas en el intervalo de entre 200 y 800 mg/día, más preferentemente 200 a 500 mg/día, del modo más preferente entre 200 y 250 mg/día. Pueden administrarse en regímenes de dosis unidad, regímenes de dosis divididas y/o en regímenes de dosis múltiples que duran varios días. Para la administración por vía oral pueden formularse en comprimidos, cápsulas, solución o suspensión que contiene entre 100 y 500 mg del compuesto por dosis unidad. Como alternativa y preferentemente, los compuestos se formularán para administración por vía parenteral en un vehículo adecuado administrable por vía parenteral y para proporcionar cantidades de dosis unidad diarias comprendidas en el intervalo de 200 a 800 mg, preferentemente de 200 a 500, más preferentemente de 200 a 250 mg. Dichas dosis diarias eficaces variarán, sin embargo, dependiendo de la actividad inherente del ingrediente activo y del peso corporal del paciente, estando dichas variaciones dentro de la experiencia y criterio del médico.

Frecuencia de dosificación baja

Según un aspecto muy preferentemente, los compuestos de la invención pueden administrarse en un régimen de dosificación que es menos frecuente que diariamente. Sorprendentemente, se ha hallado que los compuestos de la invención muestran una duración de la acción extraordinaria en comparación con inhibidores de sulfatasa esteroidea conocidos.

En consecuencia, la invención proporciona un procedimiento de administración de un compuesto de la invención que comprende un esquema de dosificación continuo que tiene un intervalo de dosificación seleccionado del grupo que consiste en dosificación semanal, dosificación dos veces a la semana, dosificación bisemanal, dosificación dos veces al mes y mensual.

Además, la invención proporciona un procedimiento de administración de un compuesto de la invención que comprende una agente de dosificación continuo que tiene una periodicidad de dosificación que varía de aproximadamente una vez cada 3 días a aproximadamente una vez cada 16 días.

Preferentemente, el esquema de dosificación continuo se mantiene hasta lograr el efecto terapéutico deseado.

Por dosificación una vez a la semana se entiende que una dosificación unidad del compuesto de la invención se administra una vez a la semana, es decir, una vez durante un periodo de siete días, preferentemente el mismo día de cada semana. En el régimen de dosificación de una vez a la semana, la dosificación unidad se administra generalmente aproximadamente cada siete días. Un ejemplo no limitante de un régimen de dosificación una vez a la semana conllevaría la administración de una dosificación unidad del compuesto de la invención cada domingo. Es preferente que la dosificación unidad no se administre en días consecutivos, pero el régimen de dosificación de una vez a la semana puede incluir un régimen de dosificación en el que las dosificaciones unidad se administran en dos días consecutivos que entran dentro de dos periodos semanales diferentes.

Las tasas de dosis aproximadas eficaces pueden encontrarse en el intervalo de 1 a 1000 mg/semana, tal como de 10 a 900 mg/semana o incluso de 100 a 800 mg/semana, dependiendo de las actividades individuales de los compuestos en cuestión y del peso corporal promedio del paciente (70 kg). Las tasas de dosis más habituales para los compuestos preferentes y más activos se encontrarán en el intervalo de 200 a 800 mg/semana, más preferentemente de 200 a 500 mg/semana, del modo más preferente de 200 a 250 mg/semana. Estas pueden proporcionarse en regímenes de dosis unidad, en regímenes de dosis divididas y/o en regímenes de dosis múltiples que duran un periodo de varios días. Para la administración por vía oral, pueden formularse en comprimidos, cápsulas, solución o suspensión que contengan de 100 a 500 mg de compuestos por dosis unidad. Alternativa y preferentemente, los compuestos se formularán para la administración por vía parenteral en un vehículo administrable por vía parenteral adecuados y que proporcione tasas de dosificación semanales únicas en el intervalo de 200 a 800 mg, preferentemente de 200 a 500, más preferentemente de 200 a 250 mg.

Por dosificación dos veces a la semana se entiende que una dosificación unidad del compuesto de la invención se administra dos veces a la semana, es decir, dos veces durante un periodo de siete días, preferentemente los mismos dos días de cada periodo semanal. En el régimen de dosificación de dos veces a la semana, cada dosificación unidad se administra, en general, aproximadamente cada tres a cuatro días. Un ejemplo no limitante de un régimen de dosificación de dos veces a la semana conllevaría la administración de una dosificación unidad del compuesto de la invención cada domingo y cada miércoles. Es preferente que la dosificación unidad no se administre el mismo día o en días consecutivos, pero el régimen de dosificación de dos veces a la semana puede incluir un régimen de dosificación en el que las dosificaciones unidad se administran en dos días consecutivos que entran dentro de un periodo semanal o periodos semanales diferentes.

Las tasas de dosis aproximadas eficaces pueden encontrarse en el intervalo de 1 a 1000 mg/dos veces a la semana, tal como de 10 a 900 mg/dos veces a la semana o incluso de 100 a 800 mg/dos veces a la semana dependiendo de las actividades individuales de los compuestos en cuestión y del peso corporal promedio del paciente (70 kg). Las tasas de dosis más habituales para los compuestos preferentes y más activos se encontrarán en el intervalo de 200 a 800 mg/dos veces a la semana, más preferentemente de 200 a 500 mg/dos veces a la semana, del modo más preferente de 200 a 250 mg/dos veces a la semana. Estas pueden proporcionarse en regímenes de dosis unidad, en regímenes de dosis divididas y/o en regímenes de dosis múltiples que duran un periodo de varios días. Para la administración por vía oral, pueden formularse en comprimidos, cápsulas, solución o suspensión que contengan de 100 a 500 mg de compuestos por dosis unidad. Alternativa y preferentemente, los compuestos se formularán para la administración por vía parenteral en un vehículo administrable por vía parenteral adecuados y que proporcione tasas de dosificación unidad dos veces a la semana en el intervalo de 200 a 800 mg, preferentemente de 200 a 500, más preferentemente de 200 a 250 mg.

Por dosificación bisemanal se entiende que una dosificación unidad del compuesto de la invención se administra una vez durante un periodo de dos semanas, es decir, una vez durante un periodo de catorce días, preferentemente el mismo día en cada periodo de dos semanas. En el régimen de dosificación de dos veces a la semana, cada dosificación unidad se administra generalmente aproximadamente cada catorce días. Un ejemplo no limitante de un

régimen de dosificación bisemanal conllevaría la administración de una dosificación unidad del compuesto de la invención cada dos domingos. Es preferente que la dosificación unidad no se administre en días consecutivos, pero el régimen de dosificación bisemanal puede incluir un régimen de dosificación en el que la dosificación unidad se administran en dos días consecutivos que entran dentro de dos periodos bisemanales diferentes.

5 Las tasas de dosis aproximadamente eficaces pueden encontrarse en el intervalo de 1 a 1000 mg/cada dos semanas, tal como de 10 a 900 mg/cada dos semanas o incluso de 100 a 800 mg/cada dos semanas dependiendo de las actividades individuales de los compuestos en cuestión y del peso corporal promedio del paciente (70 kg). Las tasas de dosis más habituales para los compuestos preferentes y más activos se encontrarán en el intervalo de 200 a 800 mg/cada dos semanas, más preferentemente de 200 a 500 mg/cada dos semanas, del modo más preferente de 200 a 250 mg/cada dos semanas. Estas pueden proporcionarse en regímenes de dosis unidad, en regímenes de dosis repartidos y/o en regímenes de dosis múltiples que duran un periodo de varios días. Para la administración por vía oral, pueden formularse en comprimidos, cápsulas, solución o suspensión que contengan de 100 a 500 mg de compuestos por dosis unidad. Alternativa y preferentemente, los compuestos se formularán para la administración por vía parenteral en un vehículo administrable por vía parenteral adecuados y que proporcione tasas de dosificación bisemanales únicas en el intervalo de 200 a 800 mg, preferentemente de 200 a 500, más preferentemente de 200 a 250 mg.

20 Por dosificación dos veces al mes se entiende que una dosificación unidad del compuesto de la invención se administra dos veces durante un periodo del calendario mensual. Con el régimen de dos veces al mes, las dosis se dan preferentemente las mismas dos fechas de cada mes. En el régimen de dosificación de dos veces al mes, cada dosificación unidad se administra generalmente aproximadamente cada dieciséis días. Un ejemplo no limitante de un régimen de dosificación dos veces al mes conllevaría la dosificación en o aproximadamente el primero de mes y en o aproximadamente el día quince, es decir, el punto medio, del mes. Es preferente que la dosificación unidad no se administre el mismo día o en días consecutivos, pero el régimen de dosificación dos veces al mes puede incluir un régimen de dosificación en el que las dosificaciones unidad se administran en dos días consecutivos que entran dentro de un periodo mensual o periodos mensuales diferentes. El régimen de dos veces al mes se define en el presente documento como distinto de, y que no abarca, el régimen de dosificación bisemanal, debido a que dos regímenes tienen una periodicidad diferente y tienen como consecuencia la administración de diferentes cifras de dosificación durante periodos de tiempo largos. Por ejemplo, durante un periodo de un año, se administrarían un total de aproximadamente veinticuatro dosificaciones según el régimen de dos veces al mes (debido a que hay doce meses en un año), mientras que se administrarían un total de aproximadamente veintiséis dosificaciones según el régimen de dosificación bisemanal (debido a que hay aproximadamente 52 semanas en un año).

35 Las tasas de dosis aproximadas eficaces pueden encontrarse en el intervalo de 1 a 1000 mg/dos veces al mes, tal como de 10 a 900 mg/dos veces al mes o incluso de 100 a 800 mg/dos veces al mes dependiendo de las actividades individuales de los compuestos en cuestión y del peso corporal promedio del paciente (70 kg). Las tasas de dosis más habituales para los compuestos preferentes y más activos se encontrarán en el intervalo de 200 a 800 mg/dos veces al mes, más preferentemente de 200 a 500 mg/dos veces al mes, del modo más preferente de 200 a 250 mg/dos veces al mes. Estas pueden proporcionarse en regímenes de dosis unidad, en regímenes de dosis divididas y/o en regímenes de dosis múltiples que duran un periodo de varios días. Para la administración por vía oral, pueden formularse en comprimidos, cápsulas, solución o suspensión que contengan de 100 a 500 mg de compuestos por dosis unidad. Alternativa y preferentemente, los compuestos se formularán para la administración por vía parenteral en un vehículo administrable por vía parenteral adecuados y que proporcione tasas de dosificación dos veces al mes únicas en el intervalo de 200 a 800 mg, preferentemente de 200 a 500, más preferentemente de 200 a 250 mg.

50 Por dosificación mensual se entiende que una dosificación unidad del compuesto de la invención se administra una vez durante un periodo mensual del calendario. Con el régimen mensual, las dosis se administran preferentemente la misma fecha de cada mes. En el régimen de dosificación mensual, cada dosificación unidad se administra generalmente aproximadamente cada veintiocho a treinta y dos días.

55 Las tasas de dosis aproximadamente eficaces pueden encontrarse en el intervalo de 1 a 1000 mg/al mes, tal como de 10 a 900 mg/al mes o incluso de 100 a 800 mg/al mes dependiendo de las actividades individuales de los compuestos en cuestión y del peso corporal promedio del paciente (70 kg). Las tasas de dosis más habituales para los compuestos preferentes y más activos se encontrarán en el intervalo de 200 a 800 mg/mes, más preferentemente de 200 a 500 mg/mes, del modo más preferente de 200 a 250 mg/mes. Estas pueden proporcionarse en regímenes de dosis unidad, en regímenes de dosis divididas y/o en regímenes de dosis múltiples que duran un periodo de varios días. Para la administración por vía oral, pueden formularse en comprimidos, cápsulas, solución o suspensión que contengan de 100 a 500 mg de compuestos por dosis unidad. Alternativa y preferentemente, los compuestos se formularán para la administración por vía parenteral en un vehículo administrable por vía parenteral adecuados y que proporcione tasas de dosificación mensuales únicas en el intervalo de 200 a 800 mg, preferentemente de 200 a 500, más preferentemente de 200 a 250 mg.

65 Sales farmacéuticamente aceptables



Las sales farmacéuticamente aceptables pueden formarse a partir de ácidos orgánicos e inorgánicos, por ejemplo, acético, propiónico, láctico, cítrico, tartárico, succínico, fumárico, maleico, malónico, mandélico, málico, ftálico, clorhídrico, bromhídrico, fosfórico, nítrico, sulfúrico, metanosulfónico, naftalenosulfónico, bencenosulfónico, toluenosulfónico, canfosulfónico y similarmente ácidos aceptables conocidos cuando un compuesto de la presente invención contiene un resto básico. Las sales también pueden formarse a partir de bases orgánicas e inorgánicas, preferentemente sales de metales alcalinos, por ejemplo, sodio, litio o potasio, cuando un compuesto de la presente invención contiene un resto ácido.

Ciclo celular

Los compuestos de la presente invención pueden ser útiles en el procedimiento de tratamiento de un trastorno del ciclo celular.

Como se expuso en "Molecular Cell Biology" 3ª ed. Lodish y col. páginas 177-181 diferentes células eucarióticas pueden crecer y dividirse a velocidades bastante diferentes. Las células de levadura, por ejemplo, pueden dividirse cada 120 min., y las primeras divisiones de huevos fertilizados en las células embrionarias de erizos de mar e insectos tardaron solamente 1.530 min debido a que se subdivide una gran célula preexistente. Sin embargo, la mayor parte de las plantas en crecimiento y de las células animales tardan de 10 a 20 horas en duplicarse y algunas se duplican a mucha menor velocidad. Muchas células de adultos, tales como las células nerviosas y las células del músculo estriado, no se dividen completamente; otras, como los fibroblastos que ayudan a la cicatrización de heridas, crecen bajo demanda, pero están si no latentes.

Aún así, cada célula eucariótica que se divide debe estar dispuesta para donar un material genético igual a dos células hermanas. La síntesis del ADN en eucariotas no tiene lugar en todo el ciclo de la división celular sino que está restringida a una parte de su anterior división celular.

La relación entre la síntesis del ADN eucariótico y la división celular se ha analizado a fondo en cultivos de células de mamífero que eran todos capaces de experimentar crecimiento y división. A diferencia de las bacterias, se observó que las células eucarióticas gastan solamente una parte de su tiempo en la síntesis del ADN, y se completa horas antes de la división celular (mitosis). Por lo tanto, un intervalo de tiempo transcurre después de la síntesis del ADN y antes de la división celular; se halló que otro intervalo transcurre después de la división y antes de la ronda siguiente de síntesis de ADN. Este análisis conduce a la conclusión de que el ciclo celular eucariótico consta de una fase M (mitótica), una fase G<sub>1</sub> (el primer intervalo), la fase S (síntesis del ADN), una fase G<sub>2</sub> (el segundo intervalo) y vuelve a M. Las fases entre mitosis (G<sub>1</sub>, S y G<sub>2</sub>) son conocidas colectivamente como la interfase.

Muchas células que no se dividen en los tejidos (por ejemplo, todos los fibroblastos en reposo) suspenden el ciclo tras la mitosis y justo antes de la síntesis del ADN; se dice que dichas células "en reposo" han salido del ciclo celular y están en el estado G<sub>0</sub>.

