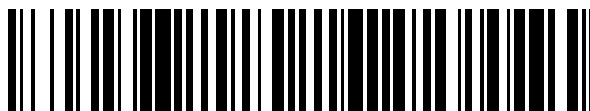


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 447 025**

51 Int. Cl.:

A61P 27/02 (2006.01)

A61K 31/56 (2006.01)

A61L 27/54 (2006.01)

A61K 31/58 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **12.07.2006 E 06787393 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **22.01.2014 EP 1919290**

54 Título: **Métodos y productos para el tratamiento de enfermedades**

30 Prioridad:

12.07.2005 US 698723 P

24.08.2005 US 711157 P

24.08.2005 US 711158 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
11.03.2014

73 Titular/es:

AMPIO PHARMACEUTICALS, INC. (100.0%)

5445 DTC Parkway, Suite 925

Greenwood Village, CO 80111, US

72 Inventor/es:

BAR-OR, DAVID

74 Agente/Representante:

UNGRÍA LÓPEZ, Javier

ES 2 447 025 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

Campo de la invención**5 Métodos y productos para el tratamiento de enfermedades**

La presente invención se refiere al uso del danazol o una sal o éster farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en el tratamiento de una enfermedad angiogénica y afecciones oculares.

10 Antecedentes

Con el tiempo, la diabetes afecta el sistema circulatorio de la retina ocasionado la retinopatía diabética, que se produce en aproximadamente cuarenta por ciento de los diabéticos. La fase más temprana de esta enfermedad se conoce como retinopatía diabética de fondo. La siguiente etapa se conoce como retinopatía diabética proliferativa. En esta fase, los problemas de circulación hacen que zonas de la retina queden privadas de oxígeno o isquémicas. Se desarrollan vasos nuevos, frágiles a medida que el sistema circulatorio intenta mantener niveles adecuados de oxígeno dentro de la retina. Por desgracia, estos vasos delicados experimentan hemorragia fácilmente, y pueden filtrar sangre a la retina y al cuerpo vítreo, causando manchas o cuerpos flotantes, junto con disminución de la visión. En las fases avanzadas de la enfermedad, el continuó crecimiento anormal de los vasos y de tejido cicatrizal puede causar problemas graves, tales como desprendimiento de retina y glaucoma. Existen varios tratamientos para la retinopatía diabética, dependiendo de la etapa de la enfermedad y del problema específico que requiera atención. Sin embargo, todavía subsiste una necesidad de tratamientos adicionales, especialmente de uno que sea fácil de administrar y que tenga pocos efectos secundarios.

La degeneración macular relacionada con la edad es la principal causa de pérdida grave de visión en las personas de sesenta años o más. Hay dos formas de esta enfermedad - la forma seca y la forma húmeda. La forma húmeda representa sólo alrededor de quince por ciento de todos los casos, pero es responsable de la mayor parte de la pérdida de visión severa que ocurre en personas que sufren de degeneración macular. El crecimiento anormal de vasos sanguíneos nuevos (denominadas neovascularizaciones coroidales) es la causa de la pérdida de visión severa que se produce en la degeneración macular húmeda. Hay una gran necesidad de un tratamiento eficaz para la degeneración macular húmeda, especialmente de uno que sea fácil de administrar y que tenga pocos efectos secundarios. También hay claramente una necesidad de tratamientos adicionales y más eficaces para los tumores cerebrales. Las terapias que son eficaces para otros tumores actualmente tienen serias limitaciones como tratamientos de tumores cerebrales. La barrera hematoencefálica puede crear un obstáculo concreto a la utilización eficaz de quimioterapia en el tratamiento de los tumores cerebrales.

Se han propuesto muchos tratamientos para las enfermedades o afecciones neurodegenerativas. Sin embargo, la mayoría de estos tratamientos no han tenido éxito, y sigue existiendo una necesidad de tratamientos adicionales para estas enfermedades.

El documento US 5.993.856 ilustra formulaciones para la liberación tópica o local intrapélvicamente, intraperitonealmente o directamente en órganos reproductivos de interés para el tratamiento de diversas afecciones, en particular las enfermedades locales del sistema reproductivo femenino. Esta referencia no describe una composición farmacéutica para su uso en el tratamiento de una enfermedad o afección angiogénica del ojo, en donde dicha composición se administra tópicamente en el ojo

El documento WO 2006/004795 A2 ilustra danazol que contiene productos para el tratamiento de enfermedades angiogénicas con el enfoque particular en un dispositivo de fármacos de liberación sostenida para la implantación y una formulación de liberación sostenida para inyección de depósito. No hay ninguna descripción de la administración tópica en el ojo. El documento WO 2006/004795 A2 describe meramente la administración tópica específicamente como la administración por vía tópica en la boca o en la piel.

El documento XP009119198 describe la administración tópica de esteroides para diversas afecciones del ojo sufridas por un paciente.

55 Compendio de la invención

La invención proporciona el uso de danazol o una sal o éster farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en el tratamiento de una enfermedad o afección angiogénica del ojo. El uso comprende la administración a un animal que lo necesite de una cantidad eficaz de danazol o una sal o éster farmacológicamente aceptable del mismo por vía tópica en el ojo. La invención proporciona adicionalmente una composición farmacéutica para su uso en el tratamiento de una enfermedad o afección angiogénica del ojo. La composición comprende danazol o una sal o éster farmacológicamente aceptable del mismo. El tratamiento del ojo evita efectos secundarios sistémicos. La composición farmacéutica es una composición farmacéutica tópica, ya que es fácil de administrar al ojo.

Se describe adicionalmente pero no es parte de la invención un método para tratar una enfermedad o afección inflamatoria del ojo. El método comprende administrar a un animal que lo necesite una cantidad eficaz de un esteroide de fórmula I, IV o V o una sal o éster farmacológicamente aceptable del mismo.

5 También se describe un método de tratamiento de una enfermedad o afección angiogénica del cerebro. El método comprende administrar a un animal que lo necesite una cantidad eficaz de un esteroide de fórmula I o IV o una sal o éster farmacológicamente aceptable del mismo.

10 También se describe un método de tratamiento de una enfermedad o afección inflamatoria del cerebro. El método comprende administrar a un animal que lo necesite una cantidad eficaz de un esteroide de fórmula I, IV o V o una sal o éster farmacológicamente aceptable del mismo.

15 Se describe adicionalmente un método de tratamiento de una enfermedad o afección neurodegenerativa del cerebro. El método comprende administrar a un animal que lo necesite una cantidad eficaz de un esteroide de fórmula I, IV o V o una sal o éster farmacológicamente aceptable del mismo.

Breve descripción de los dibujos

20 La Figura 1 muestra la fluorescencia medida después del tratamiento de células HUVEC con trilostano III como una medida de su capacidad para prevenir la invasión de células endoteliales.

La Figura 2 muestra los niveles de DO medidos después de la incubación de las células HUVEC con trilostano III como una medida de su capacidad para prevenir la proliferación inicial de las células endoteliales.

25 La Figura 3 muestra fotografías de células HUVEC tomadas después de la incubación con trilostano III como una medida de su capacidad para prevenir la formación de tubos de células endoteliales.

La Figura 4 muestra los niveles de DO medidos después de la incubación de las células HUVEC con danazol como una medida de su capacidad para prevenir la proliferación inicial de las células endoteliales.

30 La Figura 5 muestra fotografías de células HUVEC tomadas después de la incubación con danazol como una medida de su capacidad para prevenir la formación de tubos de células endoteliales. A = control; B = danazol 1 μ M, C = 10 μ M danazol, D = danazol 50 μ M y E = LY294002 50 μ M.

La Figura 6 muestra la fluorescencia medida después del tratamiento de células HUVEC con danazol como una medida de su capacidad para prevenir la invasión de células endoteliales.

Descripción detallada de las realizaciones preferidas de la invención

35 La invención proporciona el uso de danazol o una sal o éster farmacéuticamente aceptable del mismo en el tratamiento de una enfermedad o afección angiogénica del ojo. Una "enfermedad o afección angiogénica del ojo" es una enfermedad o afección del ojo que implica, exacerbada por, o causada por, angiogénesis. El método comprende administrar a un animal que lo necesite una cantidad del danazol o una sal o éster farmacológicamente aceptable del mismo que es eficaz para inhibir la angiogénesis que se está produciendo en el ojo, en donde el danazol o una sal o éster farmacéuticamente aceptable del mismo es se administra tópicamente en el ojo.

45 Las enfermedades y afecciones angiogénicas del ojo que pueden ser tratadas de acuerdo con la presente invención incluyen, pero no se limitan a, degeneración macular, retinopatía diabética, glaucoma neovascular, retinopatía del prematuro, retinopatía drepanocítica, retinopatía inducida por oxígeno, neovascularización debida a lesiones oculares (tales como lesión traumática o quirúrgica o trasplante de tejido del ojo) y tumores.

50 Se describe adicionalmente, pero no es parte de la invención un método para tratar una enfermedad o afección angiogénica del cerebro. Una "enfermedad o afección angiogénica del cerebro" es una enfermedad o afección del cerebro que implica, exacerbada por, o causada por, angiogénesis. El método comprende administrar a un animal que lo necesite una cantidad de un esteroide de fórmula I o IV o una sal o éster farmacológicamente aceptable del mismo que es eficaz para inhibir la angiogénesis que se está produciendo en el cerebro.

55 Las enfermedades y afecciones angiogénicas del cerebro que se puede tratar incluyen, pero no se limitan a, tumores, neovascularización debida a daño cerebral (tal como el provocado por una lesión traumática o quirúrgica de tejido cerebral o accidente cerebrovascular).

Los tumores cerebrales que pueden tratarse incluyen, pero no se limitan a, cualquier tumor benigno o canceroso, incluyendo tumores primarios y tumores metastásicos (secundarios).

60 Aproximadamente la mitad de todos los tumores cerebrales primarios son gliomas. Los gliomas incluyen astrocitomas (p. ej., astrocitomas pilocíticos, astrocitomas de bajo grado, astrocitomas anaplásico (de alto grado) y glioblastomas multiformes), gliomas del tronco encefálico, ependimomas, ganglioneuromas, gliomas pilocíticos juveniles, gliomas mixtos, oligodendrogliomas y gliomas del nervio óptico. Los glioblastomas son los tumores cerebrales malignos más comunes en los adultos y son, probablemente, los más resistentes de todos los cánceres al

tratamiento. Los meningiomas representan alrededor de 27% de los tumores cerebrales primarios, y la mayoría son benignos.

5 Sin embargo, a diferencia de los tumores benignos de otros lugares, los tumores cerebrales benignos pueden a veces causar discapacidad y algunas veces pueden ser mortales. Los meningiomas son a menudo curables con cirugía, pero se puede utilizar el tratamiento de acuerdo con la presente invención en lugar de o además de la cirugía.

10 Otros tumores cerebrales primarios incluyen cordomas, carnofaringiomas, meduloblastomas, tumores pineales, adenomas hipofisarios, tumores neuroectodérmicos primitivos, schwannomas y tumores vasculares.

15 Los tumores cerebrales metastásicos son tumores que se han diseminado al cerebro desde otra parte del organismo. Los cánceres más comunes que producen metástasis en el cerebro son los cánceres de mama, melanoma y los cánceres de pulmón. Los tumores cerebrales metastásicos son el tipo más común de tumor cerebral y superan considerablemente los tumores cerebrales primarios.

20 Se describe adicionalmente, pero no es parte de la invención es un método para tratar una enfermedad o afección inflamatoria del ojo. Una "enfermedad o afección inflamatoria del ojo" es una enfermedad o afección del ojo que implica, exacerbada por, o causada por, inflamación. El método comprende administrar a todo animal que lo necesite una cantidad de un esteroide de fórmula I, IV o V o una sal o éster farmacológicamente aceptable del mismo que es eficaz para inhibir la inflamación que se está produciendo en el ojo.

25 Las enfermedades y afecciones inflamatorias del ojo que pueden tratarse incluyen, pero no se limitan a, uveítis, escleritis, queratitis, retinitis, iritis, uveorretinitis, uveoscleritis, conjuntivitis, úlcera de Mooren y manifestaciones oculares inflamatorias en alergias y en enfermedades artríticas, reumáticas y del tejido conectivo (véase, por ejemplo, Bucknall, Rheumatology, 44(10): 1207-1209 (2005)).

30 Se describe adicionalmente, pero no es parte de la invención es un método de tratamiento de una enfermedad o afección inflamatoria del cerebro. Una "enfermedad o afección inflamatoria del cerebro" es una enfermedad o afección del cerebro que implica, exacerbada por, o causada por, inflamación. El método comprende administrar a un animal que lo necesite una cantidad de un esteroide de fórmula I, IV o V o una sal o éster farmacológicamente aceptable del mismo que es eficaz para inhibir la inflamación que se está produciendo en el cerebro.

35 Las enfermedades y afecciones inflamatorias del cerebro que se puede tratar incluyen, pero no se limitan a, abscesos (incluyendo abscesos causados por bacterias, hongos e infecciones parasitarias), meningitis (incluyendo meningitis bacteriana, tuberculosis y sarcoidosis), encefalitis (incluyendo encefalitis por Herpes simplex, encefalitis equina Oriental y Occidental, encefalitis de San Luis, virus de la encefalitis de California, enfermedad de Lyme y encefalitis post-infecciosa), vasculitis, autismo y enfermedades neurodegenerativas.

40 Las enfermedades neurodegenerativas que se pueden tratar incluyen, pero no se limitan a, enfermedad de Alzheimer, esclerosis lateral amiotrófica, corea de Huntington, esclerosis múltiple, enfermedad de Parkinson y demencia senil.

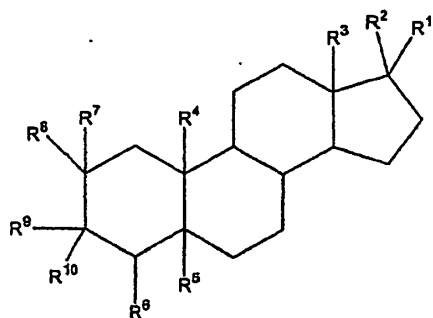
45 "Tratar", "tratando" o "tratamiento" se utiliza en la presente memoria en el sentido de reducir (total o parcialmente) los síntomas, la duración o la gravedad de una enfermedad o afección, incluyendo la curación de la enfermedad, o la prevención de la enfermedad o afección.

"Inhibir" o "inhibición" se usa en la presente memoria en el sentido de reducir (total o parcialmente) o prevenir.

50 "Angiogénesis" significa el desarrollo de nuevos vasos sanguíneos. "Angiogénesis" también se utiliza en la presente memoria para significar lo mismo que, o incluir, la neovascularización, la vascularización, la arterialización y la vasculogénesis.

55 Como se señaló anteriormente, los esteroides descritos en la presente memoria son aquellos compuestos de fórmulas I, IV y V mostrados a continuación y sus sales y ésteres farmacológicamente aceptables.

La Fórmula I es:

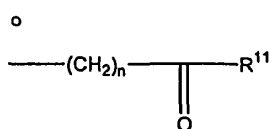


(I)

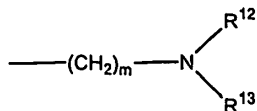
En la fórmula I:

R¹ es un grupo alquilo que tiene de 1 a 6 átomos de carbono, un grupo alquenilo que tiene de 2 a 6 átomos de carbono o un grupo alquinilo que tiene de 2 a 6 átomos de carbono;

R² es hidroxilo, un grupo alcoxi que tiene de 1 a 6 átomos de carbono, un grupo alcaniloxi que tiene de 1 a 7 átomos de carbono, un grupo de fórmula (II) o un grupo de fórmula (III):



(II)



(III)

en donde R¹¹ es hidrógeno, un grupo alquilo que tiene de 1 a 6 átomos de carbono, un grupo hidroxilo, un grupo alcoxi que tiene de 1 a 6 átomos de carbono o un grupo de fórmula $-N(R^{14})_2$ en donde cada grupo R¹⁴ es el mismo o diferente y es hidrógeno o un grupo alquilo que tiene de 1 a 6 átomos de carbono, cada uno de R¹² y R¹³ es el mismo o diferente y es hidrógeno o un grupo alquilo que tiene de 1 a 6 átomos de carbono, y

m y n son iguales o diferentes y cada uno es 0 o un número entero de 1 a 4;

cada uno de R³ y R⁴ es el mismo o diferente y es hidrógeno o un grupo alquilo que tiene de 1 a 6 átomos de carbono;

cada uno de R⁵ y R⁶ es el mismo o diferente y es hidrógeno o un grupo alquilo que tiene de 1 a 6 átomos de carbono o R⁵ y R⁶ juntos representan un enlace sencillo; y

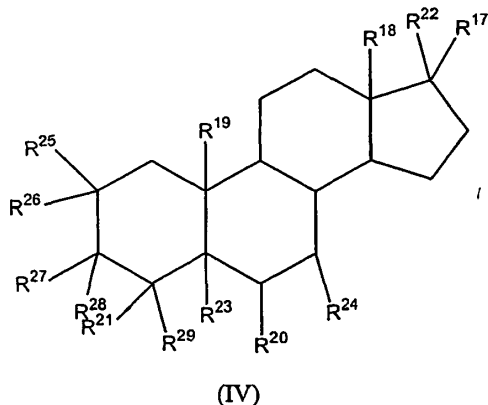
R⁷, R⁸, R⁹ y R¹⁰ junto con los átomos de carbono a los que están unidos representan un grupo heterocíclico de 5 a 9 miembros, estando dicho grupo heterocíclico de 5 a 9 miembros opcionalmente sustituido con 1 a 7 sustituyentes (dichos sustituyentes son iguales o diferentes y se seleccionan entre un grupo sustituyente α definido a continuación).