Es posible identificar células cuando están en una de las tres etapas de la interfase del ciclo celular usando un clasificador celular fluorescente activado (FACS) para medir su contenido relativo en ADN: una célula que está en G<sub>1</sub> (antes de la síntesis del ADN) tiene una cantidad x definida de ADN; durante S (replicación del ADN) tiene entre x y 2x; y cuando está en G<sub>2</sub> (o M) tiene 2x el ADN.

Las etapas de mitosis y de citocinesis en una célula animal son las siguientes:

(a) Interfase. La etapa G<sub>2</sub> de la interfase precede inmediatamente al comienzo de la mitosis. El ADN cromosómico se ha replicado y unido a la proteína durante la fase S, pero no se observan todavía cromosomas como estructuras diferenciadas. El nucleolo es la única estructura nuclear que es visible al microscopio óptico. En una célula diploide antes de la replicación del ADN existen dos cromosomas morfológicos de cada tipo, y la célula se dice que es 2n. En G<sub>2</sub>, después de la replicación del ADN la célula es 4n. Existen cuatro copias de cada ADN microsomático. Como los cromosomas hermanos no se han separado todavía entre sí, se denominan cromátidas hermanas.

(b) Profase inicial. Los centriolos, cada uno con un centriolo hijo recién formado, comienzan a moverse hacia polos opuestos de la célula; los centrosomas pueden observarse como hilos alargados. La membrana nuclear comienza a disgregarse en vesículas pequeñas.

(c) Profase media y última. La condensación del cromosoma se completa; cada estructura de cromosoma visible se compone de dos cromátidas mantenidas unidas a sus centrómeros. Cada cromátida contiene una de las dos moléculas de ADN hijas recién replicadas. El huso microtubular comienza a radiar desde las regiones exactamente adyacentes a los centriolos, que se mueven más cerca de sus polos. Algunas fibras del huso alcanzan de polo a polo; la mayor parte va a las cromátidas y se une en los cinetocoros.

(d) Metafase. Los cromosomas se mueven hacia el ecuador de la célula, en el que se alinearán en el plano ecuatorial. Las cromátidas hermanas no se han separado todavía.

(e) Anafase. Las dos cromátidas hermanas se separan en cromosomas independientes. Cada una contiene un centrómero que está unido a una fibra del huso a un polo, en el cual se mueve. De este modo una copia de cada cromosoma se da a cada célula hija. Simultáneamente la célula se alarga, a medida que lo hacen los husos de polo a polo. La citocinesis comienza cuando empieza a formarse el surco de escisión.

5 (f) Telofase. Se forman nuevas membranas alrededor de los núcleos hijos; los cromosomas se desenredan y se hacen menos diferenciados, el nucleolo se vuelve visible de nuevo y se forma la membrana nuclear alrededor de cada núcleo hijo. La citocinesis es casi completa y desaparece el huso a medida que se despolimerizan los microtúbulos y otras fibras. En toda la mitosis el centriolo "hijo" presente en cada polo crece hasta su longitud completa. En la telofase se completa la duplicación de cada uno de los centriolos originales y se generarán nuevos centriolos hijos durante la siguiente interfase.

(g) Interfase. Al completar la citocinesis, la célula entra en la fase G1 del ciclo celular y procede de nuevo a realizar el ciclo.

15 Debe apreciarse que el ciclo celular es un proceso celular sumamente importante. Las desviaciones del ciclo celular normal pueden producir una serie de trastornos médicos. El ciclo celular aumentado y/o no limitado puede producir cáncer. El ciclo celular reducido puede producir enfermedades degenerativas. El uso del compuesto de la presente invención puede proporcionar un medio para tratar dichos trastornos y afecciones.

20 Por lo tanto, el compuesto de la presente invención puede ser adecuado para su uso en el tratamiento de los trastornos del ciclo celular tales como cánceres, incluidos los cánceres dependientes de hormonas e independientes de hormonas.

25 Los cánceres que se pueden tratar con los compuestos, las composiciones y los procedimientos de la invención incluyen, pero sin limitación: cardíaco: sarcoma (angiosarcoma, fibrosarcoma, rhabdomioma, liposarcoma), mioxoma, rhabdomioma, fibroma, lipoma y teratoma; pulmón: carcinoma broncogénico (células escamosas, células pequeñas no diferenciadas, células grandes no diferenciadas, adenocarcinoma), carcinoma alveolar (bronquiolar), adenoma bronquial, sarcoma, linfoma, hamartoma condromatoso, mesotelioma; gastrointestinal: esófago (carcinoma de células escamosas, adenocarcinoma, leiomioma, sarcoma, linfoma), estómago (carcinoma, linfoma, leiomioma), páncreas (adenocarcinoma ductal, insulinooma, glucagonoma, gastrinoma, tumores carcinoides, vipoma), intestino delgado (adenocarcinoma, linfoma, tumores carcinoides, sarcoma de Kaposi, leiomioma, hemangioma, lipoma, neurofibroma, fibroma), intestino grueso (adenocarcinoma, adenoma tubular, adenoma veloso, hamartoma, leiomioma) colon, colorectal, rectal; tracto genitourinario: riñón (adenocarcinoma, tumor de Wilm [nefroblastoma], linfoma, leucemia), vejiga y uretra (carcinoma de células escamosas, carcinoma de células transitorias, adenocarcinoma), próstata (adenocarcinoma, sarcoma), testículo (seminoma, teratoma, carcinoma embrionario, teratocarcinoma, coriocarcinoma, sarcoma, carcinoma de células intersticiales, fibroma, fibroadenoma, tumores adenomatoides, lipoma) ; hígado: hepatoma (carcinoma hepatocelular), colangiocarcinoma, hepatoblastoma, angiosarcoma, adenoma hepatocelular, hemangioma; hueso: sarcoma osteogénico (osteosarcoma), fibrosarcoma, histiocitoma fibroso maligno, condrosarcoma, sarcoma de Ewing, linfoma maligno (sarcoma de células del retículo), mieloma múltiple, cordoma tumoral de células gigantes malignas, osteocronofroma (exostosis osteocartilaginosa), condroma benigno, condroblastoma, condromixofibroma, osteoma osteoide y tumores de células gigantes; sistema nervioso: cráneo (osteoma, hemangioma, granuloma, xantoma, osteítis deformante), meninges (meningioma, meningiosarcoma, gliomatosis), cerebro (astrocitoma, meduloblastoma, glioma, ependimoma, germinoma [pinealoma], glioblastoma multiforme, oligodendroglioma, schwannoma, retinoblastoma, tumores congénitos), neurofibroma de médula espinal, meningioma, glioma, sarcoma) ; ginecológico: útero (carcinoma endometrial), cuello uterino (carcinoma cervical, displasia cervical pretumoral), ovarios (carcinoma de ovario [cistadenocarcinoma seroso, cistadenocarcinoma mucinoso, carcinoma sin clasificar], tumores de células granulosa-tecales, tumores de células de Sertoli-Leydig, disgerminoma, teratoma maligno), vulva (carcinoma de células escamosas, carcinoma intraepitelial, adenocarcinoma, fibrosarcoma, melanoma), vagina (carcinoma de células transparentes, carcinoma de células escamosas, sarcoma botriode (rhabdomioma embrionario), trompas de Falopio (carcinoma) ; hematológico: sangre (leucemia mieloide [aguda y crónica], leucemia linfoblástica aguda, leucemia linfocítica crónica, enfermedades mieloproliferativas, mieloma múltiple, síndrome mielodisplásico), enfermedad de Hodgkin, linfoma de no Hodgkin [linfoma maligno]; piel: melanoma maligno, carcinoma de células basales, carcinoma de células escamosas, sarcoma de Kaposi, lunares nevos displásicos, lipoma, angioma, dermatofibroma, queloides, psoriasis; y glándulas suprarrenales: neuroblastoma. De este modo, la expresión "célula cancerosa", como se proporciona en el presente documento, incluye una célula sometida a una cualquiera de las afecciones anteriormente identificadas.

60 Además, el compuesto de la presente invención puede ser adecuado para el tratamiento de cánceres tales como el cáncer de mama, cáncer de ovario, cáncer de endometrio, sarcomas, melanomas, cáncer de próstata, cáncer pancreático, etc. y otros tumores sólidos.

65 En una realización preferente, los compuestos de la presente invención son útiles en el tratamiento de cánceres dependientes del sistema endocrino. Cánceres dependientes del sistema endocrino preferentes son cáncer de mama, cáncer de endometrio, cáncer de próstata y cáncer de ovarios.

En algunas aplicaciones, el ciclo celular se inhibe y/o impide y/o interrumpe, preferentemente en las que el ciclo celular está impedido y/o interrumpido. En un aspecto, el ciclo celular puede estar inhibido y/o impedido y/o interrumpido en la fase G<sub>2</sub>/M. En un aspecto, el ciclo celular puede estar irreversiblemente impedido y/o inhibido y/o interrumpido, preferentemente en el que el ciclo celular está irreversiblemente impedido y/o interrumpido.

Con la expresión "irreversiblemente impedido y/o inhibido y/o interrumpido" se pretende decir que después de la aplicación de un compuesto de la presente invención, al eliminar el compuesto, los efectos del compuesto, a saber la prevención y/o inhibición y/o interrupción del ciclo celular, son todavía observables. Más particularmente con la expresión "irreversiblemente impedido y/o inhibido y/o detenido" se pretende decir que cuando se analizó según el protocolo del ensayo del ciclo celular presentado en el presente documento, las células tratadas con un compuesto de interés muestran menos crecimiento después de la etapa 2 del protocolo I que las células de referencia. Los detalles en este protocolo se presentan a continuación.

Por lo tanto, la presente invención proporciona compuestos que: producen inhibición del crecimiento de las células de cáncer de mama positivas al receptor del estrógeno (ER+) y negativas a ER (ER-) *in vitro* impidiendo y/o inhibiendo y/o deteniendo el ciclo celular; y/o producen regresión de los tumores de mamífero producidos por la nitroso-metil-urea (NMU) en animales intactos (es decir no ovariectomizados) y/o impiden y/o inhiben y/o detienen el ciclo celular en células cancerosas; y/o actúan *in vitro* impidiendo y/o inhibiendo y/o deteniendo el ciclo celular y/o actúan como un agonista del ciclo celular.

#### Ensayo de ciclo celular (protocolo 5)

##### Procedimiento

Etapa 1

Se siembran células MCF-7 de cáncer de mama en placas de cultivo de varios pocillos a una densidad de 105 células/pocillo. Se deja que las células se adhieran y se desarrollen hasta aproximadamente el 30 % de confluencia cuando se tratan de la forma siguiente:

Control - sin tratamiento

Compuesto de interés (COI) 20 µm

Se cultivan las células durante 6 días en medio de cultivo que contiene el COI con cambios de medio/COI cada 3 días. Al final de este periodo se realiza el recuento del número de células usando un contador de células Coulter.

Etapa 2

Después del tratamiento de las células durante un periodo de 6 días con las células COI se vuelven a sembrar a una densidad de 10<sup>4</sup> células/pocillo. No se añaden más tratamientos. Se deja que las células continúen creciendo durante 6 días más en presencia de medio de cultivo. Al final de este periodo se realiza de nuevo el recuento del número de células.

#### Ensayo para determinar la actividad de dh usando células cancerosas (protocolo 6)

Se midió la conversión de estrona a estradiol (E1 → E2, E2DH tipo I) y estradiol a estrona (E2 → E1, E2DH tipo II) en monocapas de células intactas de células de cáncer de mama T47D y MDA-MB-231 respectivamente. Se cultivaron las células en matraces hasta que fueron confluentes del 80 al 90 %. Se añadieron <sup>3</sup>H-E1 o <sup>3</sup>H-E2 (6 pmoles, -90 Ci/mmoles) a cada matraz en ausencia (control) o presencia de varios compuestos de ensayo (10 µm) en 2,5 ml de medio. Se añadió también sustrato a los matraces sin células y se incubó en paralelo (blancos).

Después de la incubación con células T47D durante 30 min o de células MDA durante 3 h a 37 °C, se añadieron 2 ml del medio a los tubos de ensayo que contenían <sup>14</sup>C-E2 o <sup>14</sup>C-E1 (~5.000 cpm) y 50 µg de E2 o E1, respectivamente. Se extrajeron los esteroides del medio acuoso con dietiléter (4 ml). Se decantó la fase de éter en tubos separados después de congelar la fase acuosa en una mezcla sólida de dióxido de carbono-metanol. Se evaporó el éter a sequedad usando una corriente de aire a 40 °C. Se disolvió el residuo en un volumen pequeño de dietiléter y se aplicó a las placas TLC que contenían un indicador fluorescente. Se separaron E1 y E2 por TLC utilizando DCM-acetato de etilo (4:1 v/v). La posición del producto en cada matraz de incubación se marcó en la placa de TLC después de observación bajo luz UV. Las zonas marcadas se cortaron y se colocaron en viales de centelleo que contenían metanol (0,5 ml) para eluir el producto. Se calculó la cantidad de producto con <sup>3</sup>H formado y <sup>14</sup>C-E1 o <sup>14</sup>C-E2 recuperado después de la espectrometría de centelleo. Se corrigieron las pérdidas del procedimiento en la cantidad de producto formado y el número de células en cada matraz.

#### Cáncer

Como se indica, los compuestos de la presente invención pueden ser útiles en el tratamiento de un trastorno de ciclo celular. Un trastorno de ciclo celular concreto es el cáncer.

5 El cáncer continúa siendo la causa principal de mortalidad en la mayoría de los países occidentales. Las terapias contra el cáncer desarrolladas hasta ahora han incluido el bloqueo de la acción o la síntesis de hormonas para inhibir el crecimiento de tumores dependientes de hormonas. Sin embargo, actualmente se emplea una quimioterapia más agresiva para el tratamiento de tumores independientes de hormonas.

10 Por lo tanto, el desarrollo de un producto farmacéutico para el tratamiento anticanceroso de tumores dependientes de hormonas y/o independientes de hormonas que carezca ya de algunos o todos de los efectos secundarios asociados a la quimioterapia, representaría un avance terapéutico principal.

15 Se sabe que los estrógenos experimentan numerosas reacciones de hidroxilación y conjugación después de su síntesis. Hasta hace poco se creía que dichas reacciones formaban parte de un proceso metabólico que proporcionaba finalmente estrógenos hidrosolubles y potenciaba su eliminación del organismo. Actualmente es evidente que algunos hidroximetabolitos (por ejemplo 2-hidroxi y 16alfa-hidroxi) y conjugados (por ejemplo sulfato de estrona, E1S) son importantes en la determinación de algunas de las acciones complejas que los estrógenos presentan en el cuerpo.

20 Los investigadores han investigado la formación de estrógenos 2- y 16-hidroxilados en relación con afecciones que alteran el riesgo de cáncer de mama. Existen actualmente evidencias de que los factores que aumentan la actividad de 2-hidroxilasa están asociados con un riesgo de cáncer reducido, mientras que los que aumentan la hidroxilación en 16alfa pueden aumentar el riesgo de cáncer de mama. El interés adicional en el papel biológico de los metabolitos estrógenos se ha estimulado por el cuerpo creciente de evidencias de que 2-metoxiestradiol es un metabolito endógeno con propiedades antimitóticas. El 2-MeOE2 se forma a partir de 2-hidroxiestradiol (2-OHE2) por la catecol estrógeno metiltransferasa, una enzima que está ampliamente distribuida en todo el cuerpo.

25 Los investigadores han demostrado que el 2-MeOE2 inhibe *in vivo* el desarrollo de tumores que aparecen a partir de la inyección subcutánea de sarcoma Meth A, melanoma B16 o células de cáncer de mama negativas al receptor del estrógeno (ER-) MDA-MB-435. También inhibe la proliferación y migración de las células endoteliales y la angiogénesis *in vitro*. Se ha sugerido que la capacidad de 2-MeOE2 para inhibir el crecimiento tumoral *in vivo* puede ser debida a su capacidad para inhibir la angiogénesis provocada por el tumor en vez de la inhibición directa de la proliferación de células tumorales.

30 El mecanismo por el cual 2-MeOE2 ejerce sus potentes efectos antimitógeno y antiangiogéno se está elucidando todavía. Existen evidencias de que a altas concentraciones puede inhibir la polimerización microtubular y actuar como un inhibidor débil de colchicina que se une a tubulina. Recientemente, sin embargo, a concentraciones que bloquean la mitosis, no se encontraron filamentos de tubulina en las células que deben despolimerizarse sino que tenían una morfología idéntica a la observada después del tratamiento con taxol. Es posible, por consiguiente, que como el taxol, un fármaco que se usa para la terapia de cáncer de mama y de ovario, el 2-MeOE2 actúe estabilizando la dinámica microtubular.

35 El mecanismo por el cual 2-MeOE2 ejerce sus potentes efectos antimitógeno y antiangiogéno se está elucidando todavía. Existen evidencias de que a altas concentraciones puede inhibir la polimerización microtubular y actuar como un inhibidor débil de colchicina que se une a tubulina. Recientemente, sin embargo, a concentraciones que bloquean la mitosis, no se encontraron filamentos de tubulina en las células que deben despolimerizarse sino que tenían una morfología idéntica a la observada después del tratamiento con taxol. Es posible, por consiguiente, que como el taxol, un fármaco que se usa para la terapia de cáncer de mama y de ovario, el 2-MeOE2 actúe estabilizando la dinámica microtubular.

40 Aunque la identificación de 2-MeOE2 como una nueva terapia para el cáncer representa un importante avance, la biodisponibilidad de los estrógenos administrados por vía oral es escasa. Además, pueden experimentar metabolismo extenso durante su primer paso a través del hígado. Como parte de un programa de investigación para desarrollar un inhibidor de sulfatasa esteroidea para la terapia del cáncer de mama, se identificó la 3-O-sulfamato de estrona (EMATE) como un potente inhibidor activo dirigido al sitio. De manera inesperada, el EMATE demostró poseer propiedades estrógenas potentes, siendo su actividad uterótrofa por vía oral en ratas 100 veces mayor que la del estradiol. Su aumento de estrogenicidad se cree que procede de la absorción por los glóbulos rojos que le protegen de la inactivación durante el paso a través del hígado y que actúan como depósito para su liberación lenta durante un periodo prolongado de tiempo. Se sintetizaron y se analizaron una serie de análogos modificados en el anillo A, incluyendo 3-O-sulfamato de 2-metoxiestrona. Aunque este compuesto era igual de potente que el EMATE como un inhibidor de sulfatasa esteroidea, estaba desprovisto de estrogenicidad.

45 Creemos que el compuesto de la presente invención proporciona un medio para el tratamiento de cánceres y, especialmente, del cáncer de mama.

50 Además, o como alternativa, el compuesto de la presente invención puede ser útil en el bloqueo del desarrollo de cánceres, incluidos leucemias y tumores sólidos tales como tumores de mama, de endometrio, de próstata, de ovario y pancreático.

#### Terapia referente a estrógenos

65 Creemos que algunos de los compuestos de la presente invención pueden ser útiles en el control de las concentraciones de estrógenos en el cuerpo, en particular en hembras. Por este motivo, algunos de los compuestos

pueden ser útiles proporcionando un medio de control de fertilidad, tal como un comprimido, píldora, solución o pastilla anticonceptivo de administración oral. Como alternativa, el compuesto puede estar en forma de implante o de parche.

- 5 Por lo tanto, los compuestos de la presente invención pueden ser útiles en el tratamiento de enfermedades hormonales asociadas a estrógenos.

Además, o como alternativa, el compuesto de la presente invención puede ser útil en el tratamiento de enfermedades hormonales además de las asociadas a estrógenos. Por lo tanto, el compuesto de la presente invención también puede ser capaz de afectar a la actividad hormonal y también puede ser capaz de afectar a una respuesta inmunitaria.

#### Enfermedades neurodegenerativas

- 15 Creemos que algunos de los compuestos de la presente invención pueden ser útiles para el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas y afecciones similares.

A modo de ejemplo, se cree que los inhibidores de STS pueden ser útiles en la potenciación de la función de la memoria de pacientes que padecen de enfermedades tales como la amnesia, lesiones cerebrales, enfermedad de Alzheimer, demencia epiléptica, demencia presenil, demencia postraumática, demencia senil, demencia vascular y demencia tras apoplejía o los individuos que de otro modo buscan la potenciación de la memoria.

#### TH1

- 25 Creemos que algunos de los compuestos de la presente invención pueden ser útiles en implicaciones de TH1.

A modo de ejemplo, se cree que la presencia de los inhibidores de STS en el macrófago o en otras células que presentan antígeno puede conducir a una disminución de la capacidad de los linfocitos T sensibilizados para producir una respuesta a TH1 (IL-2 alto, IFN $\gamma$  bajo en IL-4). Por consiguiente, predominaría la influencia reguladora normal de otros esteroides tales como los glucocorticoides.

#### Afecciones inflamatorias

Creemos que algunos de los compuestos de la presente invención pueden ser útiles en el tratamiento de afecciones inflamatorias, tales como las afecciones asociadas con una cualquiera o más de entre: autoinmunidad, incluyendo por ejemplo, artritis reumatoide, diabetes tipo I y II, lupus eritematoso diseminado, esclerosis múltiple, miastenia grave, tiroiditis, vasculitis, colitis ulcerosa y enfermedad de Crohn, trastornos de la piel, por ejemplo, psoriasis y dermatitis de contacto; enfermedad injerto contra huésped; eccema; asma y rechazo del órgano después del trasplante.

A modo de ejemplo, se considera que los inhibidores de STS pueden impedir el efecto fisiológico normal de DHEA o de los esteroides relacionados sobre las respuestas inmunitaria y/o inflamatoria.

Los compuestos de la presente invención pueden ser útiles para la fabricación de un medicamento para revelar un efecto de tipo glucocorticoide endógeno.

#### Otras terapias

Se entiende también que el compuesto/la composición de la presente invención puede tener otras implicaciones médicas importantes.

Por ejemplo, el compuesto o la composición de la presente invención puede ser útil en el tratamiento de los trastornos mencionados en el documento WO-A-99/52890, es decir:

Además o como alternativa, el compuesto o la composición de la presente invención puede ser útil en el tratamiento de los trastornos enumerados en el documento WO-A-98/05635. Para facilitar su referencia, se proporciona ahora parte de esta lista: cáncer, inflamación o enfermedad inflamatoria, trastornos dermatológicos, fiebre, efectos cardiovasculares, hemorragia, coagulación y respuesta en fase aguda, caquexia, anorexia, infección aguda, infección por VIH, estados de choque, reacciones injerto contra huésped, enfermedad autoinmunitaria, lesión por reperfusión, meningitis, jaqueca y antitrombosis dependiente de la aspirina; crecimiento tumoral, invasión y diseminación, angiogénesis, metástasis, cáncer, ascitis y efusión pleural maligna, isquemia cerebral, cardiopatía isquémica, osteoartritis, artritis reumatoide, osteoporosis, asma, esclerosis múltiple, neurodegeneración, enfermedad de Alzheimer, aterosclerosis, apoplejía, vasculitis, enfermedad de Crohn y colitis ulcerosa; periodontitis, gingivitis; psoriasis, dermatitis atópica, úlceras crónicas, epidermolísis vesicular; ulceración corneal, retinopatía y cicatrización quirúrgica de heridas; rinitis, conjuntivitis alérgica, eccema, anafilaxis, restenosis, insuficiencia cardíaca congestiva, endometriosis, aterosclerosis o endosclerosis.

Asimismo, o como alternativa, la composición de la presente invención puede ser útil en el tratamiento de trastornos enumerados en el documento WO-A-98/07859. Para facilitar su referencia, se proporciona ahora parte de esta lista:

5 actividad de citocina y de proliferación/diferenciación celular; actividad inmunodepresora o inmunestimulante (por ejemplo, para tratar insuficiencia inmunitaria, incluyendo la infección con el virus de la insuficiencia inmunitaria humana; regulación del crecimiento de linfocitos; tratamiento del cáncer y muchas enfermedades autoinmunitarias, y para impedir el rechazo del trasplante o provocar inmunidad tumoral); regulación de la hematopoyesis (por ejemplo, tratamiento de enfermedades mieloides o linfoides; estimular el crecimiento del hueso, del cartílago, del tendón, de ligamentos y del tejido nervioso, por ejemplo para la cicatrización de heridas, tratamiento de quemaduras, úlceras y enfermedad periodontal y neurodegeneración; inhibición de la activación de la hormona estimulante del folículo (modulación de la fertilidad); actividad quimiotáctica/quimiocinética (por ejemplo para movilizar los tipos de células específicos a las zonas de lesión o infección); actividad hemostática y trombolítica (por ejemplo para tratar la hemofilia y la apoplejía); actividad antiinflamatoria (para el tratamiento por ejemplo del choque séptico o de la enfermedad de Crohn); como productos antimicrobianos; moduladores por ejemplo de metabolismo o del comportamiento; como analgésicos; tratamiento de trastornos de insuficiencia específicos; tratamiento por ejemplo de la psoriasis, en medicina o veterinaria.

Asimismo, o como alternativa, la composición de la presente invención puede ser útil en el tratamiento de trastornos enumerados en el documento WO-A-98/09985. Para facilitar su referencia, se proporciona ahora parte de esta lista:

20 actividad inhibidora de macrófagos y/o actividad inhibidora de linfocitos T y, por lo tanto, actividad antiinflamatoria, actividad autoinmunitaria, es decir efectos inhibidores contra una respuesta inmunitaria celular y/o humoral, incluyendo una respuesta no asociada a la inflamación; inhibir la capacidad de los macrófagos y linfocitos T para adherirse a los componentes de la matriz extracelular y a la fibronectina, así como la expresión del receptor fas regulado al alza en linfocitos T; inhibir la reacción inmunitaria no deseada y la inflamación, incluyendo artritis, que incluye artritis reumatoide, inflamación asociada con hipersensibilidad, reacciones alérgicas, asma, lupus eritematoso diseminado, enfermedades del colágeno y otras enfermedades autoinmunitarias, inflamación asociada a la aterosclerosis, arteriosclerosis, cardiopatía aterosclerótica, lesión por reperfusión, paro cardíaco, infarto de miocardio, trastornos inflamatorios vasculares, síndrome de la disnea respiratoria u otras enfermedades cardiopulmonares, inflamación asociada a úlcera péptica, colitis ulcerosa y otras enfermedades del aparato digestivo, fibrosis hepática, cirrosis hepática u otras enfermedades hepáticas, tiroiditis u otras enfermedades glandulares, glomerulonefritis u otras enfermedades renales y urológicas, otitis u otras enfermedades otorrinolaringológicas, dermatitis u otras enfermedades dérmicas, enfermedades periodontales u otras enfermedades dentales, orquitis o epidídimo-orquitis, infertilidad, trauma orquídeo u otras enfermedades testiculares inmunorrelacionadas, disfunción de la placenta, insuficiencia de la placenta, aborto habitual, eclampsia, preeclampsia y otras enfermedades ginecológicas inmunitarias y/o inflamatorias, uveítis posterior, uveítis intermedia, uveítis anterior, conjuntivitis, coriorretinitis, uveorretinitis, neuritis óptica, inflamación intraocular, por ejemplo retinitis o edema macular cistoide, oftalmia simpática, escleritis, retinitis pigmentosas, componentes inmunitarios e inflamatorios de la enfermedad degenerativa del fondo, componentes inflamatorios del traumatismo ocular, inflamación ocular producida por infección, vitreorretinopatías proliferantes, neuropatía óptica isquémica aguda, cicatrización excesiva, por ejemplo, tras la operación de filtración del glaucoma, reacción inmunitaria y/o inflamatoria contra implantes oculares y otras enfermedades oftálmicas inmunitarias e inflamatorias, inflamación asociada a las enfermedades o afecciones o trastornos autoinmunitarios en la que, tanto el sistema nervioso central (SNC) como en cualquier otro órgano, la supresión inmunitaria y/o la inflamación serían beneficiosas, la enfermedad de Parkinson, complicación y/o efectos secundarios del tratamiento de la enfermedad de Parkinson, demencia compleja relacionada con el SIDA, encefalopatía relacionada con VIH, enfermedad de Devic, corea de Sydenham, enfermedad de Alzheimer y otras enfermedades, afecciones o trastornos degenerativos del SNC, componentes inflamatorios de apoplejía, síndrome posterior a la polio, componentes inmunitarios e inflamatorios de trastornos psiquiátricos, mielitis, encefalitis, panencefalitis esclerosante subaguda, encefalomielitis, neuropatía aguda, neuropatía subaguda, neuropatía crónica, síndrome de Guillain-Barre, corea de Sydenham, miastenia grave, encefalitis pseudotumoral, síndrome de Down, enfermedad de Huntington, esclerosis lateral amiotrófica, componentes inflamatorios de la compresión del SNC o del traumatismo del SNC o de las infecciones del SNC, componentes inflamatorios de las atrofias y distrofias musculares y enfermedades inmunitarias e inflamatorias de los sistemas nervioso central y periférico, inflamación postraumática, choque séptico, enfermedades infecciosas, complicaciones inflamatorias o efectos secundarios de la cirugía, trasplante de médula ósea u otras complicaciones y/o efectos secundarios del trasplante, complicaciones inflamatorias y/o inmunitarias y efectos secundarios de la terapia génica, por ejemplo debido a la infección por un vehículo vírico, o a la inflamación asociada al SIDA, para suprimir o inhibir una respuesta inmunitaria humoral y/o celular, para tratar o mejorar las enfermedades proliferantes por monocitos o leucocitos, por ejemplo leucemia, reduciendo la cantidad de monocitos o leucocitos, para la prevención y/o tratamiento del rechazo del trasplante en los casos de trasplante de células naturales o artificiales, tejido y órganos tales como la córnea, médula ósea, órganos, cristalinos, marcapasos, tejido de piel natural o artificial.

#### Preparación del compuesto sulfamato

Los compuestos de sulfamato de la presente invención pueden prepararse haciendo reaccionar un alcohol apropiado con un cloruro adecuado. A modo de ejemplo, los compuestos de sulfamato de la presente invención pueden prepararse haciendo reaccionar un alcohol apropiado con un cloruro de sulfamóilo adecuado, de fórmula



Las condiciones típicas para llevar a cabo la reacción son las siguientes.