El grupo sustituyente α es un grupo que consiste en un átomo de halógeno, un grupo hidroxilo, un grupo ciano, un grupo amino, un grupo alquilo que tiene de 1 a 6 átomos de carbono, un grupo alcoxi que tiene de 1 a 6 átomos de carbono, un grupo alquiltio que tiene de 1 a 6 átomos de carbono, un grupo alquilsulfinilo que tiene de 1 a 6 átomos de carbono, un grupo alquilsulfonilo que tiene de 1 a 6 átomos de carbono, un grupo fenilo y un grupo de fórmula $-N(R^{16})_2$ en donde cada grupo R¹⁶ es el mismo o diferente y es hidrógeno o un grupo alquilo que tiene de 1 a 6 átomos de carbono.

Cuando R⁷, R⁸, R⁹ y R¹⁰ junto con los átomos de carbono a los que están unidos representan un grupo heterocíclico de 5 a 9 miembros opcionalmente sustituido, dicho grupo heterocíclico es un grupo heterocíclico de 5 a 9 miembros que contiene de 1 a 4 átomos seleccionados entre un grupo que consiste en un átomo de nitrógeno, un átomo de oxígeno y un átomo de azufre y puede ser, por ejemplo, un grupo heterocíclico insaturado tal como un grupo furilo, un grupo tienilo, un grupo pirrolilo, un grupo azepinilo, un grupo pirazolilo, un grupo imidazolilo, un grupo oxazolilo, un grupo isoxazolilo, un grupo tiazolilo, un grupo isotiazolilo, un grupo 1,2,3-oxadiazolilo, un grupo triazolilo, un grupo tetrazolilo, un grupo tiadiazolilo, un grupo piranilo, un grupo piridilo, un grupo piridazinilo, un grupo pirimidinilo, un grupo pirazinilo, un grupo azepinilo, un grupo azocinilo o un grupo azoninilo; o un grupo en donde los grupos heterocíclicos insaturados descritos anteriormente están parcial o completamente reducidos, tal como un grupo morfolinilo, un grupo tiomorfolinilo, un grupo pirrolidinilo, un grupo pirrolinilo, un grupo imidazolidinilo, un grupo imidazolinilo, un grupo pirazolidinilo, un grupo pirazolinilo, un grupo piperidilo, un grupo piperazinilo, un grupo perhidroazepinilo, un grupo perhidroazocinilo o un grupo perhidroazoninilo; preferiblemente es un grupo heterocíclico de 5 a 7 miembros que contiene uno o más átomos de nitrógeno y que contiene opcionalmente un átomo de oxígeno y/o un átomo de azufre, que es, por ejemplo, un grupo heterocíclico insaturado tal como un grupo pirrolilo, un grupo azepinilo, un grupo pirazolilo, un grupo imidazolilo, un grupo oxazolilo, un grupo isoxazolilo, un grupo tiazolilo, un

grupo isotiazolilo, un grupo 1,2,3-oxadiazolilo, un grupo triazolilo, un grupo tetrazolilo, un grupo tiadiazolilo, un grupo piridilo, un grupo piridazinilo, un grupo pirimidinilo o un grupo pirazinilo; o un grupo en donde este grupo heterocíclico insaturado está parcial o completamente reducido, tal como un grupo morfolinilo, un grupo tiomorfolinilo, un grupo pirrolidinilo, un grupo pirrolinilo, un grupo imidazolidinilo, un grupo imidazolinilo, un grupo pirazolidinilo, un grupo pirazolinilo, un grupo piperidilo o un grupo piperazinilo; y más preferiblemente es un grupo isoxazolilo o un grupo pirazolilo para R^7 , R^8 , R^9 y R^{10} junto con los átomos de carbono a los que están unidos.

La Fórmula IV es:



En la fórmula IV:

R^{18} , R^{19} y R^{21} son iguales o diferentes y cada uno es hidrógeno o un grupo alquilo que tiene de 1 a 6 átomos de carbono;

R'' es hidrógeno, un grupo alquilo que tiene de 1 a 6 átomos de carbono o un grupo alquenilo que tiene de 2 a 6 átomos de carbono,

R^{22} es hidroxilo, un grupo alcoxi que tiene de 1 a 6 átomos de carbono, un grupo alcaniloxi que tiene de 1 a 7 átomos de carbono, un grupo de fórmula (II) como se ha definido anteriormente para la fórmula (I) o un grupo de fórmula (III) como se ha definido anteriormente para la fórmula (I), o

R^{17} y R^{22} juntos representan un grupo oxo, un grupo etilendioxi, o un grupo propilendioxi;

cada uno de R^{20} y R^{24} es el mismo o diferente y es hidrógeno o un grupo alquilo que tiene de 1 a 6 átomos de carbono o R^{20} y R^{24} juntos representan un enlace sencillo;

cada uno de R^{23} y R^{29} es el mismo o diferente y es hidrógeno o un grupo alquilo que tiene de 1 a 6 átomos de carbono o R^{23} y R^{29} juntos representan un enlace epoxi;

cada uno de R^{25} , R^{26} , R^{27} y R^{28} es el mismo o diferente y es hidrógeno, un grupo alquilo que tiene de 1 a 6 átomos de carbono, un grupo ciano, un grupo hidroxilo, un grupo alcoxi que tiene de 1 a 6 átomos de carbono o un grupo de fórmula $-N(R^{30})_2$ en donde cada grupo R^{30} es el mismo o diferente y es hidrógeno o un grupo alquilo que tiene de 1 a 6 átomos de carbono, o

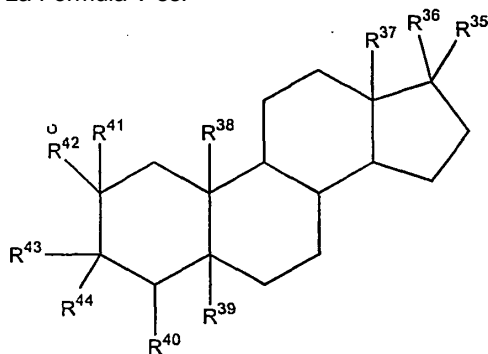
R^{25} y R^{26} y/o R^{27} y R^{28} junto con el átomo de carbono al que están unidos representan un grupo carbonilo, o

R^{25} , R^{26} , R^{27} y R^{28} junto con los átomos de carbono a los que están unidos representan un grupo heterocíclico de 5 a 9 miembros, estando dicho grupo heterocíclico de 5 a 9 miembros opcionalmente sustituido con 1 a 7 sustituyentes (dichos sustituyentes son iguales o diferentes y se seleccionan entre un grupo sustituyente α definido anteriormente).

Cuando R^{25} , R^{26} , R^{27} y R^{28} junto con los átomos de carbono a los que están unidos representan un grupo heterocíclico de 5 a 9 miembros sustituido opcionalmente, dicho grupo heterocíclico es un grupo heterocíclico de 5 a 9 miembros que contiene de 1 a 4 átomos seleccionados entre un grupo que consiste en un átomo de nitrógeno, un átomo de oxígeno y un átomo de azufre y puede ser, por ejemplo, un grupo heterocíclico insaturado tal como un grupo furilo, un grupo tienilo, un grupo pirrolilo, un grupo azepinilo, un grupo pirazolilo, un grupo imidazolilo, un grupo oxazolilo, un grupo isoxazolilo, un grupo tiazolilo, un grupo isotiazolilo, un grupo 1,2,3-oxadiazolilo, un grupo triazolilo, un grupo tetrazolilo, un grupo tiadiazolilo, un grupo piranilo, un grupo piridilo, un grupo piridazinilo, un grupo pirimidinilo, un grupo pirazinilo, un grupo azepinilo, un grupo azocinilo o un grupo azoninilo; o un grupo en donde los grupos heterocíclicos insaturados descritos anteriormente están parcial o completamente reducidos, tal como un grupo morfolinilo, un grupo tiomorfolinilo, un grupo pirrolidinilo, un grupo pirrolinilo, un grupo imidazolidinilo, un grupo imidazolinilo, un grupo pirazolidinilo, un grupo pirazolinilo, un grupo piperidilo, un grupo piperazinilo, un grupo perhidroazepinilo, un grupo perhidroazocinilo o un grupo perhidroazoninilo; preferiblemente es un grupo heterocíclico de 5 a 7 miembros que contiene uno o más átomos de nitrógeno y que contiene opcionalmente un átomo de oxígeno y/o un átomo de azufre, que es, por ejemplo, un grupo heterocíclico insaturado tal como un grupo pirrolilo, un grupo azepinilo, un grupo pirazolilo, un grupo imidazolilo, un grupo oxazolilo, un grupo isoxazolilo, un grupo tiazolilo, un grupo isotiazolilo, un grupo 1,2,3-oxadiazolilo, un grupo triazolilo, un grupo tetrazolilo, un grupo tiadiazolilo, un grupo piridilo, un grupo piridazinilo, un grupo pirimidinilo o un grupo pirazinilo; o un grupo en donde este grupo heterocíclico insaturado está parcial o completamente reducido, tal como un grupo morfolinilo, un grupo tiomorfolinilo, un grupo

pirrolidinilo, un grupo pirrolinilo, un grupo imidazolidinilo, un grupo imidazolinilo, un grupo pirazolidinilo, un grupo pirazolinilo, un grupo piperidilo o un grupo piperazinilo; y más preferiblemente es un grupo isoxazolilo para R^{25} , R^{26} , R^{27} y R^{28} junto con los átomos de carbono a los que están unidos.

5 La Fórmula V es:



(V)

En la fórmula V:

R^{35} es un grupo alquilo que tiene de 1 a 6 átomos de carbono, un grupo alquenoilo que tiene de 2 a 6 átomos de carbono o un grupo alquinilo que tiene de 2 a 6 átomos de carbono;

R^{36} es hidroxilo, un grupo alcoxi que tiene de 1 a 6 átomos de carbono, un grupo alcaniloxi que tiene de 1 a 7 átomos de carbono, un grupo de fórmula (II) como se ha definido anteriormente para la fórmula (I) o un grupo de fórmula (II) como se ha definido anteriormente para la fórmula (I), o

cada uno de R^{37} y R^{38} es el mismo o diferente y es hidrógeno o un grupo alquilo que tiene de 1 a 6 átomos de carbono;

cada uno de R^{39} y R^{40} es el mismo o diferente y es hidrógeno o un grupo alquilo que tiene de 1 a 6 átomos de carbono o R^{39} y R^{40} juntos representan un enlace sencillo;

cada uno de R^{41} , R^{42} , R^{43} y R^{44} es el mismo o diferente y es hidrógeno, un grupo alquilo que tiene de 1 a 6 átomos de carbono, un grupo hidroxilo, un grupo alcoxi que tiene de 1 a 6 átomos de carbono o un grupo de fórmula $-N(R^{45})_2$ en donde cada grupo R^{45} es el mismo o diferente y es hidrógeno o un grupo alquilo que tiene de 1 a 6 átomos de carbono, o

R^{41} y R^{42} y/o R^{43} y R^{44} junto con el átomo de carbono al que están unidos representan un grupo carbonilo, o

R^{41} , R^{42} , R^{43} y R^{44} junto con los átomos de carbono a los que están unidos representan un grupo heterocíclico de 5 a 9 miembros, estando dicho grupo heterocíclico de 5 a 9 miembros opcionalmente sustituido con 1 a 7 sustituyentes, que pueden ser iguales o diferentes y se seleccionan entre el grupo sustituyente α definido anteriormente.

Cuando R^{41} , R^{41} , R^{43} y R^{44} junto con los átomos de carbono a los que están unidos representan un grupo heterocíclico de 5 a 9 miembros opcionalmente sustituido, dicho grupo heterocíclico es un grupo heterocíclico de 5 a 9 miembros que contiene de 1 a 4 átomos seleccionados entre un grupo que consiste en un átomo de nitrógeno, un átomo de oxígeno y un átomo de azufre y puede ser, por ejemplo, un grupo heterocíclico insaturado tal como un grupo furilo, un grupo tienilo, un grupo pirrolilo, un grupo azepinilo, un grupo pirazolilo, un grupo imidazolilo, un grupo oxazolilo, un grupo isoxazolilo, un grupo tiazolilo, un grupo isotiazolilo, un grupo 1,2,3-oxadiazolilo, un grupo triazolilo, un grupo tetrazolilo, un grupo tiadiazolilo, un grupo piranilo, un grupo piridilo, un grupo piridazinilo, un grupo pirimidinilo, un grupo pirazinilo, un grupo azepinilo, un grupo azocinilo o un grupo azoninilo; o un grupo en donde los grupos heterocíclicos insaturados descritos anteriormente están parcial o completamente reducidos, tal como un grupo morfolinilo, un grupo tiomorfolinilo, un grupo pirrolidinilo, un grupo pirrolinilo, un grupo imidazolidinilo, un grupo imidazolinilo, un grupo pirazolidinilo, un grupo pirazolinilo, un grupo piperidilo, un grupo piperazinilo, un grupo perhidroazepinilo, un grupo perhidroazocinilo o un grupo perhidroazoninilo; preferiblemente es un grupo heterocíclico de 5 a 7 miembros que contiene uno o más átomos de nitrógeno y que contiene opcionalmente un átomo de oxígeno y/o un átomo de azufre, que es, por ejemplo, un grupo heterocíclico insaturado tal como un grupo pirrolilo, un grupo azepinilo, un grupo pirazolilo, un grupo imidazolilo, un grupo oxazolilo, un grupo isoxazolilo, un grupo tiazolilo, un grupo isotiazolilo, un grupo 1,2,3-oxadiazolilo, un grupo triazolilo, un grupo tetrazolilo, un grupo tiadiazolilo, un grupo piridilo, un grupo piridazinilo, un grupo pirimidinilo o un grupo pirazinilo; o un grupo en donde este grupo heterocíclico insaturado está parcial o completamente reducido, tal como un grupo morfolinilo, un grupo tiomorfolinilo, un grupo pirrolidinilo, un grupo pirrolinilo, un grupo imidazolidinilo, un grupo imidazolinilo, un grupo pirazolidinilo, un grupo pirazolinilo, un grupo piperidilo o un grupo piperazinilo; y más preferiblemente es un grupo isoxazolilo o un grupo pirazolilo para R^{41} , R^{42} , R^{43} y R^{44} junto con los átomos de carbono a los que están unidos.

El grupo alquilo que tiene de 1 a 6 átomos de carbono es un grupo alquilo de cadena lineal o ramificada que tiene de 1 a 6 átomos de carbono y puede ser, por ejemplo, un grupo metilo, un grupo etilo, un grupo propilo, un grupo

isopropilo, un grupo butilo grupo, un grupo isobutilo, un grupo s-butilo, un grupo t-butilo, un grupo pentilo, un grupo isopentilo, un grupo neopentilo, un grupo t-pentilo, un grupo 1-metilbutilo, un grupo hexilo, un 1-metilpentilo grupo, un grupo 2-metilpentilo, un grupo 3-metilpentilo, un grupo 1-etilbutilo o un grupo 2-etilbutilo; preferiblemente es un grupo alquilo que tiene de 1 a 4 átomos de carbono tales como un grupo metilo, un grupo etilo, un grupo propilo, un grupo isopropilo, un grupo butilo, un grupo isobutilo, un grupo s-butilo o un grupo t-butilo; más preferiblemente es un grupo metilo, un grupo etilo, un grupo propilo o un grupo isopropilo, y más preferiblemente es un grupo metilo.

El grupo alqueno que tiene de 2 a 6 átomos de carbono es un grupo alqueno de cadena lineal o ramificada que tiene de 2 a 6 átomos de carbono y puede ser, por ejemplo, los grupos vinilo, 2-propeno, 1-metil-2-propeno, 2-metil-2-propeno, 2-etil-2-propeno, 2-butenilo, 1-metil-2-butenilo, 2-metil-2-butenilo, 1-etil-2-butenilo, 3-butenilo, 1-metil-3-butenilo, 2-metil-3-butenilo, 1-etil-3-butenilo, 2-pentenilo, 1-metil-2-pentenilo, 2-metil-2-pentenilo, 3-pentenilo, 1-metil-3-pentenilo, 2-metil-3-pentenilo, 4-pentenilo, 1-metil-4-pentenilo, 2-metil-4-pentenilo, 2-hexenilo, 3-hexenilo, 4-hexenilo y 5-hexenilo. Se prefieren los grupos alqueno que tienen de 2 a 4 átomos de carbono, y los más preferidos son los grupos alqueno que tienen 2 o 3 átomos de carbono.

El grupo alquino que tiene de 2 a 6 átomos de carbono es un grupo alquino de cadena lineal o ramificada que tiene de 2 a 6 átomos de carbono y puede ser, por ejemplo, los grupos etinilo, 2-propino, 1-metil-2-propino, 2-butinilo, 1-metil-2-butinilo, 1-etil-2-butinilo, 3-butinilo, 1-metil-3-butinilo, 2-metil-3-butinilo, 1-etil-3-butinilo, 2-pentinilo, 1-metil-2-pentinilo, 3-pentinilo, 1-metil-3-pentinilo, 2-metil-3-pentinilo, 4-pentinilo, 1-metil-4-pentinilo, 2-metil-4-pentinilo, 2-hexinilo, 3-hexinilo, 4-hexinilo y 5-hexinilo. Se prefieren los grupos alquino que tienen de 2 a 4 átomos de carbono, y los más preferidos son los grupos alquino que tienen 2 o 3 átomos de carbono.