- 5 Se añaden hidruro de sodio y cloruro de sulfamoilo a una solución agitada del alcohol en dimetilformamida anhidra a 0 °C. Posteriormente, la reacción se deja calentar a temperatura ambiente, tras lo cual se continúa la agitación durante 24 horas más. La mezcla de reacción se vierte en una solución saturada fría de bicarbonato de sodio y la fase acuosa resultante se extrae con diclorometano. Los extractos orgánicos combinados se secan sobre MgSO<sub>4</sub> anhidro. La filtración seguida de evaporación del disolvente al vacío y evaporado conjuntamente con tolueno proporciona un residuo en bruto que se purifica adicionalmente mediante cromatografía ultrarrápida.

15 Preferentemente, el alcohol se derivatiza, si es apropiado, antes de la reacción con el cloruro de sulfamoilo. Cuando sea necesario, los grupos funcionales en el alcohol pueden protegerse de manera conocida y el grupo o grupos protectores se eliminan al final de la reacción.

Preferentemente, los compuestos de sulfamato se preparan según las directrices de Page y col. (1990 Tetrahedron 46; 2059-2068).

20 Las preparaciones preferentes se presentan también en el texto siguiente.

### Resumen

25 En resumen, la presente invención proporciona compuestos para su uso como inhibidores de sulfatasa esteroidea y/o inhibidores de esteroide deshidrogenasa y composiciones farmacéuticas para los mismos.

### **Ejemplos**

La presente invención se describirá a continuación solo a modo de ejemplo.

### 30 Ejemplo

#### Resumen

35 El cáncer de mama es una enfermedad de importancia principal en Europa y en Norteamérica. En Gran Bretaña, mata más gente que cualquier otro tipo de cáncer. El cáncer de mama dependiente de hormonas representa aproximadamente dos tercios de estos casos en la mujer posmenopáusica; corresponde a un tipo de cáncer de mama en el que los tumores dependen de estrógenos para su crecimiento y desarrollo.

40 La terapia endocrina, en la que los niveles de circulación del estrógeno se controlan mediante el uso de fármacos que inhiben una o varias rutas enzimáticas en la biosíntesis del estrógeno, es la respuesta para HDBC. Pueden considerarse diferentes dianas y se ha realizado la mayor parte del trabajo sobre antiestrógenos e inhibidores de aromatasa. Las enzimas sulfatasa esteroidea y 17 $\alpha$ -HSD de tipo 1 han surgido después como dianas potentes.

45 Aunque se han desarrollado varios inhibidores potentes para STS, la 17 $\beta$ -HSD de tipo 1 no ha despertado mucho interés y solamente se han descrito unas pocas moléculas activas. Basándose en el hecho de que los derivados con anillo D de EMATE son potentes inhibidores de 17 $\beta$ -HSD de tipo 1, se inició el diseño y la síntesis de análogos de EMATE con estrogenicidad reducida. Esto ha conducido a una serie de compuestos en los que el anillo D es un resto piperidinadiona y en los que el átomo de N lleva una diversidad de cadenas laterales.

50 La experimentación biológica contra STS, que se realizó en las células de cáncer de mama, puso de manifiesto una actividad muy elevada para los derivados que llevan una cadena lateral de propilo o picolilo. Con una CI<sub>50</sub> de 1 nm, son mucho más potentes que el EMATE.

### Parte experimental

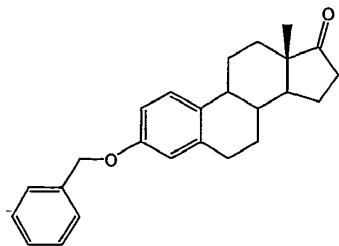
#### 55 1 - Procedimientos generales

60 Todos los productos químicos se adquirieron de Aldrich Chemical Co. (Gillingham, Dorset, Reino Unido) o Lancaster Synthesis (Morecambe, Lancashire, Reino Unido). Todos los disolventes orgánicos de calidad A. R. fueron suministrados por Fisons plc (Loughborough, Reino Unido). La N,N-dimetilformamida (DMF) y la N,N-dimetilacetamida (DMA) anhidras, se utilizaron respectivamente para todas las N-alkilaciones y las reacciones de sulfamoiación, se adquirieron en Aldrich y se almacenaron a presión positiva de N<sub>2</sub> después de su uso. Se preparó cloruro de sulfamoilo mediante una adaptación del procedimiento de Apel y Berger<sup>48</sup> y se almacenó como solución en tolueno tal como describe Woo y col.<sup>16</sup> Un volumen apropiado de esta solución se concentró de forma reciente al vacío inmediatamente antes de su uso.

E1S y E1 se adquirieron de Sigma Chemical Co. (Poole, Reino Unido). [6,7-<sup>3</sup>H]E1S (actividad específica, 50 Ci/mmoles) y [4-<sup>14</sup>C]E1 (actividad específica, 52 mCi/mmol) se adquirieron en New England Nuclear (Boston, MA). [6,7-<sup>3</sup>H]E1 (actividad específica, 97 Ci/mmol) se adquirió en el Amersham International Radiochemical Centre (Amersham, Reino Unido).

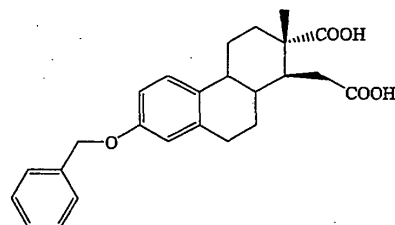
5 Se realizó la cromatografía en capa fina (TLC) en placas recubiertas previamente (gel de sílice 60 F254 en hojas de aluminio para TLC de Merck, Art. nº 5554). Se detectaron el/los producto(s) y el material de partida (SM) observándolos bajo luz ultravioleta o tratando con solución metanólica de ácido fosfomolibdico seguido de calentamiento. Se realizó la cromatografía en columna ultrarrápida sobre gel de sílice (Sorbisil C60). Se determinaron los espectros IR como discos de KBr utilizando un FT-IR Spectrum RXI de Perkin-Elmer y las posiciones del pico se expresan en cm<sup>-1</sup>. Se registraron los espectros RMN de <sup>1</sup>H y RMN de <sup>13</sup>C editados en DEPT con los espectrómetros de RMN JMN-GX 400 y los desplazamientos químicos se describen en partes por millón (ppm, δ) correspondientes a tetrametilsilano (TMS) como patrón interno. Para describir las resonancias en los espectros RMN de <sup>1</sup>H y RMN de <sup>13</sup>C se usan las abreviaturas siguientes: a., ancho; s, singlete; d, doblete; t, triplete; c, cuartete; m, multiplete y combinaciones tales como dd, doblete de dobletes. Los desplazamientos químicos para los sistemas AB (δ<sub>A</sub> y δ<sub>B</sub>) se aproximaron tomando la media de cada doblete y la correspondiente constante de acoplamiento marcada J<sub>AB</sub> o J<sub>BA</sub>. Como ejemplo, se calcularon δ<sub>A</sub> y δ<sub>B</sub> siguiendo la fórmula mostrada en el apéndice 2 para el compuesto 21. Se realizó el análisis por HPLC en un instrumento Waters Millenium32 equipado con un detector Waters 996 PDA. Se registraron las trazas en una columna Waters Radialpack C18, de 8x100 mm con un gradiente de metanol/agua a 2 ml/min. Se registraron los espectros de masas en el Mass Spectrometry Service Center, Universidad de Bath. Se realizó la FAB-MS utilizando alcohol m-nitrobencílico (NBA) como matriz, y el Microanálisis Service, Universidad de Bath realizó los análisis elementales. Se determinaron los puntos de fusión utilizando un bloque Thermo Galen Kofler de Reichert-Jung y son incorrectos.

#### 25 3-Benciloxi-estrona



30 Se añadió hidruro de sodio (dispersión al 60 % en aceite mineral, 0,68 g, 20,34 mmol) a una solución agitada de estrona (5,0 g, 18,49 mmol) en DMF anhidro (50 ml) a 0 °C en atmósfera de N<sub>2</sub> y la suspensión resultante se agitó durante 1 hora. Después se añadió bromuro de bencilo (2,42 ml, 20,34 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a 80 °C durante 4 horas. La solución resultante se vertió en hielo/agua y la fracción orgánica que se separó se extrajo en acetato de etilo (150 ml), se lavó con agua (4 x 50 ml), se secó (MgSO<sub>4</sub>), se filtró y se evaporó al vacío. El producto bruto amarillo pálido resultante se recristalizó a partir de alcohol isopropílico dando 3-benciloxi-estrona como cristales escamados blancos (4,73 g, 71 %): pf 129-131 °C [lit.<sup>26</sup> (éter de petróleo) 132-134 °C]. IR (KBr) ν<sub>max</sub> 3100, 2950-2840, 1730, 1600, 1500 cm<sup>-1</sup>. RMN de <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>) δ 0,91 (3H, s, C-18-H<sub>3</sub>), 1,41-2,54 (13H, m), 2,86-2,93 (2H, m, C-6-H<sub>2</sub>), 5,04 (2H, s, OCH<sub>2</sub>Ar), 6,73 (1 H, d, J = 2,5 Hz, C-4-H), 6,80 (1 H, dd, J = 8,6 Hz y J = 2,5 Hz, C-2-H), 7,20 (1 H, d, J = 8,6 Hz, C-1-H) y 7,30-7,44 (5H, m, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>).

#### 40 Ácido 3-benciloxi-marrianólico



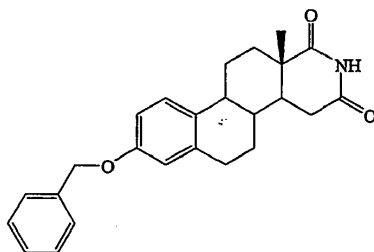
45 Una solución de yodo (7,6 g, 29,94 mmol) en 95 ml de MeOH y una solución de KOH (13,7 g) en 27 ml de agua y 61 ml de MeOH se añadieron gota a gota y alternativamente a una solución agitada de 3-benciloxi-estrona (3,8 g, 10,54 mmol) en MeOH (1 l) de modo que el color de la mezcla siguió siendo naranja/marrón. La adición se llevó a cabo en un periodo de 45 minutos y la solución amarilla clara resultante se agitó durante la noche a temperatura ambiente en atmósfera de N<sub>2</sub>. La mezcla se concentró después y se vertió en agua (800 ml). Después de acidificación con HCl 5M, la fracción orgánica se extrajo en éter (600 ml), se lavó con tiosulfato de sodio acuoso (4x100 ml), agua (4x100 ml), se secó (MgSO<sub>4</sub>), se filtró y se evaporó al vacío. La espuma amarilla resultante (4,54 g) se disolvió después en una solución de KOH (7,6 g) en MeOH/H<sub>2</sub>O 1:2 (228 ml) y se calentó a reflujo durante 4 horas. La mezcla marrón



final se vertió en agua (800 ml) y después de acidificación con HCl 5 M las capas orgánicas se extrajeron en acetato de etilo (300 ml). Después de lavar con salmuera (4x200 ml), la capa orgánica se secó (MgSO<sub>4</sub>), se filtró y se evaporó al vacío dando un residuo amarillo (4,32 g). Este se recristalizó a partir de cloroformo/hexano 5:3 dando ácido 3-benciloxi-marrionólico como un polvo cremoso (3,25 g, 75 %): pf 212-215 °C [lit.<sup>18</sup> (MeOH ac.) 226-227 °C].

5 IR (KBr)  $\nu_{\max}$  3050-2650, 1700, 1600-1500 cm<sup>-1</sup>. RMN de <sup>1</sup>H (DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  1,02 (3H, s, C-18-H<sub>3</sub>), 1,20-2,78 (11H, m), 2,72-2,76 (2H, m, C-6-H<sub>2</sub>), 5,05 (2H, s, OCH<sub>2</sub>Ar), 6,68 (1 H, d, *J* = 2,5 Hz, C-4-H), 6,75 (1 H, dd, *J* = 8,7 Hz y *J* = 2,5 Hz, C-2-H), 7,18 (1H, d, *J* = 8,7 Hz, C-1-H), 7,30-7,42 (5H, m, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>) y 12,14 (2H, s, CO<sub>2</sub>H); RMN de <sup>13</sup>C (DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  15,4 (c), 25,8, 26,5, 29,7, 35,8, 36,1 (todos t), 40,7, 41,8, 42,5 (todos d), 46,2 (s), 68,9 (t), 112,3, 114,0, 126,3, 127,3 (2x), 127,5, 128,2 (2x) (todos d), 131,6, 137,2 (2x), 156,0, 173,9 y 178,6 (todos s). EM *m/z* (FAB+) 408,2 [41, M<sup>+</sup>], 91,1 [100, (CH<sub>2</sub>Ar)<sup>+</sup>]. HRMS *m/z* (FAB+) calculada para C<sub>25</sub>H<sub>28</sub>O<sub>5</sub>: 408,1937. Encontrada: 408,1940.

3-Benciloxi-16,17-seco-estra-1,3,5(10)-trieno-16,17-imida

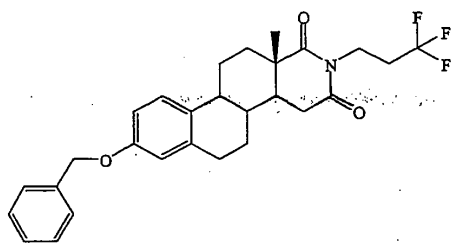


15 Se calentaron ácido 3-bencil-marrionólico (3,25 g, 7,96 mmol) y urea (3,25 g, 54,11 mmol) a 180 °C en atmósfera de N<sub>2</sub> durante 45 minutos. El residuo marrón resultante se trituró y se añadió acetona (200 ml) dando una suspensión marrón. Esta mezcla se concentró a aproximadamente 100 ml, se añadió gel de sílice y el disolvente se eliminó. El polvo resultante se transfirió a una columna de cromatografía ultrarrápida. La elución con cloroformo/acetona (96:4)

20 dio 3-benciloxi-16,17-seco-estra-1,3,5(10)-trieno-16,17-imida como un sólido blanco (2,75 g, 89 %). Para el análisis, se recristalizó una muestra a partir de EtOH dando ajustas incoloras: pf 225-226 °C. IR (KBr)  $\nu_{\max}$  3260, 2900-2870, 1720, 1700, 1600-1500 cm<sup>-1</sup>. RMN de <sup>1</sup>H (DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  1,09 (3H, s, C-18-H<sub>3</sub>), 1,20-2,72 (11 H, m), 2,76-2,80 (2H, m, C-6-H<sub>2</sub>), 5,05 (2H, s, OCH<sub>2</sub>Ar), 6,72 (1 H, d, *J* = 2,5 Hz, C-4-H), 6,76 (1H, dd, *J* = 8,7 Hz y *J* = 2,5 Hz, C-2-H), 7,19 (1H, d, *J* = 8,7 Hz, C-1-H), 7,31-7,44 (5H, m, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>) y 10,63 (1H, s, NH); RMN de <sup>13</sup>C (DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  16,2 (c), 25,1, 25,2, 29,2, 32,4, 32,7 (todos t), 37,8, 40,3 (todos d), 40,5 (s), 41,9 (d), 68,9 (t), 112,2, 114,1, 126,0, 127,3 (2x), 127,4, 128,2 (2x) (todos d), 131,5, 137,0, 137,1, 156,0, 172,1 y 178,9 (todos s). EM *m/z* (FAB+) 390,2 [58, (M+H)<sup>+</sup>], 91,1 [100, (CH<sub>2</sub>Ar)<sup>+</sup>]. HRMS *m/z* (FAB+) calculada para C<sub>25</sub>H<sub>27</sub>NO<sub>3</sub>: 390,2069. Encontrada: 390,2059. Anal. calculado para C<sub>25</sub>H<sub>27</sub>NO<sub>3</sub>: C: 77,09; H: 6,99; N: 3,60. Encontrado: C: 76,90; H: 6,99; N: 3,73.

30 3-Benciloxi-1N-(3,3,3-trifluoropropil)-6,17-seco-estra-1,3,5(10)-trieno-16,17-imida (CMS01179)

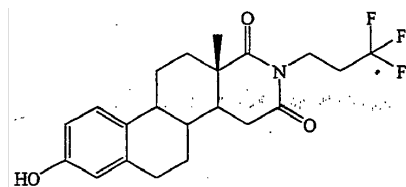
C<sub>28</sub>H<sub>30</sub>F<sub>3</sub>NO<sub>3</sub> PM 485,54



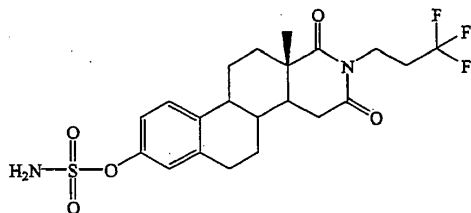
35 A una solución de 3-benciloxi-16,17-seco-estra-1,3,5(10)-trieno-16,17-imida (2,0 g, 5,14 mmol) en acetonitrilo anhidro (250 ml) se añadió carbonato de potasio (0,780 g, 5,66 mmol, 1,1eq), yoduro de potasio (0,1 g), 3-bromo-1,1,1-trifluoropropano (1,61 g, 10,3 mmol, 2 eq y 18-corona-6 (2,98 g, 11,31 mmol, 2,2 eq) y la reacción se calentó a 82 °C durante 24 horas. Después de enfriamiento y evaporación del acetonitrilo, la espuma naranja resultante se redisolvió en acetato de etilo (200 ml) y se lavó con salmuera (2 x 200 ml), se secó sobre sulfato de magnesio y se evaporó. La cromatografía ultrarrápida (200 g de sílice usando columna de 5 cm de Ø, se purgó con acetato de etilo al 20 %/hexanos), se eluyó el *compuesto del título* como un sólido cristalino blanco (1,36 g, 54 %); pf 180-182 °C; *R<sub>f</sub>*: 0,52 (acetato de etilo al 20 %/hexanos); RMN de <sup>1</sup>H (270 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  1,38 (3H, s, 18-CH<sub>3</sub>), 1,10-2,00 (6H, m), 2,20-2,50 (6H, m), 2,80-2,90 (2H, m), 2,97 (1 H, dd, *J* = 4,7 y 8,3 Hz) 3,90-4,20 (2H, m, CH<sub>2</sub>-CF<sub>3</sub>), 5,02 (2H, s, O-CH<sub>2</sub>) 6,71 (1 H, d, *J* = 2,7 Hz, 4-CH), 6,79 (1 H, dd, *J* = 2,7 y 8,5 Hz, 2-CH) y 7,20 (1 H, d, *J* = 8,5 Hz, 1-CH) y 7,30-7,50 (5H, m, 5 x ArH); RMN de <sup>13</sup>C (67,9 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  16,8 (CH<sub>3</sub>), 25,5, 25,8 y 29,7 (todos CH<sub>2</sub>), 31,9 (c, *J* = 29,3 Hz, CH<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>), 33,3, 33,5 y 33,7 (todos CH<sub>2</sub>), 38,6 y 40,3 (ambos CH), 41,6 (CH<sub>2</sub>), 42,5 (CH), 70,0 (O-CH<sub>2</sub>), 112,8, 114,7 y 126,4 (todos CH), 127,5 (2 x CH), 128,0 (CH) y 128,7 (2 x CH), 131,6, 137,1, 137,5, 157,1, 171,6 y 178,2 (todos C); RMN de <sup>19</sup>F (376 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  -65,30 (3F, t, *J* = 10,53 Hz CF<sub>3</sub>); HPLC (70 % CH<sub>3</sub>CN en H<sub>2</sub>O) *t<sub>r</sub>* = XXX (100 %); CLEM (AP<sup>-</sup>), *m/z* 394,26 (M<sup>-</sup>, 100 %). Anal. calcd para C<sub>28</sub>H<sub>30</sub>F<sub>3</sub>NO<sub>3</sub>: C 69,26, H 6,23, N 2,28. Encontrado:

50

C, H, N %.

3-Hidroxi-1-*N*-(3,3,3-trifluoropropil)-6,17-*seco*-estra-1,3,5(10)-trieno-16,17-imida (CMS01181, STX1937)5 C<sub>21</sub>H<sub>24</sub>F<sub>3</sub>NO<sub>3</sub> PM 395,42

10 Una solución de 3-benciloxi-*N*-(3,3,3-trifluoropropil)-16,17-*seco*-estra-1,3,5(10)-trieno-16,17-imida (1,10 g, 2,27 mmol) con Pd al 10 %/C (0,10 g) en metanol (40 ml) y tetrahidrofurano (40 ml) se agitó en atmósfera de hidrógeno durante 3 horas. Después de la eliminación del catalizador por filtración a través de un lecho de celite, la evaporación del disolvente dio un sólido blanco. La recristalización (dietiléter/hexano) dio el *compuesto del título* como un sólido cristalino blanco (0,870 g, 97 %); pf 194-196 °C; *R<sub>f</sub>*: 0,41 (acetato de etilo al 20 %/hexanos); RMN de <sup>1</sup>H (270 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 1,16 (3H, s, 18-CH<sub>3</sub>); 1,20-1,60 (3H, m), 1,65-2,00 (3H, m), 2,20-2,50 (6H, m), 2,80-2,90 (2H, m), 2,96 (1H, dd, J = 4,7 y 8,3 Hz) 3,90-4,20 (2H, m, CH<sub>2</sub>-CF<sub>3</sub>), 6,57 (1 H, d, J = 2,5 Hz, 4-CH), 6,64 (1 H, dd, J = 2,5 y 8,4 Hz, 2-CH) y 7,15 (1 H, d, J = 8,4 Hz, 1-CH); RMN de <sup>13</sup>C (67,9 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 16,3 (CH<sub>3</sub>), 25,5, 25,7 y 29,5 (todos CH<sub>2</sub>), 31,9 (c, J = 28,7 Hz, CH<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>), 33,2 (c, J = 3,1 Hz, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>), 33,5 y 33,7 (ambos CH<sub>2</sub>), 38,6 y 40,2 (ambos CH), 41,6 (C), 42,4 (CH), 113,1 y 115,0 (ambos CH), esperado 126,0 (c, J = 276,8 Hz, CF<sub>3</sub>) pero ausente, 126,5 (CH), 131,4, 137,4, 153,6, 171,6 y 178,4 (todos C); RMN de <sup>19</sup>F (376 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ -65,341 (3F, t, J = 10,52 Hz, CF<sub>3</sub>); HPLC (CH<sub>3</sub>CN al 70 % en H<sub>2</sub>O) *t<sub>r</sub>* = 2,58 min (95,15 %); CLEM (AP<sup>+</sup>), *m/z* 394,26 (M<sup>+</sup>, 100 %). Anal. calcd para C<sub>21</sub>H<sub>24</sub>F<sub>3</sub>NO<sub>3</sub>: C 63,79, H 6,12, N 3,52. Encontrado: C, H, N % HRMS (ES<sup>+</sup>) Hallado 396,1765; C<sub>21</sub>H<sub>25</sub>F<sub>3</sub>NO<sub>3</sub> (M+H)<sup>+</sup> requiere 396,1781.

25 3-Sulfomiloxi-1-*N*-(3,3,3-trifluoropropil)-6,17-*seco*-estra-1,3,5(10)-trieno-16,17-imida (CMS01188, STX1938)C<sub>21</sub>H<sub>25</sub>F<sub>3</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>S PM 474,49

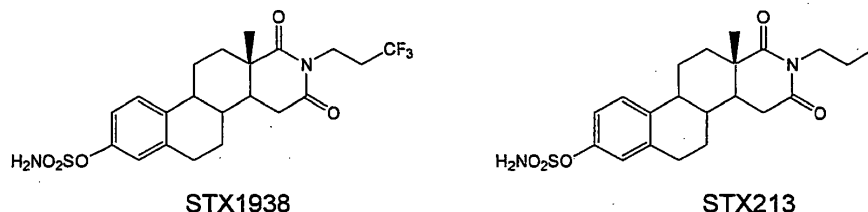
30 Se evaporó cloruro de sulamoilo 0,6 M en tolueno (5,80 ml, 3,50 mmol, 2,5 eq.) a presión reducida a temperatura ambiente. El sólido blanco resultante se disolvió en *N,N*-dimetilacetamida anhidra (2,5 ml) y se enfrió a 0 °C en atmósfera de nitrógeno. A esta solución agitada se añadió gota a gota una solución de 3-hidroxi-*N*-(3,3,3-trifluoropropil)-16,17-*seco*-estra-1,3,5(10)-trieno-16,17-imida (0,55 g, 1,39 mmol) en *N,N*-dimetilacetamida (2,5 ml), después se retiró el enfriamiento externo y la reacción se dejó calentar a temperatura ambiente durante la noche.

35 La suspensión marrón clara obtenida se diluyó con acetato de etilo (50 ml) y se lavó con solución acuosa saturada de cloruro de amonio (3 x 50 ml) y salmuera (50 ml), después se secó sobre sulfato de magnesio anhidro, se filtró y se evaporó a presión reducida. La goma resultante se disolvió en la cantidad mínima de diclorometano (5 ml), se añadió dietiléter (25 ml), después se añadió hexano (100 ml) en cantidades pequeñas para iniciar la precipitación. La recristalización (diclorometano/hexano) dio el *compuesto del título* como un sólido cristalino blanco (0,584 g, 88 %); pf 192-194 °C; *R<sub>f</sub>*: 0,18 (acetato de etilo al 20 %/hexanos); RMN de <sup>1</sup>H (270 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 1,16 (3H, s, 18-CH<sub>3</sub>), 1,20-2,00 (6H, m), 2,20-2,50 (6H, m), 2,85-2,95 (2H, m), 2,96 (1H, dd, J = 4,7 y 8,3 Hz) 3,92-4,15 (2H, m, CH<sub>2</sub>-CF<sub>3</sub>), 4,97 (2H, s, NH<sub>2</sub>), 7,05 (1 H, d, J = 2,5 Hz, 4-CH), 6,64 (1 H, dd, J = 2,5 y 8,5 Hz, 2-CH) y 7,15 (1 H, d, J = 8,5 Hz, 1-CH); RMN de <sup>13</sup>C (67,9 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 16,3 (CH<sub>3</sub>), 25,3, 25,4 y 29,3 (todos CH<sub>2</sub>), 31,9 (c, J = 29,1 Hz, CH<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>), 33,2 (c, J = 3,8 Hz, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>), 33,4 y 33,5 (ambos CH<sub>2</sub>), 38,0 y 40,2 (ambos CH), 41,4 (C), 42,6 (CH), 119,3 y 121,8 (ambos CH), 126,0 (c, J = 276,8 Hz, CF<sub>3</sub>), 126,8 (CH), 138,2, 138,25, 148,1, 171,3 y 178,1 (todos C); RMN de <sup>19</sup>F (376 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ -65,317 (3F, t, J = 10,52 Hz, CF<sub>3</sub>); HPLC (CH<sub>3</sub>CN al 90 % en H<sub>2</sub>O) *t<sub>r</sub>* = 1,070 s (1,45 %) *t<sub>r</sub>* = 1,921 s (98,55 %); CLEM (ES<sup>-</sup>) *m/z* 473,16 [(M-H)<sup>-</sup>, 100 %] HRMS (ES<sup>+</sup>) hallada 497,1325; C<sub>21</sub>H<sub>25</sub>F<sub>3</sub>N<sub>2</sub>NaO<sub>5</sub>S (M+Na)<sup>+</sup> requiere 497,1334 HRMS (FAB<sup>+</sup>) calculada para XXX (M)<sup>+</sup>, hallada; Anal. calculada para C<sub>21</sub>H<sub>25</sub>F<sub>3</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>S. C 53,16, H 5,13, N 5,90. Encontrado: C, H, N %.

50

Comparación de valores de Cl<sub>50</sub> del compuesto de la invención con inhibidor de sulfatasa esteroidea conocida.Los valores de Cl<sub>50</sub> de STX1938 se midieron en células JEG-3. La Cl<sub>50</sub> para STX 1938 es 35 pM, que se compara

con un valor de 180 pM para STX213 medido en el mismo ensayo. Se muestran las estructuras de STX1938 y STX213 con fines comparativos:



5 La figura 2 muestra la inhibición de la actividad de STS en hígados de ratas 15 días después de la administración por vía oral de una dosis única de STX1938. Con fines comparativos, para STX213 la actividad de STS había recuperado el 69 %, es decir, todavía solo el 31 % de inhibición.

#### 10 Eficacia in vivo de STX1938

##### Procedimiento de ensayo

Células MCF-7<sub>STS</sub> (Células que sobreexpresan STS)

15 Se cultivaron de forma rutinaria células MCF-7 en RPMI con FCS al 10 %. Se clonaron los ADNc para el STS en el vector pCl-Neo que contiene el gen resistente a neomicina y se transfirieron a células MCF-7. Se seleccionaron los clones estables usando G418 y se establecieron líneas celulares y se evaluaron para determinar la expresión y la actividad.

20 Ratones

Se obtuvieron ratones hembra MF-1 sin peol ovariectomizados atímicos (*nu/nu*) (edad 6-8 semanas) de Harlan Olac. Veinticuatro horas antes de la inoculación de células MCF-7<sub>STS</sub> se inyectó a los animales s.c. sulfato de estradiol (E2S). El día de la inoculación se inyectaron  $5 \times 10^6$  células MCF-7<sub>STS</sub> (50  $\mu$ l en Matrigel) s.c. en el costado derecho de los ratones. Después de la inoculación de células, se inyectó a los ratones E2S (100  $\mu$ g/50  $\mu$ l) y recibieron otra inyección de estos esteroides 24 h más tarde. Después, los ratones recibieron E2S 3 veces por semana hasta finalizar el estudio. Cuando los tumores hubieron alcanzado aproximadamente 80 mm<sup>3</sup> se inició la dosificación con compuestos que se administraron oralmente (100  $\mu$ l; vehículo THF al 10 %: propilenglicol al 90 %) a 1 mg/kg. Las mediciones de los tumores y el peso de los animales se registraron semanalmente. Las muestras de tejidos de tumores y del hígado junto con sangre se recogieron en varios puntos temporales después de suspender la dosificación.

35 Estudio 1

Se dosificó 5/7 días por semana a los ratones STX1938 a 0,1 mg/kg, 1 mg/kg y 10 mg/kg p.o. durante la duración del estudio.

40 Estudio 2

Para comparar la eficacia de STX1938 frente a STX64 (667 coumate) se dosificó a los ratones una vez a la semana durante 7 semanas cualquier compuesto a 1 mg/kg, p.o.