El grupo alcanilo que tiene de 1 a 7 átomos de carbono es un grupo carbonilo (-COO-) cuyo átomo de carbono está sustituido con un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo que tiene de 1 a 6 átomos de carbono como se describió anteriormente y puede ser, por ejemplo, un grupo formilo, un grupo acetilo, un grupo propionilo, un grupo butirilo, un grupo isobutirilo, un grupo pentanoilo o un grupo hexanoilo; es preferiblemente un grupo alcanilo que tiene de 2 a 5 átomos de carbono tal como un grupo acetilo, un grupo propionilo, un grupo butirilo o un grupo isobutirilo; y más preferiblemente es un grupo acetilo.

El grupo alcoxi que tiene de 1 a 6 átomos de carbono es un grupo hidroxi en donde el átomo de hidrógeno está sustituido con un grupo alquilo que tiene de 1 a 6 átomos de carbono como se describió anteriormente y puede ser, por ejemplo, un grupo metoxi, un grupo etoxi, un grupo n-propoxi, un grupo isopropoxi, un grupo n-butoxi, un grupo isobutoxi, un grupo s-butoxi, un grupo terc-butoxi, un grupo n-pentilo, un grupo isopentilo, un grupo 2-metilbutoxi, un neopentilo grupo, un grupo n-hexilo, un grupo 4-metilpentilo, un grupo 3-metilpentilo, un grupo 2-metilpentilo, un grupo 3,3-dimetilbutoxi, un grupo 2,2-dimetilbutoxi, un grupo 1,1-dimetilbutoxi, un grupo 1,2-dimetilbutoxi, un grupo 1,3-dimetilbutoxi o un grupo 2,3-dimetilbutoxi; es preferiblemente un grupo alcoxi que tiene de 1 a 4 átomos de carbono tal como un grupo metoxi, un grupo etoxi, un grupo n-propoxi o un grupo n-butoxi; y más preferiblemente es un grupo metoxi.

El grupo alquiltio que tiene de 1 a 6 átomos de carbono es un grupo mercapto sustituido con un grupo alquilo que tiene de 1 a 6 átomos de carbono como se describió anteriormente y puede ser, por ejemplo, un grupo metiltio, un grupo etiltio, un grupo n-propiltio, un grupo isopropiltio, un grupo n-butiltio, un grupo isobutiltio, un grupo s-butiltio, un grupo terc-butiltio, un grupo n-pentiltio, un grupo isopentiltio, un grupo 2-metilbutiltio, un grupo neopentiltio, un grupo 1-etilpropiltio, un grupo n-hexiltio, un grupo isohexiltio, un grupo 4-metilpentiltio, un grupo 3-metilpentiltio, un grupo 2-metilpentiltio, un grupo 1-metilpentiltio, un grupo 3,3-dimetilbutiltio, un grupo 2,2-dimetilbutiltio, un grupo 1,1-dimetilbutiltio, un grupo 1,2-dimetilbutiltio, un grupo 1,3-dimetilbutiltio, un grupo 2,3-dimetilbutiltio o un grupo 2-etilbutiltio; es preferentemente un grupo alquiltio que tiene de 1 a 4 átomos de carbono tal como un grupo metiltio, un grupo etiltio, un grupo n-propiltio o un grupo n-butiltio, y más preferiblemente es un grupo metiltio.

El grupo alquilsulfonilo que tiene de 1 a 6 átomos de carbono es un grupo sulfonilo (-SO₂-) que está sustituido con un grupo alquilo que tiene de 1 a 6 átomos de carbono como se describió anteriormente y puede ser, por ejemplo, un grupo metanosulfonilo, un grupo etanosulfonilo, un grupo n-propanosulfonilo, un grupo isopropanosulfonilo, un grupo n-butanosulfonilo, un grupo isobutanosulfonilo, un grupo s-butanosulfonilo, un grupo terc-butanosulfonilo, un grupo n-pentanosulfonilo, un grupo isopentanosulfonilo, un grupo 2-metilbutanosulfonilo, un grupo neopentanosulfonilo, un grupo n-hexanosulfonilo, un grupo 4-metilpentanosulfonilo, un grupo 3-metilpentanosulfonilo, un grupo 2-metilpentanosulfonilo, un grupo 3,3-dimetilbutanosulfonilo, un grupo 2,2-dimetilbutanosulfonilo, un grupo 1,1-dimetilbutanosulfonilo, un grupo 1,2-dimetilbutanosulfonilo, un grupo 1,3-dimetilbutanosulfonilo o un grupo 2,3-dimetilbutanosulfonilo; preferiblemente es un grupo alquilsulfonilo que tiene de 1 a 4 átomos de carbono tal como un grupo metanosulfonilo, un grupo etanosulfonilo, un grupo N-propanosulfonilo, un grupo isopropanosulfonilo o un grupo n-butanosulfonilo, y más preferiblemente es un grupo metanosulfonilo.

El grupo alquilsulfonilo que tiene de 1 a 6 átomos de carbono es un grupo sulfonilo (-SO₂-) sustituido con un grupo alquilo que tiene de 1 a 6 átomos de carbono como se ha descrito anteriormente y puede ser, por ejemplo, un grupo metanosulfonilo, un grupo etanosulfonilo, un grupo n-propanosulfonilo, un grupo isopropanosulfonilo, un grupo n-

- butanosulfonilo, un grupo isobutanosulfonilo, un grupo s-butanosulfonilo, un grupo terc-butanosulfonilo, un grupo n-pentanosulfonilo, un grupo isopentanosulfonilo, un grupo 2-metilbutanosulfonilo, un grupo neopentanosulfonilo, un grupo n-hexanosulfonilo, un grupo 4-metilpentanosulfonilo, un grupo 3-metilpentanosulfonilo, un grupo 2-metilpentanosulfonilo, un grupo 3,3-dimetilbutanosulfonilo, un grupo 2,2-dimetilbutanosulfonilo, un grupo 1,1-dimetilbutanosulfonilo, un grupo 1,2-dimetilbutanosulfonilo, un grupo 1,3-dimetilbutanosulfonilo o un grupo 2,3-dimetilbutanosulfonilo; preferiblemente es un grupo alquilsulfonilo que tiene de 1 a 4 átomos de carbono tal como un grupo metanosulfonilo, un grupo etanosulfonilo, un grupo n-propanosulfonilo o un grupo n-butanosulfonilo, y más preferiblemente es un grupo metanosulfonilo.
- Los métodos de fabricación de los esteroides de fórmulas (I), (IV) y (V) son conocidos en la técnica. Véanse, p. ej., las Patentes de los Estados Unidos Núms. 3.135.743, 3.296.255 y los documentos GB 1.123.770 y 2.130.588. También, el danazol, el trilostano y otros compuestos abarcados por las fórmulas (I), (IV) y (V) son asequibles comercialmente de, p. ej., LKT Laboratories Inc., Mochida Pharmaceuticals, Sanofi[jota] Inc. y Sanofi Winthrop.
- Cuando el compuesto de fórmula (I), (IV) o (V) o un éster farmacológicamente aceptable del mismo tiene un grupo alcalino, el compuesto se puede convertir en una sal haciéndolo reaccionar con un ácido, y en el caso en el que el compuesto de fórmula (I), (IV) o (V) o un éster farmacológicamente aceptable del mismo tiene un grupo ácido, el compuesto se puede convertir en una sal haciéndolo reaccionar con una base. Los compuestos de danazol de la presente invención abarcan tales sales. Cuando dichas sales se van a utilizar para un uso terapéutico, tienen que ser farmacológicamente aceptables. Los ejemplos preferidos de las sales formadas con un grupo alcalino presente en el compuesto de fórmula (I), (IV) o (V) o un éster farmacológicamente aceptable del mismo incluyen sales de ácidos inorgánicos tales como sales de ácidos hidrohalegenados por ejemplo hidroclouros, hidrobromuros y hidroyoduros), nitratos, percloratos, sulfatos y fosfatos; sales de ácidos orgánicos tales como alcanosulfonatos inferiores en el que el radical alquilo inferior del mismo es un grupo alquilo que tiene de 1 a 6 átomos de carbono como se ha definido anteriormente (p. ej., metanosulfonatos, trifluorometanosulfonatos y etanosulfonatos), arilsulfonatos en los que el radical arilo del mismo es un grupo arilo que tiene de 6 a 14 átomos de carbono (p. ej. bencenosulfonato o p-toluenosulfonato), acetatos, malatos, fumaratos, succinatos, citratos, ascorbatos, tartratos, oxalatos y maleatos; y sales de aminoácidos tales como sales de glicina, sales de lisina, sales de arginina, sales de ornitina, glutamatos y aspartatos. Son particularmente preferidas las sales de ácidos hidrohalegenados.
- El ejemplo preferido de las sales formadas con un grupo ácido presente en el compuesto de fórmula (I), (IV) o (V) o un éster farmacológicamente aceptable del mismo incluyen sales metálicas tales como sales de metales alcalinos (p. ej. sales de sodio, sales de potasio y sales de litio), sales de metales alcalinotérreos (p. ej. sales de calcio y sales de magnesio), sales de aluminio y sales de hierro; sales de aminas tales como sales de aminas inorgánicas (por ejemplo, sales de amonio) y sales de aminas orgánicas (por ejemplo sales de t-octilamina, sales de dibencilamina, sales de morfolina, sales de glucosamina, sales de ésteres de fenilglicinoalquilo, sales de etilendiamina, sales de N-metilglucamina, sales de guanidina, sales de dietilamina, sales de trietilamina, sales de diciclohexilamina, sales de N,N'-dibenciletilendiamina, sales de cloroprocaína, sales de procaína, sales de dietanolamina, sales de N-bencilfenetilamina, sales de piperazina, sales de tetrametilamonio y y sales de tris(hidroximetil)aminometano; sales de aminoácidos tales como sales de glicina, sales de lisina, sales de arginina, sales de ornitina, glutamatos y aspartatos. Las sales de metales alcalinos son particularmente preferidas.
- Los compuestos de danazol de la presente invención y los compuestos de fórmulas (I), (IV) y (V) y sus sales y ésteres farmacológicamente aceptables pueden a veces absorber agua después de la exposición a la atmósfera o cuando se recristalizan para absorber agua o para formar un hidrato y tales hidratos también están incluidos dentro del alcance de la presente invención. Adicionalmente, ciertos otros disolventes pueden ser absorbidos por los compuestos de la presente invención para producir solvatos, que también forman parte de la presente invención.
- Los compuestos de danazol de la presente invención y los compuestos de fórmulas (I), (IV) y (V) a veces contienen uno o más centros asimétricos, y pueden por lo tanto formar isómeros ópticos (incluyendo diastereoisómeros). Para los compuestos de la presente invención, cada uno de dichos isómeros y la mezcla de dichos isómeros se representan por medio de una sola fórmula. Por consiguiente, la presente invención cubre tanto los isómeros individuales como las mezclas de los mismos en cualquier proporción, incluyendo las mezclas racémicas.
- La presente invención abarca ésteres de los compuestos danazol. Estos ésteres son compuestos de danazol en los que un grupo hidroxilo o un grupo carboxi de dicho compuesto están modificados por la adición de un grupo protector utilizando mecanismos convencionales bien conocidos en la técnica (véase, por ejemplo, "Protective Groups in Organic Synthesis, Segunda Edición, Theodora W. Greene y Peter G.M. Wuts, 1991, John Wiley & Sons, Inc.).
- No hay ninguna restricción concreta sobre la naturaleza de este grupo protector, siempre que, cuando el éster tenga propósitos terapéuticos, debe ser farmacológicamente aceptable, es decir, el grupo protector debe ser susceptible de ser eliminado por medio de un proceso metabólico (p. ej. hidrólisis) en la administración de dicho compuesto al

cuerpo de un mamífero vivo para proporcionar un compuesto de danazol o una sal del mismo. En otras palabras, los ésteres farmacológicamente aceptables son profármacos de los compuestos danazol de la presente invención.

El que un éster de los compuestos de la presente invención sea farmacológicamente aceptable se puede determinar fácilmente. El compuesto bajo investigación se administra intravenosamente a un animal experimental tal como una rata o el ratón y los fluidos corporales del animal se estudian después de eso. Si se puede detectar un compuesto de la presente invención o una sal farmacológicamente aceptable en los fluidos corporales, se considera que el compuesto bajo investigación es un éster farmacológicamente aceptable.

Los compuestos danazol de la presente invención y los compuestos de fórmula (I), (IV) o (V) se pueden convertir en un éster, ejemplos del cual incluyen un compuesto de danazol o compuesto de fórmula (I), (IV) o (V) en el que se esterifica un grupo hidroxilo presente en el mismo. El residuo éster debe ser susceptible de ser eliminado por medio de un proceso metabólico (p. ej. hidrólisis) in vivo con el fin de que el compuesto esterificado sea uno que es farmacológicamente aceptable. Los ejemplos preferidos de tal grupo protector incluyen los siguientes:

1. (i) grupos 1-(aciloxi)alquilo inferior, cuyos ejemplos incluyen:

grupos 1-(aciloxi alifático)alquilo inferior que comprenden un grupo alquilo que tiene de 1 a 6 átomos de carbono como se ha definido anteriormente que están sustituidos con un grupo alquilcarbonilo que tiene de 1 a 6 átomos de carbono, cuyos ejemplos incluyen grupos formiloximetilo, acetoximetilo, propioniloximetilo, butiriloximetilo, pivaloiloximetilo, valeriloximetilo, isovaleriloximetilo, hexanoiloximetilo, 1-formiloxietilo, 1-acetoxietilo, 1-propioniloxietilo, 1-butililoxietilo, 1-pivaloiloxietilo, 1-valeriloxietilo, 1-isovaleriloxietilo, 1-hexanoiloxietilo, 1-formiloxipropilo, 1-acetoxipropilo, 1-propioniloxipropilo, 1-butililoxipropilo, 1-pivaloiloxipropilo, 1-valeriloxipropilo, 1-isovaleriloxipropilo, 1-hexanoiloxipropilo, 1-acetoxibutilo, 1-propioniloxibutilo, 1-butililoxibutilo, 1-pivaloiloxibutilo, 1-acetoxipentilo, 1-propioniloxipentilo, 1-butililoxipentilo, 1-pivaloiloxipentilo y 1-pivaloiloxihexilo, grupos 1-(cicloalquilcarbonilo)alquilo inferior que comprenden un grupo alquilo que tiene de 1 a 6 átomos de carbono como se ha definido anteriormente que está sustituido con un grupo cicloalquilcarbonilo en el que un grupo carbonilo está sustituido con un grupo cicloalquilo que tiene de 1 a 6 átomos de carbono, cuyos ejemplos incluyen grupos ciclopentilcarboniloximetilo, ciclohexilcarboniloximetilo, 1-ciclopentilcarboniloxietilo, 1-ciclohexilcarboniloxietilo, 1-ciclopentilcarboniloxipropilo, 1-ciclohexilcarboniloxipropilo, 1-ciclopentilcarboniloxibutilo y 1-ciclohexilcarboniloxibutilo, y grupos 1-(aciloxi aromático)alquilo inferior que comprenden un grupo alquilo que tiene de 1 a 6 átomos de carbono como se ha definido anteriormente que está sustituido con un grupo arilcarbonilo que comprende un átomo de oxígeno que está sustituido con un grupo arilcarbonilo, cuyos ejemplos incluyen grupos benzoiloximetilo;

2. (ii) grupos carboniloxialquilo sustituidos, cuyos ejemplos incluyen:

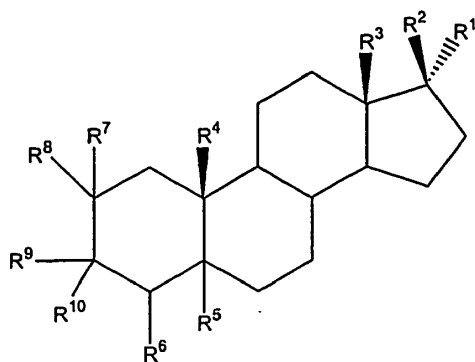
grupos (alcoxi(inferior)carbonilo)alquilo que comprenden un grupo alquilo que tiene de 1 a 6 átomos de carbono como se ha definido anteriormente o un grupo cicloalquilo que tiene de 1 a 6 átomos de carbono que está sustituido con un grupo alcoxicarbonilo inferior que comprende un grupo carbonilo sustituido con un grupo alcoxi que tiene de 1 a 6 átomos de carbono como se ha definido anteriormente o un grupo cicloalcoxi que tiene de 1 a 6 átomos de carbono, cuyos ejemplos incluyen metoxicarboniloximetilo, etoxicarboniloximetilo, propoxicarboniloximetilo, isopropoxicarboniloximetilo, butoxicarboniloximetilo, isobutoxicarboniloximetilo, pentiloxicarboniloximetilo, hexiloxicarboniloximetilo, ciclohexiloxicarboniloximetilo, ciclohexiloxicarboniloxi(ciclohexil)-metilo, 1-(metoxicarboniloxi)etilo, 1-(etoxicarboniloxi)etilo, 1-(propoxicarboniloxi)etilo, 1-(isopropoxicarboniloxi)etilo, 1-(butoxicarboniloxi)etilo, 1-(isobutoxicarboniloxi)etilo, 1-(t-butoxicarboniloxi)etilo, 1-(pentiloxicarboniloxi)etilo, 1-(hexiloxicarboniloxi)etilo, 1-(ciclopentiloxicarboniloxi)etilo, 1-(ciclopentiloxicarboniloxi)propilo, 1-(ciclohexiloxicarboniloxi)propilo, 1-(ciclopentiloxicarboniloxi)butilo, 1-(ciclohexiloxicarboniloxi)butilo, 1-(ciclohexiloxicarboniloxi)etilo, 1-(etoxicarboniloxi)propilo, 1-(metoxi-carboniloxi)propilo, 1-(etoxicarboniloxi)propilo, 1-(propoxicarboniloxi)propilo, 1-(isopropoxicarboniloxi)propilo, 1-(butoxicarboniloxi)propilo, 1-(isobutoxicarboniloxi)propilo, 1-(pentiloxicarboniloxi)propilo, 1-(hexiloxicarboniloxi)propilo, 1-(metoxicarboniloxi)butilo, 1-(etoxicarboniloxi)butilo, 1-(propoxi-carboniloxi)butilo, 1-(isopropoxicarboniloxi)butilo, 1-(butoxicarboniloxi)butilo, 1-(isobutoxicarboniloxi)butilo, 1-(metoxicarboniloxi)pentilo, 1-(etoxicarboniloxi)pentilo, 1-(metoxicarboniloxi)hexilo y 1-(etoxicarboniloxi)hexilo, y grupos oxodioxolenilmetilo, que comprenden un grupo metilo que está sustituido con un grupo oxodioxolenilo que a su vez puede estar opcionalmente sustituido con un grupo seleccionado entre el grupo que consiste en grupos alquilo que tienen de 1 a 6 átomos de carbono como se han definido anteriormente y grupos arilo que tienen de 6 a 14 átomos de carbono como se han definido anteriormente que pueden estar opcionalmente sustituidos con al menos un grupo alquilo que tiene de 1 a 6 átomos de carbono como se ha definido anteriormente, un grupo alcoxi que tiene de