45 Tumores

Los tumores se midieron semanalmente y se calcularon sus volúmenes usando la ecuación longitud x anchura<sup>2</sup>/2.

##### Mediciones de la actividad STS

50 Se homogeneizaron muestras de tejidos de tumores o de hígado en solución salina tamponada con fosfatos (pH 7,4 que contenía sacarosa 250 mM). Se incubaron partes alícuotas por duplicado durante 4 h con [<sup>3</sup>H -E1S] (53 Ci/mmol, 2-3 nM, Perkin Elmer, Boston MA) ajustadas a una concentración final de 20  $\mu$ M con sustrato no marcado (Sigma. Poole, Dorset, Reino Unido). Se incluyó [4-<sup>14</sup>C] estrona en la mezcla de reacción para realizar un seguimiento de las pérdidas del procedimiento. Al finalizar el periodo de incubación, el producto estrona se aisló de la mezcla de reacción mediante partición con tolueno. Se retiró una parte alícuota del tolueno y se midió la radioactividad de <sup>3</sup>H y <sup>14</sup>C mediante espectrometría de centelleo. La masa de sulfato de estrona hidrolizado se calculó a partir de los recuentos de <sup>3</sup>H detectados, corregidos para pérdidas del procedimiento.

##### Concentraciones de estradiol en plasma

Las concentraciones de estradiol en plasma se midieron mediante un procedimiento de inmunoensayo específico.

Análisis de los datos

5 Se usó el ensayo t de Student para evaluar la importancia de las diferencias en volúmenes de tumores para los distintos grupos.

Resultados

10 Estudio 1

La dosificación con STX1938 a 1mg/kg y 10 mg/kg redujo significativamente el crecimiento de tumores estimulados por E2S en ratones sin pelo (figura 3). La actividad de STS tumoral a las dosis de 1 mg/kg y 10 mg/kg se inhibió casi completamente (figura 4).

Estudio 2

20 Aunque la dosificación una vez por semana con STX1938 redujo significativamente el crecimiento de tumores a este régimen de dosificación, STX64 fue ineficaz (figura 5). La dosificación semanal con STX1938 tuvo como consecuencia una inhibición casi completa de STS en tumores (figura 7) e hígado (figura 6). La actividad de esta enzima continuó inhibiéndose durante un periodo prolongado después de finalizar la dosificación. Por el contrario, STX64 a este régimen de dosificación, solo redujo la actividad de STS en tumores o hígado en el 25 – 50 %. Los niveles de estradiol en plasma se redujeron significativamente durante un periodo prolongado después de suspender la dosificación con STX1938 (figura 8).

Resumen

30 El STX1938 es un inhibidor de STS potente que, a dosis de 1 mg/kg y 10 mg/kg, inhibe significativamente el crecimiento de xenoinjertos estimulados por E2S derivados de células de cáncer de mama MCF-7 que sobreexpresan STS. La actividad de STS en tumores está casi completamente inhibida por el STX1938.

35 El STX1938, cuando se administró en un esquema de dosificación de una vez por semana es capaz de bloquear el crecimiento estimulado por E2S de tumores de xenoinjertos derivados de células MCF-7 que sobreexpresan STS. La actividad de STS en tumores e hígado también se inhibió completamente. La eficacia superior del STX1938 con respecto al STX64 cuando se administra semanalmente se piensa que es resultado de la duración de su acción más prolongada que tiene *in vivo* en comparación con la del STX64. Esto sugiere que el STX1938 será adecuado para desarrollarlo como agente terapéutico para administrar una vez a la semana.

40 **Abreviaturas**

Å Angstrom

Ac acetilo

45 EM prec. espectrometría de masas de precisión

Adiol androstenediol

50 Adiona androstenediona

AG aminoglutetimida

ac acuosa

55 Ar arilo

arom aromático

60 BMA ácido 3-bencil-marrianólico

Bn bencilo

a. ancho

65 °C grados Celsius

	<sup>13</sup> C RMN RMN de carbono
5	aprox. aproximadamente cm centímetros COUMATE 4-metilcumarina-7-O-sulfamato
10	δ desplazamiento químico en ppm d doblete
15	dd doblete de dobletes DHEA deshidroepiandrosterona DMF N,N-dimetilformamida
20	DMSO dimetilsulfóxido E1 estrona
25	E2 estradiol EMATE 3-O-sulfamato de estrona ER receptor de estrógeno
30	eq equivalente FAB bombardeo atómico rápido
35	g gramo(s) h hora(s) hER receptor de estrógeno humano
40	<sup>1</sup> H RMN RMN de protones HPLC cromatografía líquida de alta presión
45	17β-HSD 17β-hidroxiesteroide deshidrogenasa Hz hercios
50	CI <sub>50</sub> concentración que produce el 50 % de inhibición IR infrarrojo J acoplamiento constante en Hz
55	λ <sub>max</sub> longitud de onda de absorción máxima lit. referencia bibliográfica
60	μ micro m multiplete M mol por litro
65	m-NBA alcohol meta-nitrobencílico ARN-m ácido ribonucleico mensajero

- MHz megahercio
- 5 min minuto
- mmol milimol
- mol mol
- 10 p.f. punto de fusión
- EM espectrometría de masas
- 15 m/z relación masa a carga
- NADPH fosfato de nicotinamida adenina dinucleótido
- nM nanomol
- 20 RMN resonancia magnética nuclear
- ppm partes por millón
- R<sub>f</sub> factor de retención
- 25 t.a. temperatura ambiente
- S. D. desviación típica
- 30 Pd-C paladio-carbón
- TBAF fluoruro de tetrabutilamonio
- TBDMS terc-butil-dimetilsililo
- 35 THF tetrahidrofurano
- TLC cromatografía en capa fina
- 40 TMS tetrametilsilano
- v frecuencia de una señal en hercios
- 45 vs frente a.

**Referencias**

- (1) Saunders, C. M.; Baum, M. Management of early breast cancer. *Oncol. in Pract* 1994, 3, 4-8
- 50 (2) Nicholls P. J. Breast cancer management: science and care together. *Pharm. J.* 1997, 259, 459-470
- (3) Miller, B. A.; Kolonel, L. N.; Bernstein, L.; Young, Jr. J. L.; Swanson, G. M.; West, D.; Key, C. R.; Liff, J. M.; Glover, C. S.; Alexander, G. A.; y col. (eds). *Racial/Ethnic patterns of cancer in the united states 1988-1992*. National Cancer Institute 1996
- 55 (4) (a) Kaae, S. y Johansen, H. Does simple mastectomy followed by irradiation offer the survival comparable to radical procedures? *International Journal of Radiation Oncology, Biology, Physics.* 1977, 2, 1163-1166 (b) Holli, K.; Saaristo, R.; Isola, J.; Joensuu, H. y Hakama, M. Lumpectomy with or without postoperative radiotherapy for breast cancer with favourable prognostic features: results of a randomised study. *Br. J. Cancer* 2001, 84(2), 164-169
- 60 (5) Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group. Effects of adjuvant Tamoxifen and of cytotoxic therapy on mortality in early breast cancer. *N. Eng. J. Med.* 1988, 319, 1681-1692
- 65 (6) Gorski, J.; Toft, D.; Shyamala, G.; Smith, D.; Notides, A. Hormones receptors: studies on the interaction of estrogens with the uterus. *Recent Prog. Horm. Res.* 1968, 24, 45-80

- (7) Gorski, J. y Gannon F. Current models of steroid hormone action: a critique. *Ann. Rev. Physiol.* 1976, 38, 425-450
- (8) Coulson, C. J. Steroid biosynthesis and action, 2ª edición. *Molecular Mechanism of Drug Action.* 1994, 95- 122
- 5 (9) (a) Horwitz, K. B. y McGuire, W. L. Nuclear mechanism of estrogen action: effects of oestradiol and antiestrogens on estrogens receptors and nuclear receptor processing. *J. Biol. Chem.* 1978, 253, 8185-8191 (b) Horwitz, K. B.; Koseki, Y. y McGuire, W. L. Oestrogen control of progesterone receptor in human breast cancer: role of oestradiol and antiestrogen. *Endocrinology* 1978, 103, 1742-1751
- 10 (10) (a) Jordan, V. C. The strategic use of antiestrogens to control the development and growth of breast cancer. *Cancer.* 1992, 70, 977-982 (b) Powles, T. J. Breast cancer prevention *Breast Cancer Res.* 2000, 2, 10-12
- (11) Wakeling, A. E.; Bowler, J. Steroidal pure antiestrogens. *J. Endocrinol.* 1987, 112, R7-R10
- 15 (12) Sexton, M. J.; Gherman, R. B. Selective estrogen receptor modulators: the ideal estrogen replacement? *Prim. Care. Update Ob/Gyns* 2001, 8(1), 25-30
- (13) Agnusdei, D.; Liu-Leage, S.; Augendre-Ferrante, B. *Ann. Endocrinol.* 1999, 60 (3), 242-246
- 20 (14) John Smith, H.; Nicholls, P. J.; Simons, C.; Le Lain, R. Inhibitors of steroidogenesis as agents for the treatment of hormone-dependent breast cancer. *Exp. Opin. Ther. Patents* 2001, 11, 789-824
- (15) (a) Castiglione-Gertsch, M. New aromatase inhibitors: more selectivity, less toxicity, unfortunately, the same activity. *Eur. J. Cancer* 1996, 32A, 393-395 (b) Miller, W. R. Aromatase inhibitors - where are we now? *Br. J. Cancer* 1996, 73, 415-417
- 25 (16) Santner, S. J.; Feil, P. D y Santen, R. J. In situ estrogen production via the oestrone sulphatase pathway in breast tumour: relative importance vs the aromatase pathway. *J. Clin. Endocrin. Metab.* 1984, 59, 29-33
- 30 (17) Purohit, A. Williams, G. J.; Howarth, N. M.; Potter, B. V. L. y Reed, M. J. Inactivation of steroid sulphatase by an active site-directed inhibitor, estrone-3-O-sulfamate. *Biochem.* 1995, 34, 11508-11514
- (18) Purohit, A.; Williams, G. J.; Roberts, C. J.; Potter, B. V. L.; Reed, M. J. In vivo inhibition of oestrone sulphatase and dehydroepiandrosterone sulphatase by estrone-3-O-sulfamate. *Int. J. Cancer* 1995, 62, 106-111
- 35 (19) Woo, L. W. L.; Howarth, N. M.; Purohit, A.; Hejaz, H. A. M.; Reed, M. J. y Potter, B. V. L. Steroidal and nonsteroidal sulfamates as potent inhibitors of steroid sulphatase. *J. Med. Chem.* 1998, 41, 1068-1083.
- (20) Purohit, A.; Woo, L. W. L.; Singh, A.; Winterborn, C. J.; Potter, B. V. L. y Reed, M. J. In vivo activity of 4-methylcoumarin-7-O-sulfamate, a non steroidal, non estrogenic steroid sulphatase inhibitor. *Cancer Res.* 1996, 56, 4950-4955
- 40 (21) (a) Woo, L. W. L.; Purohit, A.; Malini, B.; Reed, M. J. y Potter, B. V. L. Potent active site-directed inhibition of steroid sulphatase by tricyclic coumarin-based sulfamates. *Chemistry & Biology* 2000, 7, 773-791 (b) Malini, B.; Purohit, A.; Ganeshapillai, D.; Woo, L. W. L.; Potter, B. V. L.; Reed, M. J. Inhibition of steroid sulphatase activity by tricyclic coumarin sulfamates. *J. Steroid Biochem. molec. Biol.* 2000, 75, 253-25 (c) Purohit, A.; Woo, L. W. L.; Barrow, D.; Hejaz, H. A. M.; Nicholson, R. I.; Potter, B. V. L.; Reed, M. J. Non-steroidal and steroidal sulfamates: new drugs for cancer therapy. *mol. Cell. Endocrinol.* 2001, 171, 129-135
- 50 (22) Purohit, A.; Woo, L. W. L.; Potter, B. V. L.; Reed, M. J. In vivo inhibition of oestrone sulphatase activity and growth of nitrosomethylurea-induced mammary tumours by 667 COUMATE. *Cancer Res.* 2000, 60, 3394- 3396
- (23) Claussner, A.; Nédelec, L.; Nique, F.; Philibert, D.; Teush, G.; Van de Velde, P. 11b-Amidoalkylestradiols as new series of pure anti-estrogens. *J. Steroid. Biochem.* 1992, 41, 609-614
- 55 (24) Li, P-K.; Chu, G-C.; Guo, J. P.; Selcer, K. W. Development of potent non-estrogenic oestrone sulphatase inhibitors. *Steroids* 1998, 63, 425-432
- (25) (a) Jin, J-Z.; Lin, S-X. Human estrogenic 17b-hydroxysteroid dehydrogenase: predominance of oestrone reduction and its induction by NADPH. *Biochem. Biophys. Res.* 1999, 259, 489-493 (b) Penning, T. M. molecular endocrinology of hydroxysteroid dehydrogenases. *Endocrine Reviews* 1997, 18, 281-305
- 60 (26) (a) Labrie, F. At the cutting edge. *Intracrinology. mol. Cell. Endocrinol.* 1991, 78, C113-C118 (b) Poulin, R.; Labrie, F. Stimulation of cell proliferation and estrogenic response by adrenal C19-?5-steroids in the ZR-75-1 Human Breast Cancer Cell Line. *Cancer Res.* 1986, 46, 4933-4937
- 65