- 1 a 6 átomos de carbono como se ha definido anteriormente o un átomo de halógeno, cuyos ejemplos incluyen grupos (5-fenil-2-oxo-1,3-dioxolen-4-il)metilo, [5-(4-metilfenil)-2-oxo-1,3-dioxolen-4-il]metilo, [5-(4-metoxifenil)-2-oxo-1,3-dioxolen-4-il]metilo, [5-(4-fluorofenil)-2-oxo-1,3-dioxolen-4-il]metilo, [5-(4-clorofenil)-2-oxo-1,3-dioxolen-4-il]metilo, (2-oxo-1,3-dioxolen-4-il)-metilo, (5-metil-2-oxo-1,3-dioxolen-4-il)metilo, (5-etil-2-oxo-1,3-dioxolen-4-il)metilo, (5-propil-2-oxo-1,3-dioxolen-4-il)metilo, (5-isopropil-2-oxo-1,3-dioxolen-4-il)metilo y (5-butil-2-oxo-1,3-dioxolen-4-il)metilo;
3. (iii) grupos ftalidilo que comprenden un grupo ftalidilo que puede estar opcionalmente sustituido con un sustituyente seleccionado del grupo que consiste en grupos alquilo que tienen de 1 a 6 átomos de carbono como se ha definido anteriormente y grupos alcoxi que tienen de 1 a 6 átomos de carbono como se ha definido anteriormente, cuyos ejemplos incluyen grupos ftalidilo, dimetilftalidilo y dimetoxiftalidilo;
4. (iv) grupos acilo alifáticos, cuyos ejemplos incluyen:
- grupos alquilcarbonilo que tienen de 1 a 25 átomos de carbono, cuyos ejemplos incluyen grupos formilo, acetilo, propionilo, butirilo, isobutirilo, pentanoilo, pivaloilo, valerilo, isovalerilo, octanoilo, nonanoilo, decanoilo, 3-metilnonanoilo, 8-metilnonanoilo, 3-etiloctanoilo, 3,7-dimetiloctanoilo, undecanoilo, dodecanoilo, tridecanoilo, tetradecanoilo, pentadecanoilo, hexadecanoilo, 1-metilpentadecanoilo, 14-metil-pentadecanoilo, 13,13-dimetiltetradecanoilo, heptadecanoilo, 15-metilhexadecanoilo, octadecanoilo, 1-metilheptadecanoilo, nonadecanoilo, eicosanoilo y heneicosanoilo, residuos formadores de ésteres de ácidos dicarboxílicos alifáticos C₂-C₁₀ saturados o insaturados tales como fumarato, maleato, oxalato, malonato o succinato, grupos alquilcarbonilo halogenados que tienen de 1 a 25 carbonos en los que el radical alquilo de los mismos está sustituido con al menos un átomo de halógeno, cuyos ejemplos incluyen grupos cloroacetilo, dicloroacetilo, tricloroacetilo y trifluoroacetilo, grupos alcoxi(inferior)alquilcarbonilo que comprenden un grupo alquilcarbonilo que tiene de 1 a 25 átomos de carbono en los que el radical alquilo de los mismos está sustituido con al menos un grupo alcoxi C₁-C₆ como se ha definido anteriormente, incluyendo los ejemplos de dichos grupos alcoxi(inferior)alquilcarbonilo los grupos metoxiacetilo, y grupos alquilcarbonilo insaturados que tienen de 1 a 25 átomos de carbono, cuyos ejemplos incluyen grupos acrililoilo, propioloilo, metacrililoilo, crotonoilo, isocrotonoilo y (E)-2-butenilo-2-metilo; de estos, se prefieren los grupos alquilcarbonilo que tienen de 1 a 6 átomos de carbono;
5. (v) grupos acilo aromáticos, cuyos ejemplos incluyen:
- grupos arilcarbonilo que comprenden un grupo carbonilo que está sustituido con un grupo arilo que tiene de 6 a 14 átomos de carbono como se ha definido anteriormente, cuyos ejemplos incluyen grupos benzoilo, α-naftoilo y β-naftoilo, grupos arilcarbonilo halogenados que comprenden un grupo arilcarbonilo como se ha definido anteriormente que está sustituido con al menos un átomo de halógeno, cuyos ejemplos incluyen grupos 2-bromobenzoilo, 4-clorobenzoilo y 2,4,6-trifluorobenzoilo, grupos arilcarbonilo alquilados inferiores que comprenden un grupo arilcarbonilo como se ha definido anteriormente que está sustituido con al menos un grupo alquilo que tiene de 1 a 6 átomos de carbono como se ha definido anteriormente, cuyos ejemplos incluyen grupos 2,4,6-trimetil-benzoilo y 4-toluilo, grupos arilcarbonilo alcoxilados inferiores que comprenden un grupo arilcarbonilo como se ha definido anteriormente que está sustituido con al menos un grupo alcoxi que tiene de 1 a 6 átomos de carbono como se ha definido anteriormente, cuyos ejemplos incluyen grupos 4-anisoilo, grupos arilcarbonilo nitrados que comprenden un grupo arilcarbonilo como se ha definido anteriormente que está sustituido con al menos un grupo nitro, cuyos ejemplos incluyen grupos 4-nitrobenzoilo y 2-nitrobenzoilo, grupos arilcarbonilo alcoxi(inferior)carbonilados que comprenden un grupo arilcarbonilo como se ha definido anteriormente que está sustituido con un grupo carbonilo que a su vez está sustituido con un grupo alcoxi que tiene de 1 a 6 átomos de carbono como se ha definido anteriormente, cuyos ejemplos incluyen grupos 2-(metoxicarbonil)benzoilo, y grupos arilcarbonilo arilados que comprenden un grupo arilcarbonilo como se ha definido anteriormente que está sustituido con al menos un grupo arilo que tiene de 6 a 14 átomos de carbono como se ha definido anteriormente, cuyos ejemplos incluyen grupos 4-fenilbenzoilo;
6. (vi) residuos de sales de hemiésteres de ácido succínico;
7. (vii) residuos de sales de ésteres fosfato;
8. (viii) residuos formadores de ésteres de un aminoácido tal como glutamato y aspartato;
9. (ix) grupos carbamoilo que puede estar opcionalmente sustituidos con 1 ó 2 grupos alquilo que tienen de 1 a 6 átomos de carbono como se ha definido anteriormente; y

(x) grupos 1-(aciloxi)alcoxycarbonilo que comprenden un grupo alcoxi(inferior)carbonilo como se ha definido anteriormente en el que el radical alcoxi inferior está sustituido con un grupo aciloxi alifático como se ha definido anteriormente o un grupo aciloxi aromático como se ha definido anteriormente, cuyos ejemplos incluyen grupos pivaloiloximetiloxycarbonilo.

De los grupos protectores anteriores que son susceptibles de ser eliminados por medio de un procedimiento metabólico (por ejemplo hidrólisis) *in vivo* que se utilizan para sintetizar un compuesto de fórmula (I), (IV) o (V) en donde un residuo hidroxilo del mismo se modifica, Se prefieren los grupos alquil(C₁-C₂₅)carbonilo y los grupos carboniloxialquilo sustituidos.

Los compuestos preferidos de fórmula (I) son los compuestos de fórmula (Ia) y sus sales y ésteres farmacológicamente aceptables:



(Ia)

en donde R¹, R², R³, R⁴, R⁵, R⁶, R⁷, R⁸, R⁹ y R¹⁰ son los definidos y ejemplificados anteriormente.

De los compuestos de fórmula (Ia) y las sales y ésteres farmacológicamente aceptables de los mismos, los preferidos son aquellos en donde:

1. (i) R¹ es un grupo alquilo que tiene de 1 a 4 átomos de carbono, un grupo alquenilo que tiene de 2 a 4 átomos de carbono o un grupo alquinilo que tiene de 2 a 4 átomos de carbono;
2. (ii) R¹ es un grupo metilo o un grupo etinilo;
3. (iii) R² es hidroxilo, un grupo alcanoiloxi que tiene de 2 a 5 átomos de carbono, un grupo de fórmula (II) en donde n es 0, 1 o 2, y R¹¹ es un grupo alquilo que tiene de 1 a 4 átomos de carbono, un grupo hidroxilo, un grupo alcoxi que tiene de 1 a 4 átomos de carbono o un grupo de fórmula -N(R¹⁴)₂ en donde cada grupo R¹⁴ es el mismo o diferente y es hidrógeno o un grupo alquilo que tiene de 1 a 4 átomos de carbono o un grupo de fórmula (III) en donde m es 0, 1 o 2, y cada uno de R¹² y R¹³ es el mismo o diferente y es hidrógeno o un grupo alquilo que tiene de 1 a 4 átomos de carbono;
4. (iv) R² es hidroxilo, un grupo alcanoiloxi que tiene 2 o 3 átomos de carbono, un grupo de fórmula (II) en donde n es 0 y R¹¹ es un grupo metilo, un grupo etilo, un grupo hidroxilo, un grupo metoxi, un grupo etoxi, un grupo amino, un grupo metilamino o un grupo dimetilamino, o un grupo de fórmula (III) en donde m es 0 o 1, y cada uno de R¹² y R¹³ es el mismo o diferente y es hidrógeno, un grupo metilo o un grupo etilo;
5. (v) R² es hidroxilo;
6. (vi) R³ es hidrógeno o un grupo alquilo que tiene de 1 a 4 átomos de carbono;
7. (vii) R³ es un grupo metilo;
8. (viii) R⁴ es hidrógeno o un grupo alquilo que tiene de 1 a 4 átomos de carbono;
9. (ix) R⁴ es un grupo metilo;
10. (x) R⁷, R⁸, R⁹ y R¹⁰ junto con los átomos de carbono a los que están anclados representan un grupo heterocíclico de 5 a 7 miembros, estando dicho grupo heterocíclico de 5 a 7 miembros opcionalmente sustituido con 1 a 3 sustituyentes (dichos sustituyentes son iguales o diferentes y se seleccionan entre el grupo sustituyente α¹ definido más abajo), y el grupo sustituyente α¹ es un grupo que consiste en un átomo de halógeno, un grupo hidroxilo, un grupo amino, un grupo alquilo que tiene de 1 a 4 átomos de carbono, un grupo alcoxi que tiene de 1 a 4 átomos de carbono, un grupo fenilo y un grupo de fórmula -N(R^{16a})₂ en donde cada grupo R^{16a} es el mismo o diferente y es hidrógeno o un grupo alquilo que tiene de 1 a 4 átomos de carbono;
11. (xi) R⁷, R⁸, R⁹ y R¹⁰ junto con los átomos de carbono a los que están anclados representan un grupo isoxazolilo; y
12. (xii) cada uno de R⁵ y R⁶ es un átomo de hidrógeno o R⁵ y R⁶ representan juntos un enlace sencillo.

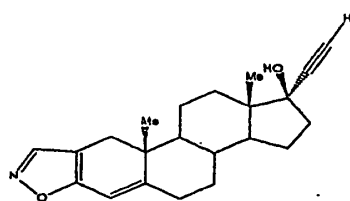
En cada grupo de (i) a (ii), (iii) a (v), (vi) a (vii), (viii) a (ix) y (x) a (xi) los compuestos de fórmula (Ia) y sus sales y ésteres farmacológicamente aceptables que tiene sustituyentes que se encuentran dentro del grupo con los números más grandes son más preferidos.

5 También se prefieren los compuestos de fórmula (Ia) y sus sales y ésteres farmacológicamente aceptables que son proporcionados por una combinación opcional de R^1 seleccionado entre (i) a (ii), R^2 seleccionado entre (iii) a (v), R^3 seleccionado entre (vi) a (vii), R^4 seleccionado entre (viii) a (ix), R^7 , R^8 , R^9 y R^{10} seleccionado entre (x) a (xi) y R^5 y R^6 seleccionado entre (xia).

10 Los compuestos de fórmula (Ia) y sus sales y ésteres farmacológicamente aceptables que tiene las siguientes combinaciones son particularmente preferidos:

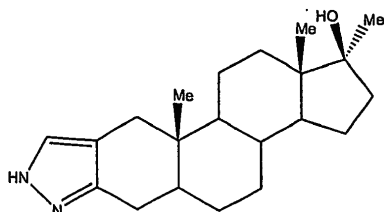
1. (a) $R^1 = (i)$, $R^2 = (iii)$, $R^3 = (vi)$, $R^4 = (viii)$, R^5 y $R^6 = (xia)$, R^7 , R^8 , R^9 y $R^{10} = (x)$;
2. (b) $R^1 = (ii)$, $R^2 = (iv)$, $R^3 = (vii)$, $R^4 = (ix)$, R^5 y $R^6 = (xia)$, R^7 , R^8 , R^9 y $R^{10} = (x)$; y
3. (c) $R^1 = (ii)$, $R^2 = (v)$, $R^3 = (vii)$, $R^4 = (ix)$, R^5 y $R^6 = (xia)$, R^7 , R^8 , R^9 y $R^{10} = (xi)$.

15 El siguiente compuesto de fórmula (Ia) y sus sales y ésteres farmacológicamente aceptables es danazol:



Danazol

20 Se describe adicionalmente el siguiente compuesto de fórmula (Ia) que es estanozolol:

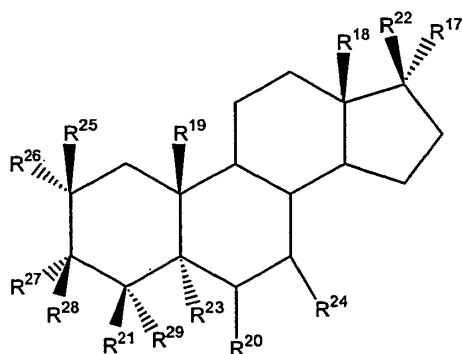


Estanozolol

25 El danazol y el estanozolol son hormonas esteroides sintéticas conocidas que tienen actividad antiandrogénica. El danazol (17 α -pregna-2,4-dien-20-ino[2,3-d]-isoxazol-17 β -ol) es un andrógeno débil que se une a numerosos receptores de hormonas esteroides y bloquea la síntesis de estradiol, progesterona, testosterona y glucocorticoides; se conoce su uso como agente oral empleado en el tratamiento de endometriosis. El estanozolol (17-metil-5 α -androstano[3,2-c]pirazol-17 β -ol) es un análogo de testosterona sintético.

30 El modelización por ordenador muestra que el danazol debe cruzar la barrera hematoencefálica (datos no mostrados). Por lo que se sabe, no se ha informado antes de la presente invención que el danazol pudiera hacerlo.

Los compuestos de fórmula (IV) son compuestos de fórmula (IVa) y sus sales y ésteres farmacológicamente aceptables:



(IVa)

en donde R¹⁷, R¹⁸, R¹⁹, R²⁰, R²¹, R²², R²³, R²⁴, R²⁵, R²⁶, R²⁷, R²⁸ y R²⁹ son los definidos e ilustrados anteriormente.

5 De los compuestos de fórmula (IVa) y sus sales y ésteres farmacológicamente aceptables, los preferidos son aquellos en donde:

- (xii) cada uno de R¹⁸ y R¹⁹ es el mismo o diferente y es hidrógeno o un grupo alquilo que tiene de 1 to 4 átomos de carbono;
- (xiii) cada uno de R¹⁸ y R¹⁹ es un grupo metilo;
- 10 (xiv) cada uno de R²⁰, R²¹ y R²⁴ es el mismo o diferente y es un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo que tiene de 1 a 4 átomos de carbono o R²¹ es un átomo de hidrógeno y R²⁰ y R²⁴ representan juntos un enlace sencillo;
- (xv) cada uno de R²⁰, R²¹ y R²⁴ es un átomo de hidrógeno o R²¹ es un átomo de hidrógeno y R²⁰ y R²⁴ representan juntos un enlace sencillo;
- (xvi) R¹⁷ es hidrógeno o un grupo alquilo que tiene de 1 a 4 átomos de carbono;
- 15 (xvii) R¹⁷ es hidrógeno;
- (xviii) R²² es hidroxilo, un grupo alcanoioloxi que tiene de 2 a 5 átomos de carbono, un grupo de fórmula (II) en donde n es 0, 1 o 2, y R¹¹ es un grupo alquilo que tiene de 1 a 4 átomos de carbono, un grupo hidroxilo, un grupo alcoxi que tiene de 1 a 4 átomos de carbono o un grupo de fórmula -N(R¹⁴)₂ en donde cada grupo R¹⁴ es el mismo o diferente y es hidrógeno o un grupo alquilo que tiene de 1 a 4 átomos de carbono o un grupo de fórmula (III) en donde m es 0, 1 o 2, y cada uno de R¹² y R¹³ es el mismo o diferente y es hidrógeno o un grupo alquilo que tiene de 1 a 4 átomos de carbono;
- 20 (xix) R²² es hidroxilo, un grupo alcanoioloxi que tiene 2 o 3 átomos de carbono, un grupo de fórmula (II) en donde n es 0 y R¹¹ es un grupo metilo, un grupo etilo, un grupo hidroxilo, un grupo metoxi, un grupo etoxi, un grupo amino, un grupo metilamino o un grupo dimetilamino, o un grupo de fórmula (III) en donde m es 0 o 1, y cada uno de R¹² y R¹³ es el mismo o diferente y es hidrógeno, un grupo metilo o un grupo etilo;
- 25 (xx) R¹⁷ y R²² representan juntos un grupo oxo;
- (xxi) cada uno de R²³ y R²⁹ representa un átomo de hidrógeno o R²³ y R²⁹ representan juntos un enlace epoxi;
- (xxii) R²⁵ es hidrógeno o un grupo alquilo que tiene de 1 a 4 átomos de carbono, R²⁶ es un grupo ciano y R²⁷ y R²⁸ junto con el átomo de carbono al que están anclados representan a carbonilo group, o
- 30 R²⁵, R²⁶, R²⁷ y R²⁸ junto con los átomos de carbono a los que están anclados representan un grupo heterociclilo de 5 a 7 miembros, estando dicho grupo heterociclilo de 5 a 7 miembros opcionalmente sustituido con 1 a 3 sustituyentes (dichos sustituyentes son iguales o diferentes y se seleccionan entre el grupo sustituyente α¹ definido anteriormente); y (xxiii) R²⁵ es hidrógeno, R²⁶ es un grupo ciano y R²⁷ y R²⁸ junto con el átomo de carbono al que están anclados representan un grupo carbonilo, o
- 35 R²⁵, R²⁶, R²⁷ y R²⁸ junto con los átomos de carbono a los que están anclados representan un grupo isoxazolilo.

En cada grupo de (xii) a (xiii), (xiv) a (xv), (xvi) a (xvii), (xviii) a (xix) y (xxii) a (xxiii), los compuestos de fórmula (IVa) y sus sales y ésteres farmacológicamente aceptables que tiene sustituyentes que se encuentran dentro del grupo con los números más grandes son más preferidos.

Los compuestos de fórmula (IVa) y sus sales y ésteres farmacológicamente aceptables que son proporcionados por una combinación opcional de R¹⁸ y R¹⁹ seleccionados entre (xii) a (xiii), R²⁰, R²¹ y R²⁴ seleccionados entre (xiv) a (xv), R¹⁷ seleccionado entre (xvi), (xvii) y (xx), R²² seleccionado entre (xviii) a (xx), R²³ y R²⁹ seleccionados entre (xxi) y R²⁵, R²⁶, R²⁷ y R²⁸ seleccionados entre (xxii) a (xxiii) también son preferidos.

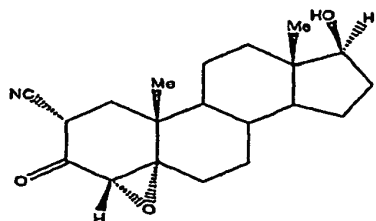
Los compuestos de fórmula (IVa) y sus sales y ésteres farmacológicamente aceptables que tiene las siguientes combinaciones son particularmente preferidos:

- (d) R¹⁸ y R¹⁹ = (xii), R²⁰, R²¹ y R²⁴ = (xiv), R¹⁷ = (xvi) y R²² = (xviii), R²³ y R²⁹ = (xxi), y R²⁵, R²⁶, R²⁷ y R²⁸ = (xxii);
- (e) R¹⁸ y R¹⁹ = (xiii), R²⁰, R²¹ y R²⁴ = (xv), R¹⁷ = (xvii) y R²² = (xix), R²³ y R²⁹ = (xxi), y R²⁵, R²⁶, R²⁷ y R²⁸ = (xxiii);
- 50 (f) R¹⁸ y R¹⁹ = (xii), R²⁰, R²¹ y R²⁴ = (xiv), R¹⁷ y R²² juntos = (xx), R²³ y R²⁹ = (xxi), y R²⁵, R²⁶, R²⁷ y R²⁸ = (xxii); y

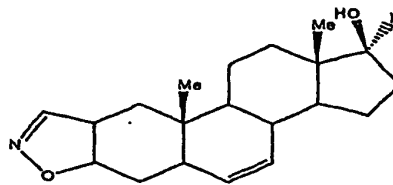
(g) R^{18} y R^{19} = (xiii), R^{20} , R^{21} y R^{24} = (xv), R^{17} y R^{22} juntos = (xx), R^{23} y R^{29} = (xxi), y R^{25} , R^{26} , R^{27} y R^{28} = (xxiii).

Los compuestos de fórmula (IVa) más preferidos y sus sales y ésteres farmacológicamente aceptables son trilostano, trilostano II, trilostano III, ceto-trilostano y sus sales y ésteres farmacológicamente aceptables:

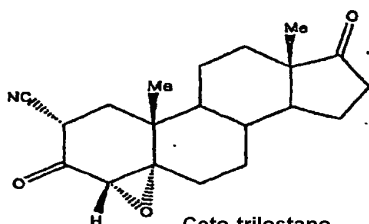
5



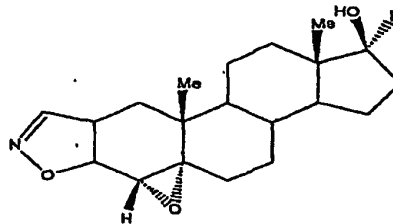
Trilostano



Trilostano II



Ceto-trilostano



Trilostano III

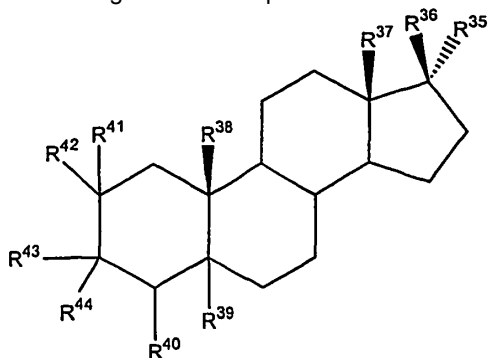
10

El trilostano (2 α -ciano-4 α ,5 α -epoxiandrostan-17 β -ol-3-ona) y sus derivados son hormonas esteroides sintéticas que tiene actividad en la reducción de las concentraciones de glucocorticoides en sangre tales como el Cortisol. El trilostano es conocido como medicación oral para el tratamiento del Síndrome de Gushing y del cáncer de mama avanzado y se describe en las Patentes del Reino Unido Núms. 1.123.770, 2.130.588 y 2.345.851, la Patente de los Estados Unidos Núm. 3.296.295 y el documento WO-A-02/080930.

15

La modelización por ordenador muestra que el trilostano debe cruzar muy fácilmente la barrera hematoencefálica (datos no mostrados). Por lo que se sabe, no se ha informado antes de la presente invención que el danazol pudiera hacerlo.

Los compuestos preferidos de fórmula (V) son los compuestos de fórmula (Va) y sus sales y ésteres farmacológicamente aceptables:



(Va)

20

en donde R^{35} , R^{36} , R^{37} , R^{38} , R^{39} , R^{40} , R^{41} , R^{42} , R^{43} y R^{44} son los definidos e ilustrados anteriormente.

25

De estos compuestos de fórmula (Va) y sus sales y ésteres farmacológicamente aceptables, los preferidos son aquellos en donde:

30

1. (i) R^{35} es un grupo alquilo que tiene de 1 a 4 átomos de carbono, un grupo alqueno que tiene de 2 a 4 átomos de carbono o un grupo alquino que tiene de 2 a 4 átomos de carbono;
2. (ii) R^{36} es un grupo metilo o un grupo etilo;
3. (iii) R^{37} es hidroxilo, un grupo alcoilo que tiene de 2 a 5 átomos de carbono, un grupo de fórmula (II) en

donde n es 0, 1 o 2, y R^{11} es un grupo alquilo que tiene de 1 a 4 átomos de carbono, un grupo hidroxilo, un grupo alcoxi que tiene de 1 a 4 átomos de carbono o un grupo de fórmula $-N(R^{14})_2$ en donde cada grupo R^{14} es el mismo o diferente y es hidrógeno o un grupo alquilo que tiene de 1 a 4 átomos de carbono o un grupo de fórmula (III) en donde m es 0, 1 o 2, y cada uno de R^{12} y R^{13} es el mismo o diferente y es hidrógeno o un grupo alquilo que tiene de 1 a 4 átomos de carbono;

4. (iv) R^{36} es hidroxilo, un grupo alcaniloilo que tiene 2 o 3 átomos de carbono, un grupo de fórmula (II) en donde n es 0 y R^{11} es un grupo metilo, un grupo etilo, un grupo hidroxilo, un grupo metoxi, un grupo etoxi, un grupo amino, un grupo metilamino o un grupo dimetilamino, o un grupo de fórmula (III) en donde m es 0 o 1, y cada uno de R^{12} y R^{13} es el mismo o diferente y es hidrógeno, un grupo metilo o un grupo etilo;
5. (v) R^{36} es hidroxilo;
6. (vi) R^{37} es hidrógeno o un grupo alquilo que tiene de 1 a 4 átomos de carbono;
7. (vii) R^{37} es un grupo metilo;
8. (viii) R^{38} es hidrógeno o un grupo alquilo que tiene de 1 a 4 átomos de carbono;
9. (ix) R^{38} es un grupo metilo;
10. (x) cada uno de R^{41} y R^{42} es un átomo de hidrógeno y R^{13} y R^{44} junto con el átomo de carbono al que están unidos representan un grupo carbonilo, o R^{41} , R^{42} , R^{43} y R^{44} junto con los átomos de carbono a los que están unidos representan un grupo heterocíclico de 5 a 7 miembros, estando dicho grupo heterocíclico de 5 a 7 miembros sustituido opcionalmente con 1 a 3 sustituyentes (dichos sustituyentes son iguales o diferentes y se seleccionan del grupo sustituyente α^1 definido a continuación), y el grupo sustituyente α^1 representa un grupo que consiste en un átomo de halógeno, un grupo hidroxilo, un grupo amino, un grupo alquilo que tiene de 1 a 4 átomos de carbono, un grupo alcoxi que tiene de 1 a 4 átomos de carbono, un grupo fenilo y un grupo de fórmula $-N(R^{16a})_2$ en donde cada grupo R^{16a} es el mismo o diferente y es hidrógeno o un grupo alquilo que tiene de 1 a 4 átomos de carbono;
11. (xi) R^{41} , R^{42} , R^{43} y R^{44} junto con los átomos de carbono a los que están unidos representan un grupo isoxazolido; y
12. (xii) cada uno de R^{39} y R^{40} es un átomo de hidrógeno o R^{39} y R^{40} juntos representan un enlace sencillo.

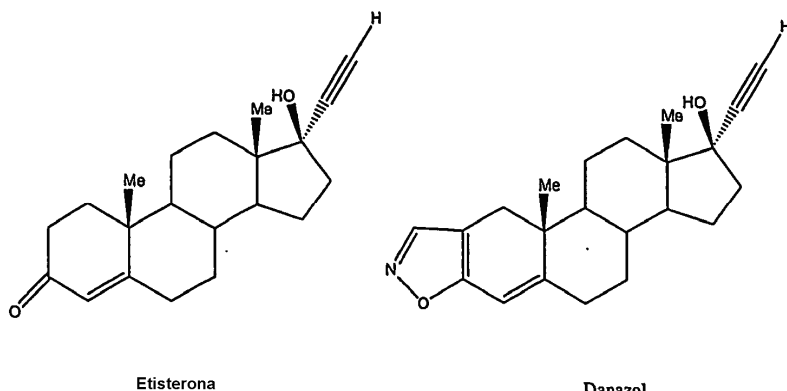
En cada grupo de (i) a (ii), (iii) a (v), (vi) a (vii), (viii) a (ix) y (x) a (xi) los compuestos de fórmula (Va) y sus sales y ésteres farmacológicamente aceptables que tienen sustituyentes que se encuentran dentro del grupo con números más grandes son más preferidos.

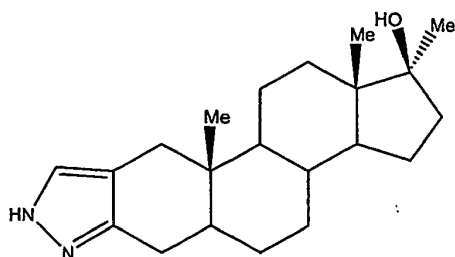
Los compuestos de fórmula (Va) y sus sales y ésteres farmacológicamente aceptables que son proporcionados por una combinación opcional de R^{35} seleccionado de (i) a (ii), R^{36} seleccionado de (iii) a (v), R^{37} seleccionado de (vi) a (vii), R^{38} seleccionado de (viii) a (IX), R^{41} , R^{42} , R^{43} y R^{44} seleccionados de (x) a (xi) y R^{39} y R^{40} seleccionado de (xii) también se prefieren.

Los compuestos de fórmula (Va) y sus sales y ésteres farmacológicamente aceptables que tienen las siguientes combinaciones son particularmente preferidos:

1. (a) $R^{35} = (i)$, $R^{36} = (iii)$, $R^{37} = (vi)$, $R^{38} = (viii)$, R^{39} y $R^{40} = (xii)$, R^{41} , R^{42} , R^{43} y $R^{44} = (x)$;
2. (b) $R^{35} = (ii)$, $R^{36} = (iv)$, $R^{37} = (vii)$, $R^{38} = (ix)$, R^{39} y $R^{40} = (xii)$, R^{41} , R^{42} , R^{43} y $R^{44} = (x)$; y
3. (c) $R^{35} = (ii)$, $R^{36} = (v)$, $R^{37} = (vii)$, $R^{38} = (ix)$, R^{39} y $R^{40} = (xii)$, R^{41} , R^{42} , R^{43} y $R^{44} = (xi)$.

Los compuestos más preferidos de fórmula (Va) y sus sales y ésteres farmacológicamente aceptables son la etisterona, el danazol y el estanozolol y sus sales y ésteres farmacológicamente aceptables:





Estanozolol

La etisterona es una hormona esteroide sintético conocida que tiene actividad antiandrogénica. La etisterona (17 α -hidroxipregn-4-en-20-in-3-ona) es un progestágeno que se ha utilizado en el pasado para tratar los trastornos menstruales y como un componente de anticonceptivos orales combinados. El danazol y el estanozolol se comentaron anteriormente.

Como se indicó anteriormente, un esteroide de fórmula I o IV, o una sal o éster farmacológicamente aceptable del mismo, se puede utilizar para tratar una enfermedad o afección angiogénica del ojo o el cerebro. Para ello, un esteroide de fórmula I o IV, o una sal o éster farmacológicamente aceptable del mismo, se administra a un animal que necesite tratamiento. Preferiblemente, el animal es un mamífero, tal como un conejo, una cabra, un perro, un gato, un caballo o un ser humano. Lo más preferiblemente, el animal es un ser humano.

Como también se indicó anteriormente, un esteroide de fórmula I, IV o V, o una sal o éster farmacológicamente aceptable del mismo, se puede utilizar para tratar una enfermedad o afección inflamatoria del ojo o el cerebro. Para ello, un esteroide de fórmula I, IV o V, o una sal o éster farmacológicamente aceptable del mismo, se administra a un animal que necesite tratamiento. Preferiblemente, el animal es un mamífero, tal como un conejo, una cabra, un perro, un gato, un caballo o un ser humano. Lo más preferiblemente, el animal es un ser humano.

Las formas de dosificación, los modos de administración y las cantidades de dosificación eficaces para los compuestos de la invención pueden ser determinadas empíricamente, y la realización de tales determinaciones está dentro del conocimiento práctico de la técnica. Los expertos en la técnica entienden que la cantidad de dosificación variará con el compuesto concreto empleado, la enfermedad o afección que se vaya a tratar, la gravedad de la enfermedad o afección, la ruta o rutas de administración, la tasa de excreción del compuesto, la duración del tratamiento, la identidad de cualquier otro fármaco que esté siendo administrado al animal, la edad, el tamaño y la especie del animal, y factores similares conocidos en las técnicas médicas y veterinarias. En general, una dosis diaria adecuada de un compuesto de la presente invención será aquella cantidad del compuesto que es la dosis más baja eficaz para producir un efecto terapéutico. Sin embargo, la dosis diaria será determinada por un médico o veterinario que atienda dentro del alcance del criterio médico. Si se desea, la dosis diaria eficaz se puede administrar en forma de dos, tres, cuatro, cinco, seis o más sub-dosis, administradas separadamente a intervalos apropiados durante todo el día. La administración del compuesto debe continuarse hasta que se logre una respuesta aceptable.

Los compuestos de la presente invención (incluyendo sus sales y ésteres farmacológicamente aceptables) se administran a un paciente animal para el tratamiento por vía tópica (incluyendo por vía bucal y sublingual). Las rutas de administración preferidas para el tratamiento de enfermedades y afecciones del cerebro son por vía oral y parenteral. La más preferida es por vía oral.