- (27) (a) Peltoketo, H.; Luu-The, V.; Simard, J.; Adamski, J. 17b-hydroxysteroid dehydrogenase (HSD)/17-ketosteroid reductase (KSR) family; nomenclature and main characteristics of the 17 HSD/KSR enzymes. *J. mol. Endocrinol.* 1999, 23, 1-11 (b) Peltoketo, H.; Isomaa, V.; Maentausta, O.; Vihko, R. Complete amino acid sequence of human placental 17b-hydroxysteroid dehydrogenase deduced from cDNA. *FEBS Lett.* 1988, 239, 73-77 (c) Wu, L.; Einstein, M.; Geissler, W. M.; Chan, H. K.; Elliston, K. O.; Andersson, S. Expression cloning and characterization of human 17b-hydroxysteroid dehydrogenase type 2, a microsomal enzyme possessing 20a-hydroxysteroid dehydrogenase activity. *J. Biol. Chem.* 1993, 268, 12964-12969 (d) Geissler, W. M.; Davis, D. L.; Wu, L.; Bradshaw, K. D.; Patel, S.; Mendonca, B. B.; Elliston, K. O.; Wilston, J. D.; Russell, D. W.; Andersson, S. Male pseudohermaphroditism caused by mutation of testicular 17b-hydroxysteroid dehydrogenase 3. *Nat. Genet.* 1994, 7, 34-39 (e) Adamski, J.; Normand, T.; Leenders F.; Monte, D.; Begue, A.; Stehelin, D.; Jungblut, P. W.; de Launoit, Y. molecular cloning of a novel widely expressed human 80 kDa 17 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase IV. *Biochem. J.* 1995, 311, 437-443 (f) Deyashiki, Y.; Ohshima, K.; Nakanishi, M.; Sato, K.; Matsuura, K.; Hara, A. molecular cloning and characterization of mouse oestradiol 17 $\beta$ -dehydrogenase (A-specific), a member of the aldoketoreductase family. *J. Biol. Chem.* 1995, 270, 10461-10467
- (28) Tremblay, M. R.; Auger, S. y Poirier, D. Synthesis of 16-(bromoalkyl)-estradiols having inhibitory effect on human placental oestradiol 17b-hydroxysteroid dehydrogenase (17b-HSD type 1). *Bioorg. Med. Chem.* 1995, 3, 505- 523
- (29) Tremblay, M. R.; Poirier, D. Overview of a rational approach to design type I 17b-hydroxysteroid dehydrogenase inhibitors without estrogenic activity: chemical synthesis and biological evaluation. *J. Steroid. Biochem.* 1998, 66, 179-191
- (30) Collins, B. M.; Mac Lachlan, J. A.; Arnold, S. F. The estrogenic and anti-oestrogenic activities of phytochemicals with the human estrogen receptor expressed in yeast. *Steroids* 1997, 62, 365-372
- (31) (a) Makela, S.; Poutanen, M.; Kostian, M. L.; Lehtimaki, N.; Strauss, L.; Santti, R.; Vihko, R. Inhibition of 17 beta-hydroxysteroid oxidoreductase by flavonoids in breast and prostate cancer cells. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 1998, 217, 310-316
- (32) LeBail, J. C.; Laroche, T.; Marre-Foumier, F.; Habrioux, G. Aromatase and 17 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase inhibition by flavonoids. *Cancer Lett.* 1998, 133, 101-106
- (33) Coldham, N. G.; James, V. H. T. A possible mechanism for increased breast cell proliferation by progestins through increased reductive 17 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase activity. *Int. J. Cancer* 1990, 45, 174-178
- (34) Purohit, A.; Hejaz, H. A. M.; Walden, J.; MacCarthy-Marrogh, L.; Packam, G.; Potter, B. V. L.; Reed, M. J. The effect of 2-methoxyestrone-3- O-sulphamate on the growth of breast cancer cells and induced mammary tumours. *Int. J. Cancer* 2000, 85, 584-589
- (35) Heer, J.; Miescher, K. Über Steroide. Marrianol- und Doisyinoisciure. Über oestrogene carbonsäuren II. *Helv. Chim. Acta* 1945, 28, 156-165
- (36) (a) Matkovics, B.; Taródi, B.; Baláspiri, L. Rearrangement of steroids, VII. Schmidt reaction and Beckmann rearrangement of oestrone and its derivatives. *Acta Chim. Acad. Scien. Hung.* 1974, 80, 79-87 (b) Regan, B. M.; Newton Hayes, F. 17- and 17-Aza-D-homosteroids. *J. Am. Chem. Soc.* 1956, 78, 639-643
- (37) Gupta, R. y Jindal, D. P. Synthesis and biological activity of some D-ring modified oestrone derivatives. *Ind. J. Chem.* 1999, 38B, 563-571
- (38) Love, B. y Dawson, C. R. Alkylphenols related to the poison ivy principle. An improved method of synthesis involving the Na-Butanol cleavage of benzyl ethers. *J. Am. Chem. Soc.* 1956, 78, 6095-6101
- (39) Okada, M.; Iwashita, S.; Koizumi, N. Efficient general method for suffamoylation of a hydroxyl group. *Tet. Lett.* 2000, 41, 7047-7051.
- (40) C. A. Hioruchi y J. Y. Satoh, Regioselective 2-Iodination of Estradiol, Estriol & Oestrone, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 1982, 671-672.
- (41) M. Numazawa y Y. Ogura, *J. Chem Soc., Chem, Commun.* 1983, 9, 533.
- (42) Williams, G. J.; Woo, L. W. L.; Mahon, M. F.; Purohit, A.; Reed, M. J.; Potter, B. V. L. X-ray crystal structure and mechanism of action of oestrone 3-O-sulphamate, a synthetic active site-directed inhibitor of oestrone sulphatase. *Pharm. Sci.* 1996, 2, 11-16
- (43) Ghosh, D.; Pletnev, V. Z.; Zhu, D-W. y col. Structure of the human estrogenic 17 beta-hydroxysteroid

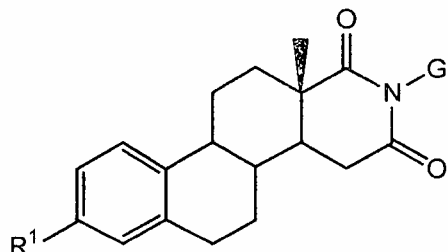


dehydrogenase at 2.20 Å resolution. *Structure*, 1995, 3, 503-513

- 5 (44) (a) Lin, S. X.; Han, Q.; Azzi, A.; Zhu, D-W.; Gongloff, A.; Campbell, R. L. 3D structure of human estrogenic 17 $\beta$ -HSD: binding with various steroids. *J. Steroid Biochem. mol. Biol.* 1999, 69, 425-429 (b) Puranen, T.; Poutanen, M.; Ghosh, D.; Vihko, R. y Vihko, P. Origin of substrate specificity of human and rat 17 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase Type 1, using chimeric enzymes and site-directed substitutions. *Endocrinology* 1997, 138, 3532-3539
- 10 (45) Breton, R.; Housset, D.; Mazza, C.; Fontecilla-Camps, J. C. The structure of a complex of human 17 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase with oestradiol and NADP<sup>+</sup> identifies two principal targets for the design of inhibitors. *Structure (Lond)* 1996, 4, 905-915
- (46) Apel, R.; Berger, G. Über das hydrazidosulfamid *Chem. Ber.* 1958, 91, 1339-1341
- 15 (47) Woo, L.W.W.; Lightowler, M.; Purohit, A.; Reed, M. J.; Potter, B. V. L. Heteroatom-substituted analogues of the active-site directed inhibitor estra-1,3,5(10)-trien-17-one-3-sulphamate inhibit oestrone sulphatase by different mechanism. *J. Steroid Biochem mol. Biol.* 1996, 57, 79-88
- (48) Duncan, L.; Purohit, A.; Howarth, N. M.; Potter, B. V. L.; Reed, M. J. Inhibition of oestrone sulphatase activity by estrone-3-methyl-thiophosphonate: a potential therapeutic agent in breast cancer *Cancer Res.* 1993, 53, 298-303.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto que tiene la fórmula XIII

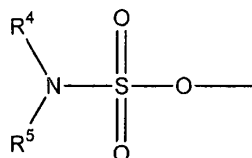


5

Fórmula XIII

en la que G es un grupo de la fórmula -A-B en la que A es grupo alquileo lineal, ramificado o cíclico de 1 a 9 átomos de carbono y B es un grupo de la fórmula  $-(CF_2)_mCF_3$  en la que m es 0 o un número entero de 1 a 9

10 y en la que R<sup>1</sup> es un grupo de la fórmula



15

en la que R<sup>4</sup> y R<sup>5</sup> se seleccionan independientemente de entre H, alquilo que contiene un máximo de 10 átomos de carbono, cicloalquilo que comprende un máximo de 10 átomos de carbono, alqueno que contiene un máximo de 10 átomos de carbono y arilo que contiene un máximo de 10 átomos de carbono, o combinaciones de los mismos, en la que el, o cada, alquilo o cicloalquilo o alqueno contienen opcionalmente uno o más heteroátomos y en la que al menos uno de R<sup>4</sup> y R<sup>5</sup> es H

20

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

2. Un compuesto según la reivindicación 1 en el que cada uno de R<sup>4</sup> y R<sup>5</sup> es H.

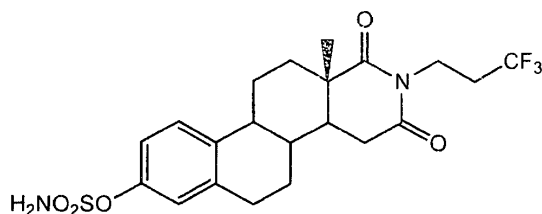
25

3. Un compuesto según la reivindicación 1 en el que el grupo G tiene la fórmula  $-(CH_2)_n(CF_2)_mCF_3$  en la que n es un número entero de 1 a 9, m es 0 o un número entero de 1 a 9 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

4. Un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones anteriores en el que el grupo G es 3,3,3-trifluoropropilo ( $-CH_2CH_2CF_3$ ) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

30

5. Un compuesto según la reivindicación 1 que tiene la fórmula



35

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

6. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 mezclado opcionalmente con un vehículo, diluyente, excipiente o coadyuvante farmacéuticamente aceptable.

40

7. Un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 para su uso en medicina.

8. Uso de un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 en la fabricación de un medicamento para su uso en el tratamiento de una afección o enfermedad asociada con sulfatasa esteroidea (STS).

9. Uso de un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 en la fabricación de un producto farmacéutico para inhibir la actividad de sulfatasa esteroidea (STS).

5 10. Uso de un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 en la fabricación de un producto farmacéutico para el tratamiento de cáncer.

10 11. Uso de un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 en la fabricación de un producto farmacéutico para tratar una afección o enfermedad asociada con la sulfatasa esteroidea en un mamífero con necesidad de dicho tratamiento que comprende administrar a dicho mamífero una cantidad farmacéuticamente eficaz de un compuesto de la invención según un esquema que tiene un intervalo de dosificación superior a diario.

12. Uso según la reivindicación 11 en el que el intervalo de dosificación es de una dosificación una vez a la semana.

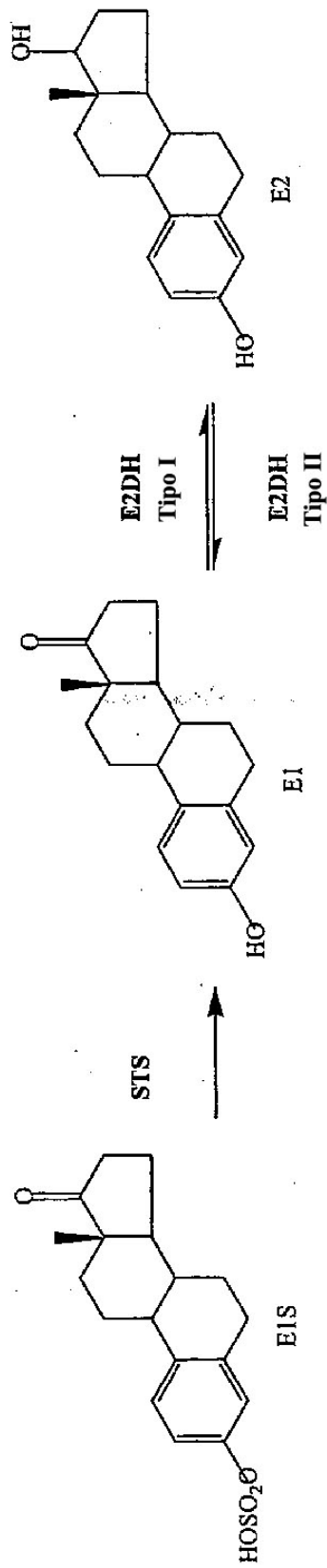


Figura 1

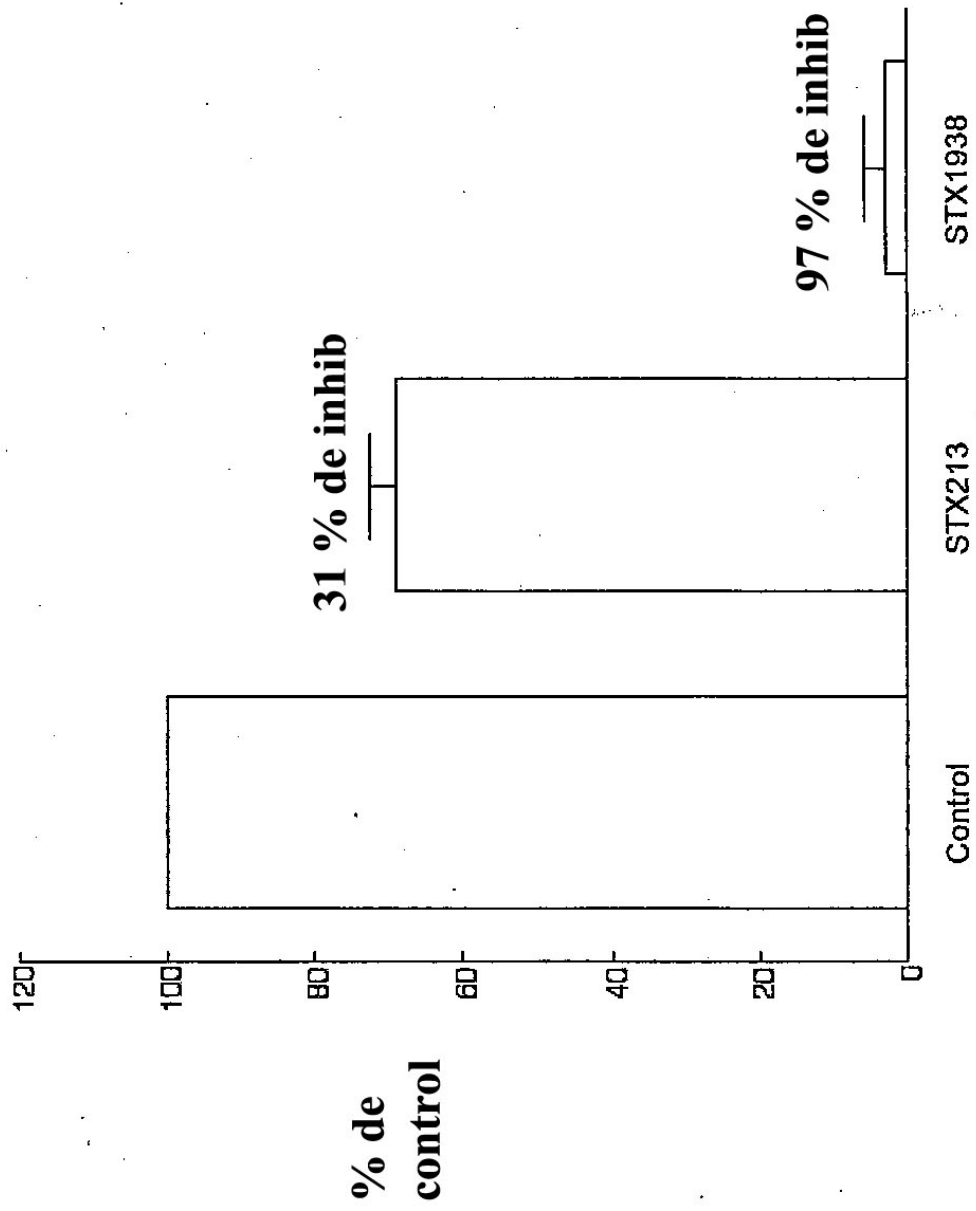
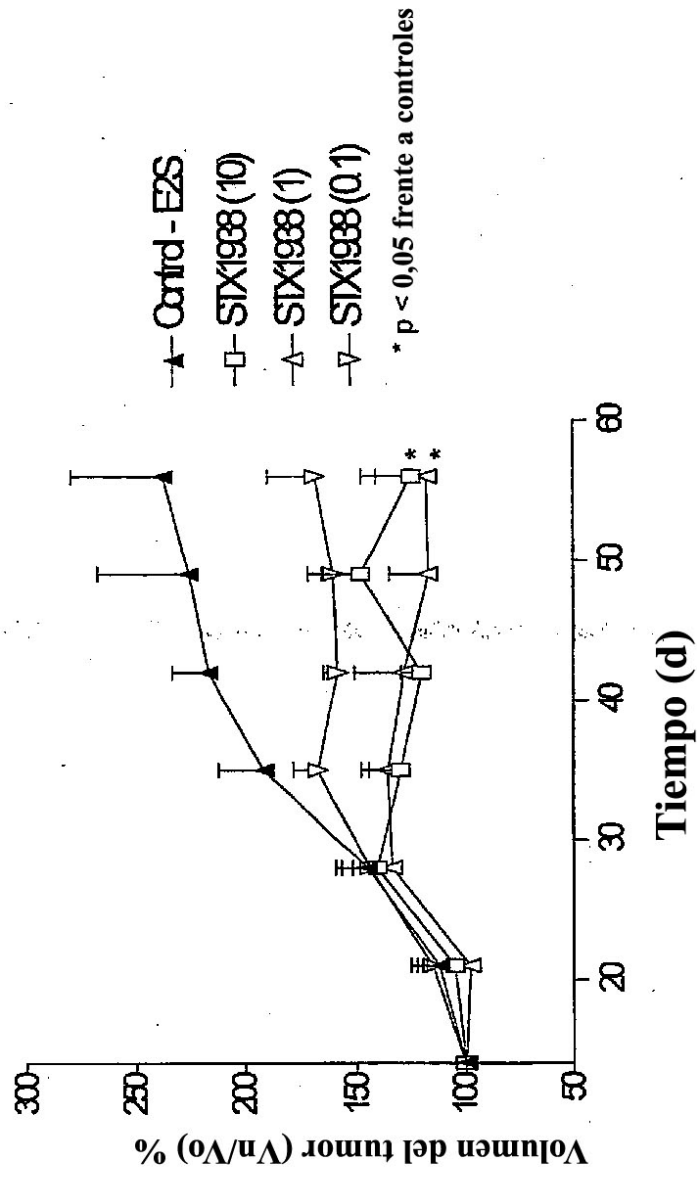