Mientras sea posible administrar solo un compuesto de la presente invención, es preferible administrar el compuesto en forma de una formulación farmacéutica (composición). Las composiciones farmacéuticas de la invención comprenden uno o varios compuestos de la invención como ingrediente activo mezclados con uno o más portadores farmacéuticamente aceptables y, opcionalmente, con uno o más de otros compuestos, fármacos u otros materiales. Cada portador debe ser "aceptable" en el sentido de ser compatible con los otros ingredientes de la formulación y no perjudicial para el animal. Los portadores farmacéuticamente aceptables son bien conocidos en la técnica. Independientemente de la ruta de administración seleccionada, los compuestos de la presente invención se formulan en formas de dosificación farmacéuticamente aceptables por medio de métodos convencionales conocidos por los expertos en la técnica. Véase, p. ej., Remington Pharmaceutical Sciences.

Las formulaciones adecuadas para la administración oral pueden estar en forma de cápsulas, sellos, píldoras, comprimidos, polvos, gránulos o en forma de una solución o una suspensión en un líquido acuoso o no acuoso, o emulsiones líquidas un aceite de agua o agua en aceite, o en forma de un elixir o jarabe, o en forma de pastillas (usando una base inerte, tal como gelatina y glicerina, o sacarosa y acacia), y similares, conteniendo cada uno una

cantidad predeterminada de uno o varios compuestos como se describió anteriormente como ingrediente activo. Tal compuesto o compuestos se pueden administrar también en forma de bolo, electuario o pasta.

En las formas de dosificación sólidas para su administración oral (cápsulas, comprimidos, píldoras, grageas, polvos, gránulos y similares), el ingrediente activo (es decir, uno o más esteroides de la fórmula indicada anteriormente y/o sales farmacológicamente aceptables y/o ésteres de los mismos) se mezcla con uno o más vehículos farmacéuticamente aceptables, tales como citrato de sodio o fosfato dicálcico, y/o cualquiera de los siguientes: (1) cargas o expansores, tales como almidones, lactosa, sacarosa, glucosa, manitol, y/o ácido silícico; (2) aglutinantes, tales como, por ejemplo, carboximetilcelulosa, alginatos, gelatina, polivinilpirrolidona, sacarosa y/o acacia; (3) humectantes, tales como glicerol; (4) agentes disgregantes, tales como agar-agar, carbonato de calcio, almidón de patata o de tapioca, ácido algínico, ciertos silicatos, y carbonato de sodio; (5) agentes retardantes de la disolución, tales como parafina; (6) aceleradores de la absorción, tales como compuestos de amonio cuaternario; (7) agentes humectantes, tales como, por ejemplo, alcohol cetílico y monoestearato de glicerol; (8) absorbentes, tales como caolín y arcilla de bentonita; (9) lubricantes, tales como talco, estearato de calcio, estearato de magnesio, polietilenglicoles sólidos, lauril sulfato de sodio, y mezclas de los mismos; y (10) agentes colorantes. En el caso de las cápsulas, los comprimidos y píldoras, las composiciones farmacéuticas también pueden comprender agentes tamponadores. Las composiciones sólidas de un tipo similar se pueden emplear como cargas en cápsulas de gelatina blanda y dura utilizando tales excipientes como lactosa o galactosa, así como polietilenglicoles de alto peso molecular y similares.

Se puede fabricar un comprimido por compresión o moldeo, opcionalmente con uno o más ingredientes accesorios. Los comprimidos fabricados por compresión pueden prepararse usando aglutinantes (por ejemplo, gelatina o hidroxipropilmetilcelulosa), lubricantes, diluyentes inertes, conservantes, disgregantes (por ejemplo, glicolato sódico de almidón o carboximetilcelulosa de sodio entrecruzada), agentes tensioactivos o dispersantes. Los comprimidos moldeados se pueden elaborar moldeando en una máquina adecuada una mezcla del compuesto en polvo humedecido con un diluyente líquido inerte.

Los comprimidos, y otras formas de dosificación sólidas de las composiciones farmacéuticas, tales como grageas, cápsulas, píldoras y gránulos, pueden opcionalmente ser ranurados o preparados con recubrimientos y cubiertas, tales como recubrimientos entéricos y otros recubrimientos bien conocidos en la técnica de formulación farmacéutica. También pueden formularse de manera que proporcionen una liberación lenta o controlada del ingrediente activo utilizando, por ejemplo, hidroxipropilmetilcelulosa en proporciones variables para proporcionar el perfil de liberación deseado, otras matrices poliméricas, liposomas y/o microesferas. Se pueden esterilizar, por ejemplo, mediante filtración a través de un filtro de retención de bacterias. Estas composiciones también pueden contener opcionalmente agentes opacificantes y pueden tener una composición tal que liberen el ingrediente activo solo, o preferiblemente, en una cierta porción del tracto gastrointestinal, opcionalmente, de una manera retardada. Los ejemplos de composiciones embebidas que se pueden utilizar incluyen sustancias poliméricas y ceras. El ingrediente activo también puede estar en forma microencapsulada.

Formas de dosificación líquidas para la administración oral de los compuestos incluyen emulsiones, microemulsiones, soluciones, suspensiones, jarabes y elixires farmacéuticamente aceptables. Además del ingrediente activo, las formas de dosificación líquidas pueden contener diluyentes inertes comúnmente utilizados en la técnica, tales como, por ejemplo, agua u otros disolventes, agentes solubilizantes y emulsionantes, tales como alcohol etílico, alcohol isopropílico, carbonato de etilo, acetato de etilo, alcohol bencílico, benzoato de bencilo, propilenglicol, 1,3-butilenglicol, aceites (en particular, aceites de semilla de algodón, cacahuete, maíz, germen, oliva, ricino y sésamo), glicerol, alcohol tetrahidrofúrilico, polietilenglicoles y ésteres de ácidos grasos de sorbitán, y mezclas de los mismos.

Además de los diluyentes inertes, las composiciones orales también pueden incluir coadyuvantes tales como agentes humectantes, agentes emulsionantes y suspensores, agentes edulcorantes, aromatizantes, colorantes, perfumantes y conservantes.

Las suspensiones, además del ingrediente activo, pueden contener agentes suspensores como, por ejemplo, alcoholes isoestearílicos etoxilados, polioxietilensorbitol y ésteres de sorbitán, celulosa microcristalina, metahidróxido de aluminio, bentonita, agar-agar y tragacanto, y mezclas de los mismos.

La invención proporciona composiciones farmacéuticas adecuadas para el tratamiento tópico del ojo.

Las formulaciones farmacéuticas (composiciones) para la inyección intraocular de uno o varios compuestos en el globo ocular incluyen soluciones, emulsiones, suspensiones, partículas, cápsulas, microesferas, liposomas, matrices, etc. Véanse, p. ej., la Patente de los Estados Unidos Núm. 6.060.463, La Publicación de la Solicitud de Patente de los Estados Unidos Núm., y la Solicitud PCT WO 2004/043480. Por ejemplo, una formulación farmacéutica para inyección intraocular puede comprender uno o más compuestos combinados con una o más soluciones, suspensiones o emulsiones acuosas o no acuosas isotónicas estériles farmacéuticamente aceptables,

que pueden contener antioxidantes, tampones, agentes suspensorios, agentes espesantes o agentes potenciadores de la viscosidad (tales como un polímero de ácido hialurónico). Los ejemplos de los vehículos acuosos y no acuosos adecuados incluyen agua, solución salina (preferiblemente al 0,9%), dextrosa en agua (preferiblemente al 5%), tampones, dimetilsulfóxido, alcoholes y polioles (tales como glicerol, propilenglicol, polietilenglicol, y similares). Estas composiciones también pueden contener adyuvantes tales como agentes emulsionantes y agentes humectantes y dispersantes. Además, la absorción prolongada de la forma farmacéutica inyectable puede ser provocada por la inclusión de agentes que retrasan la absorción tales como polímeros y gelatina. Las formas de depósito inyectables se pueden elaborar mediante la incorporación del fármaco a las microcápsulas o microesferas elaboradas de polímeros biodegradables tales como polilactida-poliglicólido. Los ejemplos de otros polímeros biodegradables incluyen poli (ortoésteres), ácido poli(glicólico), ácido poli(láctico), policaprolactona y poli(anhídridos). Las formulaciones inyectables de depósito también se preparan atrapando el fármaco en liposomas (compuesto de los ingredientes habituales, tales como dipalmitoilfosfatidilcolina) o microemulsiones que son compatibles con el tejido ocular. Dependiendo de la razón de fármaco a polímero o lípido, la naturaleza de los componentes poliméricos o lipídicos concretos, el tipo de liposoma empleado, y si las microcápsulas o microesferas están recubiertas o sin recubrir, se puede controlar la tasa de liberación del fármaco de las microcápsulas, microesferas y liposomas.

Los compuestos también se pueden administrar quirúrgicamente en forma de un implante ocular. Por ejemplo, se puede implantar en o sobre la esclerótica un recipiente de depósito que tiene una pared difusible de poli(alcohol vinílico) o poli(acetato de vinilo) y que contiene uno o varios compuestos. Como otro ejemplo, se pueden incorporar uno o varios compuestos de la invención en una matriz polimérica elaborada de un polímero, tal como policaprolactona, poli(ácido glicólico), poli(ácido láctico), poli(anhídrido), o un lípido, tal como ácido sebácico, y se puede implantar en la esclerótica o en el ojo. Esto generalmente se logra recibiendo el animal un anestésico tópico o local y el uso de una pequeña incisión realizada detrás de la córnea. La matriz se inserta a continuación a través de la incisión y se sutura a la esclerótica.

La invención se refiere particularmente a la administración tópica local de los compuestos de la invención en el ojo, y una realización particularmente preferida de la invención es una composición farmacéutica tópica adecuada para la aplicación en el ojo. Las composiciones farmacéuticas tópicas adecuadas para aplicación en el ojo incluyen soluciones, suspensiones, dispersiones, gotas, geles, hidrogeles y pomadas. Véase, por ejemplo, la Patente de los Estados Unidos Núm. 5.407.926 y las solicitudes PCT WO 2004/058289, WO 01/30337 y WO 01/68053.

Las formulaciones tópicas adecuadas para aplicación en el ojo comprenden uno o más compuestos de la invención en una base acuosa o no acuosa. Las formulaciones tópicas pueden incluir también potenciadores de la absorción, potenciadores de la penetración, agentes espesantes, potenciadores de la viscosidad, agentes para ajustar y/o mantener el pH, agentes para ajustar la presión osmótica, conservantes, tensioactivos, tampones, sales (preferiblemente cloruro de sodio), agentes suspensorios, agentes dispersantes, agentes solubilizantes, estabilizadores y/o agentes de tonicidad. Las formulaciones tópicas adecuadas para su aplicación en el ojo comprenderán preferiblemente un potenciador de la absorción o penetración para promover la absorción o la penetración del compuesto o compuestos de la invención en el ojo y/o un agente espesante o potenciador de la viscosidad que sea capaz de aumentar el tiempo de residencia de un compuesto o compuestos de la invención en el ojo. Ver solicitudes PCT WO 2004/058289, WO 01/30337 y WO 01/68053. Los potenciadores de la absorción/penetración ilustrativos incluyen metilsulfonilmetano, solo o combinado con dimetilsulfóxido, ácidos carboxílicos y tensioactivos. Los agentes espesantes y los potenciadores de la viscosidad ilustrativos incluyen dextranos, polietilenglicoles, polivinilpirrolidona, geles de polisacáridos, Gelrite (R), polímeros celulósicos (tales como hidroxipropilmetilcelulosa), polímeros que contienen grupos carboxilo (tales como polímeros o copolímeros de ácido acrílico), poli(alcohol vinílico) y ácido hialurónico o una sal del mismo.

Las formas de dosificación líquida (por ejemplo, soluciones, suspensiones, dispersiones y gotas) adecuadas para el tratamiento del ojo se pueden preparar, por ejemplo, disolviendo, dispersando, suspendiendo, etc. uno o varios compuestos de la invención en un vehículo, tal como, por ejemplo, agua, solución salina, dextrosa acuosa, glicerol, etanol y similares, para formar una solución, dispersión o suspensión. Si se desea, la formulación farmacéutica también puede contener cantidades mínimas de sustancias auxiliares no tóxicas, tales como agentes humectantes o emulsionantes, agentes tamponadores del pH y similares, por ejemplo acetato de sodio, monolaurato de sorbitán, acetato sódico de trietanolamina, oleato de trietanolamina, etc.

Las soluciones y suspensiones acuosas adecuadas para el tratamiento del ojo pueden incluir, además de uno o varios compuestos de la invención, conservantes, tensioactivos, tampones, sales (preferiblemente cloruro de sodio), agentes de tonicidad y agua. Si se utilizan suspensiones, los tamaños de las partículas deben ser menos de 10 [μm] para minimizar la irritación de los ojos. Si se utilizan soluciones o suspensiones, la cantidad liberada en el ojo no debe exceder de 50 [μm] para evitar el derrame excesivo desde el ojo.

Las suspensiones coloidales adecuadas para el tratamiento del ojo se forman generalmente a partir de micropartículas (es decir, microesferas, nanoesferas, microcápsulas o nanocápsulas, donde las microesferas y las nanoesferas son generalmente partículas monolíticas de una matriz polimérica en la que está atrapada, adsorbida, o

contenida de otra manera la formulación, mientras con las microcápsulas y las nanocápsulas la formulación se encapsula realmente). El límite superior para el tamaño de estas micropartículas es de aproximadamente 5 μ a alrededor de 10 μ .

5 Los ungüentos oftálmicos adecuados para el tratamiento del ojo incluyen uno o varios compuestos de la invención en una base apropiada, tal como aceite mineral, lanolina líquida, vaselina blanca, una combinación de dos o los tres anteriores, o gel de polietileno- aceite mineral. Se puede incluir opcionalmente un conservante. Los geles oftálmicos adecuados para el tratamiento del ojo incluyen uno o varios compuestos de la invención suspendidos en una base hidrófila, tal como Carbopol-940 o una combinación de etanol, agua y propilenglicol (p. ej., a una proporción de 40:40:20). Se utiliza un agente gelificante, tal como hidroxietilcelulosa, hidroxipropilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa o glicirricinato amoniacal. Se pueden incluir opcionalmente un conservante y/o un agente de tonicidad. Los hidrogeles adecuados para el tratamiento del ojo se forman incorporando un polímero hinchable, formador de gel, tal como los enumerados anteriormente como agentes espesantes o potenciadores de la viscosidad, excepto que una formulación referida en la técnica como "hidrogel" tiene típicamente una mayor viscosidad que una formulación referida como solución o suspensión "espesada". En contraste con tales hidrogeles preformados, también se puede preparar una formulación de manera que se forme un hidrogel in situ después de la aplicación en el ojo. Tales geles son líquidos a temperatura ambiente, pero gelifican a temperaturas más altas (y por tanto se denominan hidrogeles "termorreversibles"), por ejemplo cuando se colocan en contacto con fluidos corporales. Los polímeros biocompatibles que confieren esta propiedad incluyen polímeros y copolímeros de ácido acrílico, derivados de N-isopropilacrilamida y copolímeros de bloques ABA de óxido de etileno y óxido de propileno (referidos convencionalmente como "poloxámeros" y asequebajo el nombre comercial Pluronic (R) de BASF-Wayndotte).

25 Las dispersiones preferidas son liposomales, en cuyo caso la formulación está encerrada dentro de los liposomas (vesículas microscópicas compuestas de compartimentos acuosos alternos y bicapas lipídicas).

30 Las gotas oculares se pueden formular con una base acuosa o no acuosa comprendiendo también uno o más agentes dispersantes, agentes solubilizantes o agentes suspensores. Las gotas pueden ser liberadas por medio de un simple frasco cuentagotas con tapa o por medio de una botella de plástico adaptada para suministrar contenido líquido gota a gota por medio de un cierre de forma especial.

Adicionalmente se describen compuestos que también pueden ser aplicados tópicamente por medio de un vehículo sólido impregnado con el fármaco que se inserta en el ojo. La liberación del fármaco se efectúa generalmente por disolución o bioerosión del polímero, ósmosis, o combinaciones de los mismos. Se pueden utilizar varios sistemas liberación de tipo de matriz. Tales sistemas incluyen lentes de contacto blandas hidrófilas impregnadas o empapadas con el compuesto deseado de la invención, así como dispositivos biodegradables o solubles que no necesitan ser retirados después de su colocación en el ojo. Estos insertos oculares solubles pueden estar compuestos de cualquier sustancia degradable que puede ser tolerada por el ojo y que sea compatible con los compuestos descritos en el presente documento que se van a administrar. Tales sustancias incluyen, pero no se limitan a, poli(alcohol vinílico), polímeros y copolímeros de poli(acrilamida, acrilato de etilo y vinilpirrolidona, así como polipéptidos o polisacáridos reticulados, tales como quitina.

45 Las formas de dosificación para los otros tipos de administración tópica (es decir, no en el ojo) o para la administración transdérmica de compuestos incluyen polvos, pulverizaciones, ungüentos, pastas, cremas, lociones, geles, soluciones, parches e inhalantes, gotas. El ingrediente activo puede mezclarse en condiciones estériles con un portador farmacéuticamente aceptable, y con tampones, o propelentes cualesquiera que puedan ser necesarios. Las pomadas, pastas, cremas y geles pueden contener, además del ingrediente activo, excipientes, tales como grasas animales y vegetales, aceites, ceras, parafinas, almidón, tragacanto, derivados de celulosa, polietilenglicoles, siliconas, bentonitas, ácido silícico, talco y óxido de zinc, o mezclas de los mismos. Los polvos y pulverizaciones pueden contener, además del ingrediente activo, excipientes tales como lactosa, talco, ácido silícico, hidróxido de aluminio, silicatos de calcio y polvo de poliamida o mezclas de estas sustancias. Las pulverizaciones pueden contener adicionalmente propelentes habituales tales como clorofluorohidrocarbonos e hidrocarburos volátiles no sustituidos, tales como butano y propano. Los parches transdérmicos tienen la ventaja añadida de proporcionar una liberación controlada de los compuestos en el organismo. Tales formas de dosificación se pueden preparar disolviendo, dispersando o incorporando de otra manera uno o más compuestos en un medio adecuado, tal como un material de matriz elastomérico. Los potenciadores de la absorción también se pueden utilizar para aumentar el flujo del compuesto a través de la piel. La tasa de tal flujo se puede controlar proporcionando una membrana controladora de la velocidad o dispersando el compuesto en una matriz o gel de polímero.

60 Otras formulaciones farmacéuticas incluyen las adecuadas para la administración por medio de inhalación o insuflación o para la administración nasal. Para la administración al tracto respiratorio superior (nasal) o inferior por inhalación, los compuestos se suministran convenientemente desde un insuflador, nebulizador o un envase presurizado u otros medios convenientes para la liberación de una pulverización de aerosol. Los envases presurizados pueden comprender un propelente adecuado tal como diclorodifluorometano, triclorofluorometano,

diclorotetrafluoroetano, dióxido de carbono, u otro gas adecuado. En el caso de un aerosol presurizado, la unidad de dosificación puede determinarse proporcionando una válvula para suministrar una cantidad medida.

- 5 Alternativamente, para la administración por medio de inhalación o insuflación, la composición puede adoptar la forma de un polvo seco, por ejemplo, una mezcla en polvo de uno o más compuestos de la invención y una base de polvo adecuada, tal como lactosa o almidón. La composición en polvo puede presentarse en una forma de dosificación unitaria en, por ejemplo, cápsulas o cartuchos, o, p. ej., envases gelatina o tipo blíster a partir de los cuales el polvo se puede administrar con la ayuda de un inhalador, un insuflador o un inhalador de dosis medida.
- 10 Para la administración intranasal, los compuestos de la invención se pueden administrar por medio de gotas nasales o una pulverización líquida, tal como por medio de un atomizador de botella de plástico o un inhalador de dosis medida. Los aerosoles líquidos se suministran convenientemente desde envases presurizados. Son típicos de los pulverizadores Mistometer (Wintrop) y Medihaler (Riker).
- 15 Las gotas nasales se pueden formular con una base acuosa o no acuosa que también comprende uno o más agentes dispersantes, agentes solubilizantes o agentes suspensores. Las gotas se pueden liberar por medio de un simple frasco cuentagotas con tapa o por medio de una botella de plástico adaptada para la liberación de contenido líquido gota a gota por medio de un cierre de forma especial.
- 20 Las composiciones farmacéuticas adecuadas para administraciones parenterales comprenden uno o más compuestos combinados con una o más soluciones, dispersiones, suspensiones o emulsiones acuosa o no acuosas isotónicas estériles farmacéuticamente aceptables, o polvos estériles que pueden reconstituirse en soluciones o dispersiones inyectables estériles inmediatamente antes de su uso, que pueden contener antioxidantes, tampones, solutos que vuelven la formulación isotónica con la sangre del receptor deseado o agentes suspensores o
- 25 espesantes.
- Ejemplos de vehículos acuosos y no acuosos adecuados que se pueden emplear en las composiciones farmacéuticas incluyen agua, etanol, polioles (tales como glicerol, propilenglicol, polietilenglicol, y similares), y mezclas adecuadas de los mismos, aceites vegetales, tales como aceite de oliva, y ésteres orgánicos inyectables, tales como oleato de etilo. La fluidez apropiada puede mantenerse, por ejemplo, por medio del uso de materiales de recubrimiento, tales como lecitina, mediante el mantenimiento del tamaño de partícula requerido en el caso de las dispersiones, y mediante el uso de tensioactivos.
- 30 Estas composiciones también pueden contener coadyuvantes tales como agentes humectantes, agentes emulsionantes y agentes dispersantes. También puede ser deseable incluir agentes isotónicos, tales como azúcares, cloruro de sodio, y similares en las composiciones. Además, la absorción prolongada de la forma farmacéutica inyectable puede ser provocada por la inclusión de agentes que retrasan la absorción tales como monoestearato de aluminio y gelatina.
- 35 En algunos casos, con el fin de prolongar el efecto de un fármaco, es deseable ralentizar la absorción del fármaco desde la inyección subcutánea o intramuscular. Esto se puede lograr por medio del uso de una suspensión líquida de material cristalino o amorfo que tiene escasa solubilidad en agua. La velocidad de absorción del fármaco depende entonces de su velocidad de disolución que, a su vez, puede depender del tamaño del cristal y la forma cristalina. Alternativamente, la "absorción retardada de un fármaco administrado parenteralmente se logra
- 40 disolviendo o suspendiendo el fármaco en un vehículo oleoso.
- Las formas de depósito inyectables se elaboran formando matrices microencapsuladas del fármaco en polímeros biodegradables tales como polilactida-poliglicólido. Dependiendo de la razón de fármaco a polímero, y la naturaleza del polímero concreto empleado, se puede controlar la velocidad de liberación del fármaco. Los ejemplos de otros
- 50 polímeros biodegradables incluyen poli(ortoésteres) y poli(anhídridos). Las formulaciones inyectables de depósito también se preparan atrapando el fármaco en liposomas o microemulsiones que son compatibles con el tejido corporal. Las sustancias inyectables se pueden esterilizar por ejemplo, por medio de filtración a través de un filtro de retención de bacterias.
- 55 Las formulaciones pueden presentarse en dosis unitarias o recipientes cerrados de múltiples dosis, por ejemplo, ampollas y viales, y se pueden almacenar en un estado liofilizado que requiere sólo la adición del portador líquido estéril, por ejemplo agua para inyectables, inmediatamente antes de su uso. Las soluciones y suspensiones inyectables extemporáneas se pueden preparar a partir de polvos estériles, gránulos y comprimidos del tipo descrito anteriormente.
- 60 Los objetos adicionales, ventajas y nuevas características de la presente invención resultarán evidentes para los expertos en la técnica considerando los siguientes ejemplos no limitantes.

Ejemplos

Ejemplo 1: Efecto de trilostano III sobre la angiogénesis HUVEC: Cámara de invasión

Propósito:

Para examinar el efecto del trilostano III sobre la invasión de células endoteliales inducida por suero de ternera fetal por medio de insertos tratados con matrigel.

Materiales:

- Pase 5 células endoteliales de vena umbilical humana 7016 (HUVEC), Cambrex (Walkersville, MD)
- Medio EGM-2, Cambrex (Walkersville, MD), con suplemento para incluir suero de ternera fetal al 0,1% o al 5%
- LY294002 y LY303511 10 mM en DMSO, CalBiochem
- Trilostano III 50 mM en etanol, Bowman Research, Newport, South Wales, UK (preparado, por ejemplo, como se describe en el documento GB 1.123.770)
- Calceína AM 4 mM en DMSO, Sigma (St. Louis, MO)
- Solución salina tamponada con Hepes (HBSS), Cambrex (Walkersville, MD)
- BD Biocoat Marigel Invasion Chamber, BD Biosciences (San Jose, CA)
- Lector de fluorescencia de microplaca

Protocolo: abreviado

[0117]

1. Se lavaron células HUVEC tratadas con tripsina de matraces desarrollados en medio Cambrex EGM-2 hasta una confluencia de 70-80% dos veces con EGM-2 a 37°C con FCS al 0,1%.
2. Se añadieron suspensiones celulares que contenían 30.000 células y compuestos en EGM-2 con FCS al 0,1% a la cámara superior de los insertos.
3. Se añadió EGM-2 que contenía FCS al 5% a la parte inferior de la cámara y después se incubó durante 24 horas a 37°C CO₂ al 5%.
4. Las células no invasoras se retiraron de la cámara superior con un bastoncillo de algodón y los insertos se lavaron dos veces con HBSS a 37°C.
5. A continuación los insertos se colocaron en pocillos que contenían Calceína AM 10 µM en HBSS.
6. Después de cuatro horas a 37°C y CO₂ al 5%, se midió la fluorescencia a 485 nm de excitación y 595 nm de emisión.

Resultados y observaciones:

Los resultados se presentan como las unidades de fluorescencia medias (UF) por triplicado (n=3) restando la fluorescencia de fondo. Se utilizaron células HUVEC 7016 para este experimento que mostraban una viabilidad del 95% mediante exclusión con azul de tripan en el momento de la siembra. Para determinar la invasión de fondo, se incluyeron insertos nulos por triplicado que tenían EGM-2 con FCS al 0,1% añadido a la parte inferior de la cámara. Sin una señal quimiotáctica, estos insertos darán una invasión de fondo para comparar los pocillos con FCS y con FCS más compuesto. Los resultados se muestran en la siguiente Tabla 1 y se representan gráficamente en la Figura 1.

Tabla 1

Muestra	Media UF	Patrón UF	ETM UF	Valores de p vs FCS al 5%
Nulo	9034	1688,2	974,687	0,024186
FCS al 5%	12039,7	764,86	441,591	
Trilostano 50 µM	9101,33	540,28	311,928	0,002781
Trilostano 25 µM	11212,3	2748,7	1586,94	0,320938
LY 303511	12795,3	609,45	351,867	0,125899

Muestra	Media UF	Patrón UF	ETM UF	Valores de p vs FCS al 5%
50 µM				
LY 294002 50 µM	9454,33	1877,9	1084,18	0,045893

Discusión y conclusión:

5 La dosis elevada de trilostano III disminuyó los valores de nuevo al fondo. Se incluyó LY294002, un inhibidor conocido de la invasión, como control y mostró una inhibición similar a la del trilostano. LY303511 es una variante inactiva de LY294002 y no tuvo efecto sobre la invasión como se esperaba. En conclusión, podría parecer que el trilostano III tiene efecto sobre la invasión de células endoteliales en ciertos individuos o en el momento apropiado del ciclo celular.

10 Ejemplo 2: Efecto de Trilostano III sobre la proliferación de células HUVEC

Propósito:

15 Determinar el efecto que tiene el trilostano III sobre la proliferación de células HUVEC.

Materiales:

- Pase 2 células endoteliales de vena umbilical humana (HUVEC), Cambrex
- Medio EGM-2 con suplemento para incluir suero de ternera fetal al 0,1% y al 5%, Cambrex
- Trilostano III 50 mM en etanol, Bowman Research, Newport, South Wales, UK (preparado, por ejemplo, como se describe en el documento GB 1.123.770)
- Solución salina tamponada con Hepes (HBSS), Cambrex
- Celltiter 96 Aqueous One reagent, Promega
- Placas para cultivo de tejidos Falcon de 96 pocillos
- Lector de fluorescencia de microplaca

Protocolo:

- 30 1. Las células HUVEC se cultivaron en placas de 96 pocillos a 5.000 células/cm² y se incubaron durante 24 horas a 37°C y CO₂ al 5% en medio EGM-2.
2. El medio se aspiró y las células se lavaron a continuación dos veces con HBSS a 37°C.
3. Se añadió EGM-2 que contenía FCS al 5% con y sin el compuesto (trilostano III 0,01 µM - 200 µM) a los pocillos y se incubó durante 24, 48, o 72 horas.
- 35 4. Las células se lavaron de nuevo dos veces con HBSS templado y después se añadió reactivo Celltiter en EGM-2 con FCS al 0,1%.
5. Después de 4 horas en cultivo se determinó la DO de cada pocillo a 470 nm.
6. Repetir las etapas 4 y 5 para cada punto de tiempo.

40 Resultados y observaciones:

Los resultados se presentan como la DO media de las muestras realizadas por triplicado (n=3) restando la DO blanco media. Para este experimento se utilizaron células HUVEC 8750 con una viabilidad de 98% mediante exclusión con azul de tripán en el momento de la siembra. Se añadió suero de ternera fetal extra (el 2% aumento a 5%) para mantener el trilostano III en solución. Los datos brutos se muestran en la siguiente Tabla 2 y se representan gráficamente en la Figura 2.

Tabla 2

Trilostano III					
Muestra	24 horas	48 horas	72 horas		
Nulo	0,414	0,629333	1,1135		
0,1 μ M	0,387333	0,656	0,918667		
1 μ M	0,311	0,434667	0,387667		
10 μ M	0,246667	0,203	0,072		
100 μ M	0,278667	0,214667	0,108		
Trilostano III resultados 24 horas					
Muestra	DO 1	DO 2	DO 3	patrón	Valor de p vs Nulo
Nulo	0,345	0,457	0,44	0,060357	
0,1 μ M	0,362	0,368	0,432	0,038799	0,277404
1 μ M	0,284	0,328	0,321	0,023643	0,025631
10 μ M	0,18	0,267	0,293	0,059181	0,013283
100 μ M	0,235	0,334	0,267	0,050521	0,020409
Trilostano III resultados 48 horas					
Muestra	DO 1	DO 2	DO 3	patrón	Valor de p vs Nulo
Nulo	0,521	0,666	0,701	0,095438	
0,1 μ M	0,575	0,698	0,695	0,070164	0,358232
1 μ M	0,358	0,489	0,457	0,068296	0,022665
10 μ M	0,159	0,208	0,242	0,041725	0,001045
100 μ M	0,17	0,23	0,244	0,039311	0,001121
Trilostano III resultados 72 horas					
Muestra	DO 1	DO 2	DO 3	patrón	Valor de p vs Nulo
Nulo		1,075	1,152	0,054447	
0,1 μ M	0,733	0,962	1,061	0,168239	0,113558
1 μ M	0,387	0,437	0,339	0,049003	0,000285
10 μ M	0,031	0,095	0,09	0,035595	5.8E-05
100 μ M	0,092	0,119	0,113	0,014177	3.09E-05

Discusión y conclusión:

5

10

El trilostano III demostró ser eficaz en la inhibición de la proliferación de las células endoteliales. Concentraciones tan bajas como 1 μ M (a las 24 horas), mostraron descensos estadísticamente relevantes en la proliferación celular. El aumento de la dosis a 100 μ M, inhibió los cultivos en 33, 67, y 90% a las 24, 48, y 72 horas respectivamente. La siembra inicial de 1.500 células por pocillo no es detectable por el análisis Celltiter. Las células se deben expandir hasta niveles detectables, de manera que se puede esperar una inhibición del 100% y no interferiría en la toxicidad celular. Las células viables fueron visible en todos los pocillos examinados bajo el microscopio invertido, incluso a las dosis más elevadas después de 72 horas en cultivo. Estos resultados indican que el trilostano III puede ser un compuesto antiangiogénico eficaz, interfiriendo en la proliferación inicial de las células endoteliales.

Ejemplo 3: Efecto del trilostano III sobre la angiogénesis de HUVEC: formación de tubo

Propósito:

Examinar el efecto del trilostano III sobre la formación de estructuras de tipo tubo por células HUVEC en un gel de matriz extracelular.

Materiales:

- Pase 3 células endoteliales de vena umbilical humana (HUVEC), Cambrex
- Medio EGM-2, Cambrex: con suplemento para incluir suero de ternera fetal al 0,1% o al 5%
- LY294002 y LY303511 10 mM en DMSO, CalBiochem
- Trilostano III 50 mM en etanol, Bowman Research, Newport, South Wales, UK (preparado, por ejemplo, como se describe en el documento GB 1.123.770)
- Sistema BD Biocoat Angiogenesis: análisis de formación de tubo, BD Biosciences
- Microscopio con cámara

Protocolo: abreviado

1. Se lavaron células HUVEC tratadas con tripsina de matraces desarrollados en medio Cambrex EGM-2 hasta una confluencia de 70-80% dos veces con EGM-2 a 37°C con FCS al 0,1%.
2. Se añadieron suspensiones celulares que contenían 10.000 células en EGM-2 con FCS al 0,1% y al 5% por pocillo, a continuación se incubaron durante 18 horas a 37°C y con CO₂ al 5%.
3. Después de la incubación, se fotografiaron las formaciones de tubo al microscopio.

Resultados y observaciones:

Se utilizaron las células HUVEC 8750 del pase 3 para este experimento a una viabilidad del 98% por medio de exclusión con azul de tripán en el momento de la siembra. Se obtuvieron pocas células para este experimento pero no parecieron interferir en el desarrollo de los tubos. Las fotografías de los pocillos representativos para el compuesto y los controles se muestran en la Figura 3.

Discusión y conclusión:

La etapa final de la angiogénesis es la formación de nuevas estructuras vasculares. Las células HUVEC cuando se hagan crecer en geles de proteínas de la matriz extracelular, mostrarán un "entramado" de vacuolas que imitan el lumen interior del capilar. La adición de suero de ternera fetal, u otras sustancias angiogénicas, aumentará la longitud y la definición de estas estructuras. La dosificación con trilostano 50 µM III condujo a una disminución de la ramificación, la formación de vacuolas, y a un incremento de las células satélite. El LY294002 50 µM, un inhibidor de PI3 quinasa que se sabe que interfiere en la formación de tubo, inhibió completamente el desarrollo observado en los pocillos nulos, mientras la forma inactiva mostró una formación de tubo comparable con la de las células no tratadas. La inclusión de suero de ternera fetal al 5% en los pocillos incrementó la definición del tubo y la formación de vacuolas. El tratamiento con trilostano III 50 µM y LY294002 50 µM redujo enormemente la formación de tubo en presencia de suero de ternera fetal. Las células no tratadas son bastante más susceptibles a los efectos de los compuestos de control y de trilostano III. En conclusión, el trilostano III parece prohibir la formación de tubo de las células HUVEC.