Figura 2

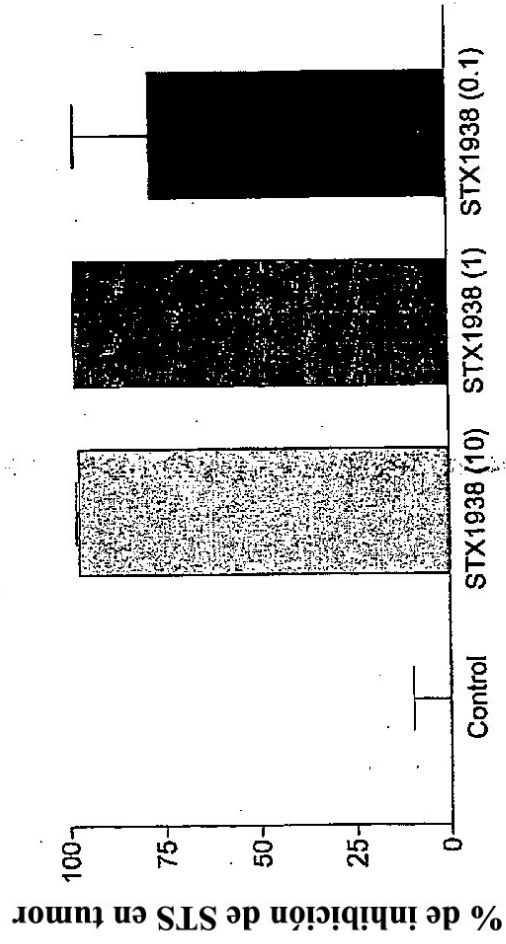
**Inhibición del crecimiento del tumor por STX 1938  
dosificación de 5/7 días por semana**

**STX1938**



**Figura 3**

**Inhibición de la actividad de STS en el tumor por STX1938  
dosificación de 5/7 días por semana**



**Figura 4**

### Inhibición del crecimiento del tumor por STX1938 dosificación de una vez por semana

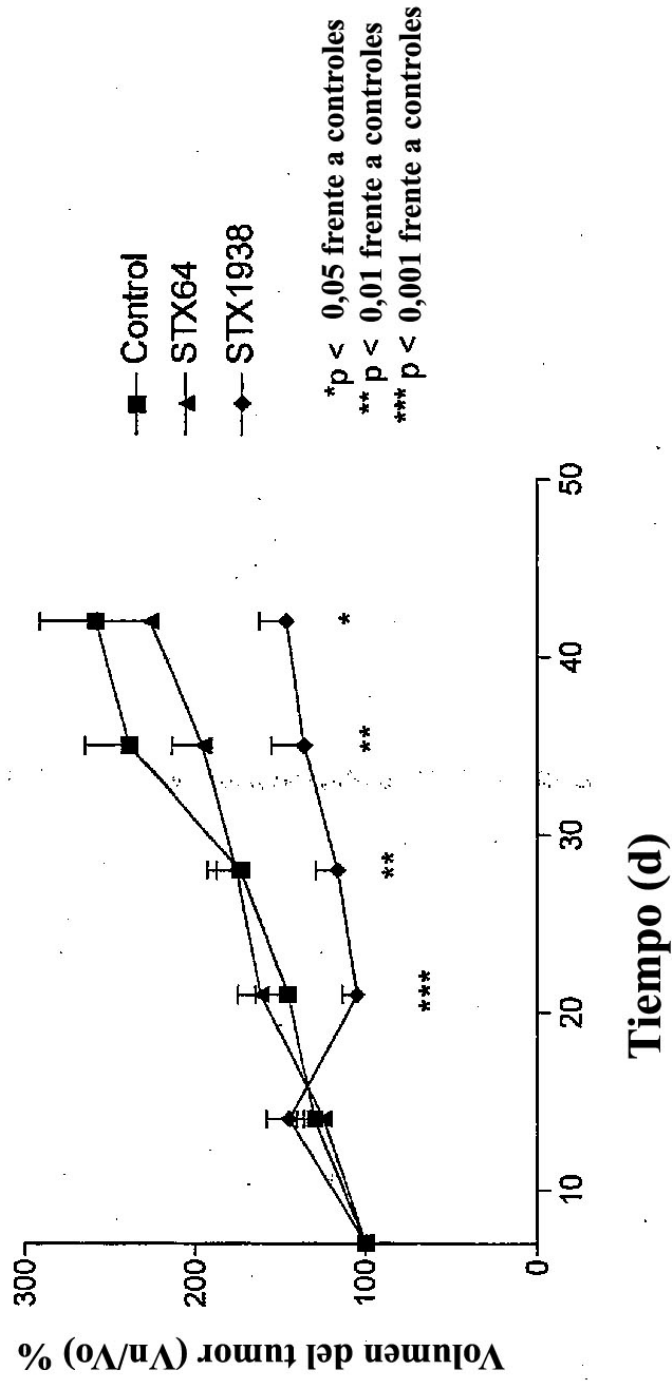
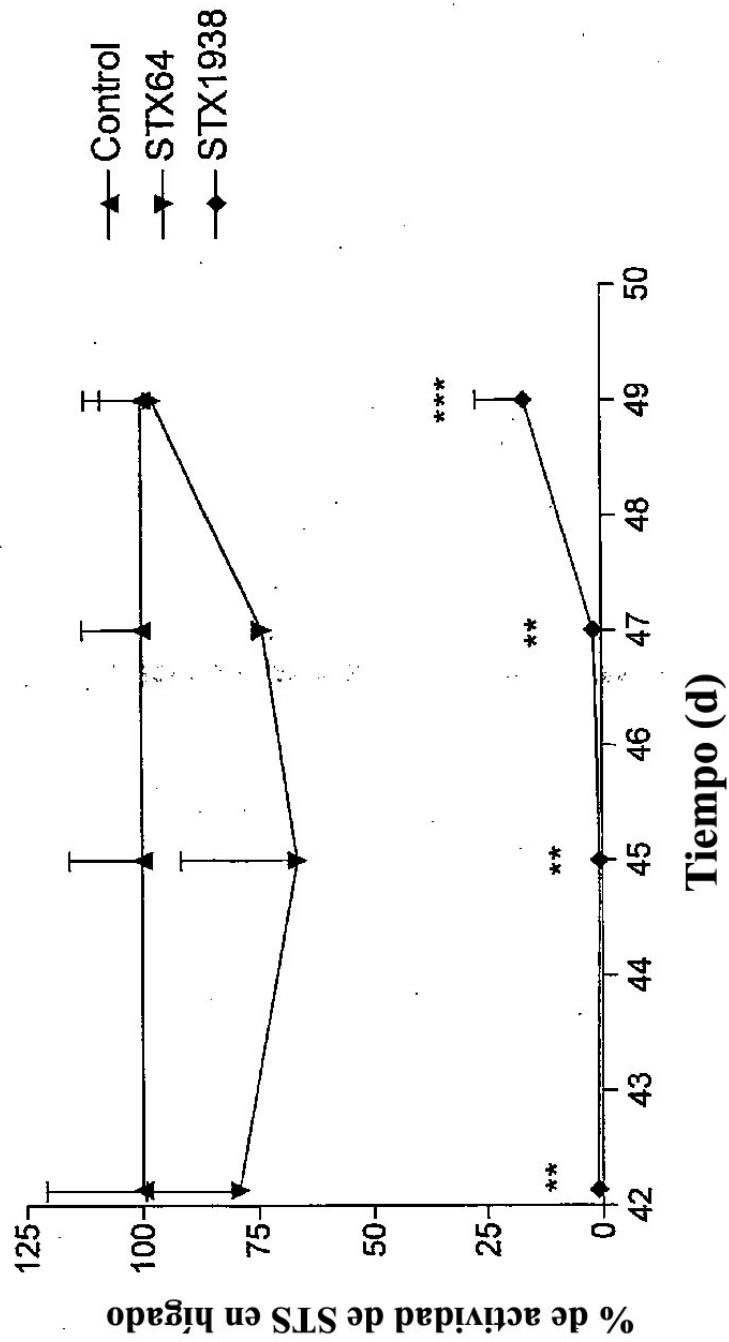


Figura 5



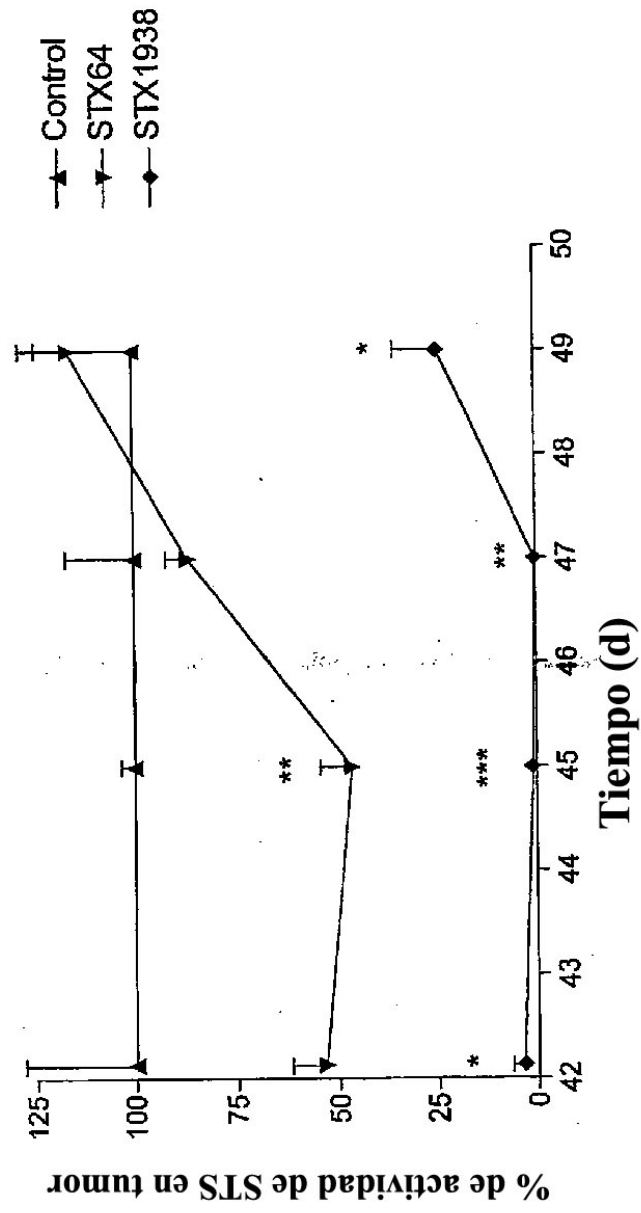
**Inhibición de STS en el hígado por STX1938 o STX64  
después de dosificación semanal**



(las muestras se recogieron al finalizar el periodo de dosificación en los puntos temporales indicados)

**Figura 6**

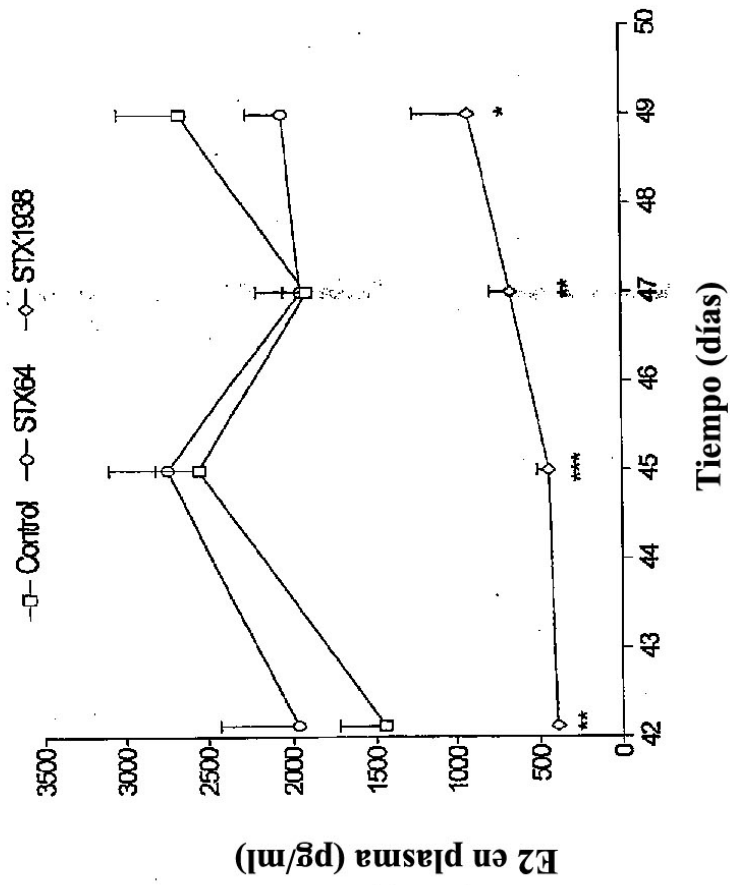
**Inhibición de STS en el tumor por STX1938 o STX64  
después de dosificación semanal**



(las muestras se recogieron al finalizar el periodo de dosificación en los puntos temporales indicados)

**Figura 7**

**Reducción de niveles de E2 en plasma  
después de dosificación a intervalos semanales con  
STX1938 o STX64**



(las muestras se recogieron al finalizar el periodo de dosificación en los puntos temporales indicados)

Figura 8