Ejemplo 4: Efecto del danazol sobre la proliferación de células HUVEC

Protocolo:

Las HUVEC primarias y el medio de crecimiento EGM-2 se obtuvieron de Cambrex (Walkersville, MD). Las células se hicieron pasar a medio con suplemento de suero de ternera fetal al 2% (FCS) en matraces para el cultivo de tejidos a 37°C y CO₂ al 5%. El subcultivo se llevo a cabo utilizando tripsina cuando se obtuvo una confluencia de 60-80% tal como especifica el proveedor.

Las ampollas crioconservadas de células HUVEC del pase 2 se descongelaron y se cultivaron en placa en placas para el cultivo de tejidos de 96 pocillos a 5.000 células/cm². Se preparó una solución de partida de danazol 50 mM en etanol y el FCS del medio se incrementó hasta el 5% para mantener el danazol en solución. Las células se trataron con medio que contenía concentraciones finales de danazol que oscilaban de 0,1 a 100 µM por triplicado. Se llevaron a cabo incubaciones de 24, 48, y 72 horas y se determinó la proliferación celular utilizando un análisis Celltiter 96 AQueous One Solution Cell Proliferation de Promega (Madison, WI). En resumen, se aspiró el medio de cada pocillo y las células se lavaron con 200 µl de solución salina tamponada con Hepes (HBSS) de Cambrex templada a 37°C. Se añadieron 100 µl de solución de Celltiter diluida (15 µl solución de partida + 85 µl de EGM-2 que contenía FCS al 0,1%) a cada pocillo y se incubaron durante 4 horas más. Se determinó la densidad óptica por

medio de un lector de microplaca utilizando un filtro de 530 nm después de restar el blanco y los datos se presentaron como la $DO \pm$ la desviación típica. La concentración final de etanol en los pocillos fue menor de 0,2% y no tuvo efecto sobre la proliferación celular o la viabilidad.

- 5 Todos los datos se presentan como un experimento representativo realizado por triplicado. Las diferencias entre los subgrupos se analizaron utilizando el test de la t de Studnet en Microsoft Excel. $P < 0,05$ se consideró estadísticamente significativa.

Resultados, observaciones y discusión:

- 10 El cultivo de células endoteliales HUVEC primarias en presencia de danazol disminuyó la DO obtenida del análisis de proliferación Celltiter de Promega de una manera dependiente del tiempo y la dosis (Figura 4). El análisis Celltiter se basa en la reducción de la solución del análisis por enzimas deshidrogenasa a un colorante de formazano que se corresponde directamente con el número de células. El tratamiento con danazol a las 24 horas pareció ser eficaz a 15 dosis muy elevadas. Se observaron descensos significativos (valor de $p < 0,05$) en la DO del análisis a concentraciones de danazol de 10 μM o mayores. La DO detectada en los pocillos nulos fue de $0,414 \pm 0,06$ y el tratamiento con danazol 10 μM disminuyó la DO a $0,288 \pm 0,037$ mientras que a while 100 μM disminuyó a $0,162 \pm 0,017$, lo que equivale a porcentajes de inhibición de 30% y 65% respectivamente. A las 48 horas, la inhibición observada fue significativa incluso a niveles fisiológicos o a aproximadamente 1 μM . La lectura nula obtenida 20 después de 48 horas en el cultivo aumentó a $0,629 \pm 0,095$ y se redujo a $0,378 \pm 0,037$ con 1 μM , $0,241 \pm 0,012$ con 10 μM , y $0,19 \pm 0,033$ con 100 μM (o porcentajes de inhibición de 40%, 61%, y 70% respectivamente). Después de 72 horas, todos los tratamientos con danazol sometidos a ensayo mostraron una reducción significativa en la proliferación de las células HUVEC. La DO obtenida en los pocillos nulos fue de $1,113 \pm 0,054$ y después del tratamiento con 0,1 μM cayó a $0,798 \pm 0,037$, 1 μM a $0,484 \pm 0,022$, 10 μM a $0,229 \pm 0,016$, y 100 μM a $0,156 \pm 0,018$ (inhibiciones de 28%, 57%, 80%, y 86% respectivamente). El examen de la DO obtenida a partir de todas las 25 dosis de danazol 100 μM fueron coherentes en todos los momentos indicando una detención completa de la proliferación celular a esta concentración. En resumen, el danazol mostró una fuerte inhibición de la proliferación de las células endoteliales.

- 30 Ejemplo 5: Efecto de danazol sobre la angiogénesis de HUVEC: Formación de tubo

Protocolo:

- 35 Para investigar la formación de estructuras de tipo capilar por las células HUVEC, se adquirió Angiogenesis System: Endothelial Cell Tube Formation Assay de BD Biosciences (San Jose, CA) y se utilizó de acuerdo con el protocolo de los fabricantes. En resumen, se sembraron 100.000 células HUVEC sobre tapones de matrigel rehidratados en placas para el cultivo de tejidos de 96 pocillos en presencia de FCS al 5% para inducir la formación de tubo. Se añadió danazol a concentraciones finales de 1 μM , 10 μM , o 100 μM y se añadió LY294002 a 100 μM . Después de 40 18 horas los pocillos se fotografiaron utilizando una cámara digital Kodak DCS Pro SLR/N (Rochester, NY) montada en un microscopio invertido. Se incluyeron células tratadas con etanol para determinar si el vehículo tenía algún efecto sobre la diferenciación celular.

Resultados, observaciones y discusión:

- 45 Para dilucidar si el danazol puede evitar la formación de estructuras de tipo tubo por HUVEC, se utilizaron placas de 96 pocillos que contenían tapones de matrigel. Las células endoteliales cuando se cultivan en presencia de sustancias angiogénicas y se suministran con un armazón de matriz extracelular se diferenciarán en estructuras que se asemejen débilmente a vasos capilares. Las células HUVEC desarrolladas con danazol mostraron estructuras menos organizadas con interconexiones finas y menos definidas que los controles (véase la Figura 5, en la que A = control, B = danazol 1 μM , C = danazol 10 μM , D = danazol 50 μM , y E = LY294002 50 μM). El tratamiento con danazol 50 μM condujo a colonias aisladas de HUVEC localizadas en el tapón con muy pocas conexiones finas o 50 espacios de lumen del vaso. El efecto del danazol fue muy similar al compuesto de control positivo LY294002. Para garantizar que el vehículo utilizado no tuviera efecto, se trataron pocillos con etanol a concentraciones que correspondían a la dosis más alta de danazol utilizada y no se observó efecto sobre la formación de tubo (datos no mostrados). Estos datos indican que el danazol es un inhibidor eficaz de la formación de tubo. 55

Ejemplo 6: Efecto de danazol sobre la angiogénesis de HUVEC: Cámara de invasión

Protocolo:

- 60 Se adquirieron Cámaras de Invasión BioCoat Matrigel de BD Biosciences (San Jose, CA). Los insertos se rehidrataron a 37°C con 500 μl de HBSS durante 2 horas antes de su uso en la incubadora humidificada. Las células HUVEC tratadas con tripsina se lavaron dos veces con EGM-2 templado que contenía FCS al 0,1% y se añadieron a la cámara superior del inserto de invasión a 100.000 células en un volumen total de 250 μl . Se añadieron danazol y

compuestos de control al reservorio superior a concentraciones finales de 10 μM y 100 μM . Se añadieron 750 μl de EGM-2 con un suplemento de FCS al 5% a la cámara inferior para iniciar la invasión y las placas se incubaron durante 24 horas. Las células no invasivas se retiraron de la cámara superior con bastoncillos de algodón humedecidos y después los insertos se lavaron dos veces con HBSS. Los insertos se sumergieron a continuación en calceína AM 10 μM preparada en HBSS y se incubaron durante 4 horas. La fluorescencia se determinó en un lector de microplaca a 485 nm de excitación y 595 nm de emisión. LY294002 y el compuesto estructuralmente similar pero inactivo LY303511 sirvieron como controles positivos y negativos respectivamente para este experimento.

Resultados:

Los resultados se presentan en la Figura 6. Todos los datos se presentan como experimento representativo realizado por triplicado. Se analizaron las diferencias entre los subgrupos utilizando el test de la t de Student en Microsoft Excel. $P < 0,05$ se consideró estadísticamente significativa.

Se utilizaron insertos recubiertos con matrigel, porosos para determinar si el danazol puede interferir en la invasión o la migración de células endoteliales (Figura 6). En el sistema utilizado para el estudio de los autores de la presente invención, se detectó un incremento significativo en las células por medio de coloración fluorescente después de la adición de FCS a la cámara opuesta a las células endoteliales ($5674 \text{ UF} \pm 77$ a 7143 ± 516). El danazol a concentraciones de 10 μM y 100 μM no tuvo efecto, mientras LY294002 mostró una atenuación casi completa de la invasión celular (5814 ± 153). Estos datos indican que los factores presentes en el FCS inducen la producción de proteasas que digieren la matriz extracelular por las células HUVEC seguido de migración junto con un gradiente quimiotáctico. El danazol no tiene un efecto inhibitor aparente sobre la invasión o la migración de las células HUVEC en este modelo.

REIVINDICACIONES

- 5 1. El uso de danazol o una sal o éster farmacológicamente aceptable para su uso en el tratamiento de una enfermedad o afección angiogénica del ojo, en donde el danazol o una sal o éster farmacológicamente aceptable se administra tópicamente en el ojo.
2. El uso de acuerdo con la Reivindicación 1, en donde la enfermedad o afección es la degeneración macular.
- 10 3. El uso de acuerdo con la Reivindicación 1, en donde la enfermedad o afección es la neovascularization debida a una lesión o tumor ocular.
4. El uso de acuerdo con la Reivindicación 1, en donde la enfermedad o afección es el glaucoma neovascular, la retinopatía del prematuro, la retinopatía drepanocítica o la retinopatía inducida por oxígeno.
- 15 5. El uso de acuerdo con la Reivindicación 1, en donde la enfermedad o afección es la retinopatía diabética.
6. Una composición farmacéutica para su uso en el tratamiento de una enfermedad o afección angiogénica del ojo que comprende danazol o una de sus sales o ésteres farmacológicamente aceptables, en donde la composición se administra por vía tópica en el ojo.
- 20 7. La composición para su uso de acuerdo con la Reivindicación 6, en donde la composición es una pomada, un gel o un hidrogel.
- 25 8. La composición para su uso de acuerdo con la Reivindicación 6, en donde la composición es una gota ocular.

Figura 1

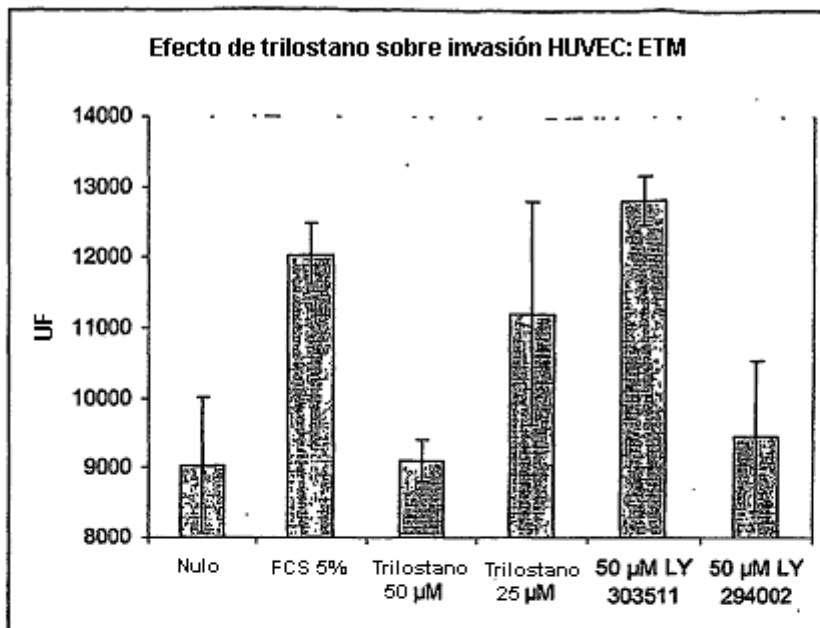


Figura 2

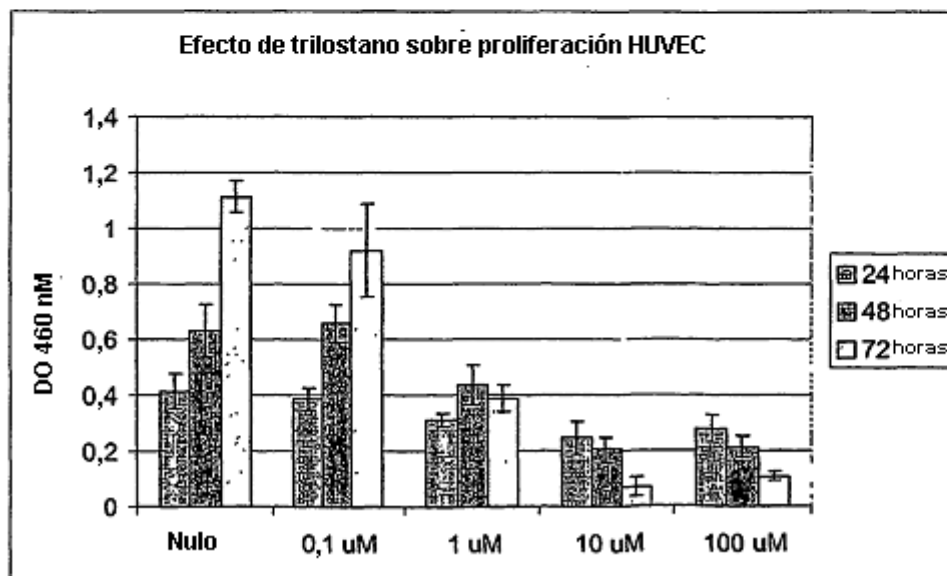


Figura 3

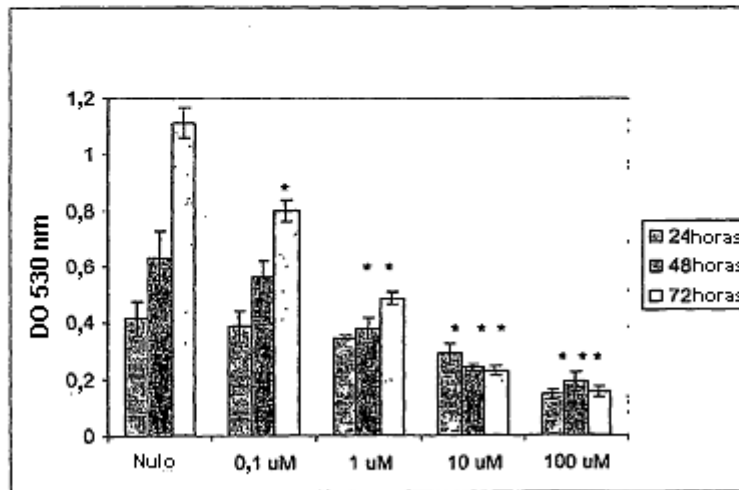
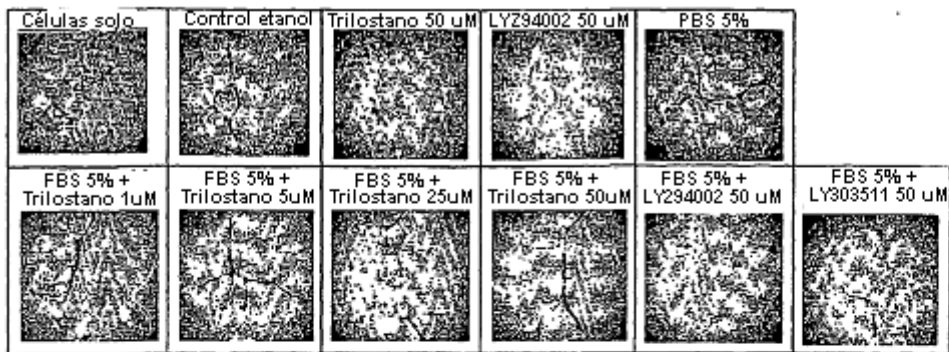


FIGURA 4



FIGURA 5

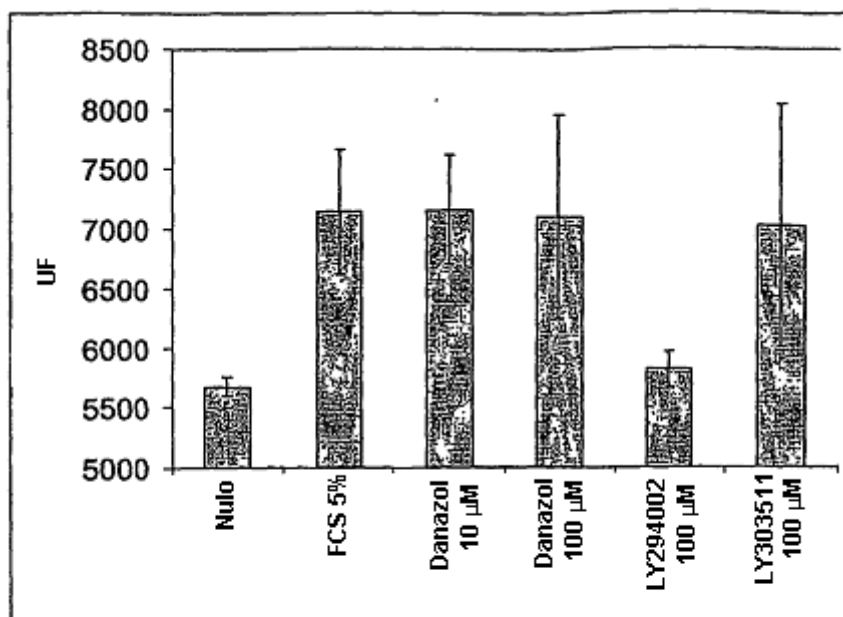


FIGURA 6