

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 568 941**

51 Int. Cl.:

C07J 1/00 (2006.01)

C07J 41/00 (2006.01)

A61K 31/565 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **30.11.2010 E 10834033 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **30.03.2016 EP 2507253**

54 Título: **Derivados de estradiol sustituidos en la posición 6 y métodos de uso**

30 Prioridad:

30.11.2009 US 627874

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

05.05.2016

73 Titular/es:

**ENDECE, LLC (100.0%)
1001 West Glen Oaks Lane Suite 105b
Mequon WI 53092, US**

72 Inventor/es:

YARGER, JAMES G.

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

ES 2 568 941 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

Derivados de estradiol sustituidos en la posición 6 y métodos de uso

5 Campo de la invención

La presente invención se refiere a composiciones y métodos de preparación y uso de compuestos de estradiol sustituidos en la posición 6 y a sus sales farmacéuticamente aceptables como se señalan y describen en el presente documento. La presente invención también se refiere a composiciones farmacéuticas que comprenden tales compuestos, presentes tanto *in vitro* como *in vivo*, para tanto aplicaciones de diagnóstico como también el tratamiento de afecciones proliferativas, tales como cáncer.

Antecedentes de la invención

15 Los trastornos proliferativos de células tales como tumores y tumores malignos primarios {aquí, cáncer(es)} en particular son problemáticos dada su tendencia a invadir los tejidos de alrededor y metastatizar a órganos distantes en el cuerpo. Hasta la fecha, los métodos más frecuentemente usados para tratar neoplasia, especialmente formas de tumor sólido de neoplasia, incluyen procedimientos quirúrgicos, radioterapia, quimioterapias con fármacos, y combinaciones de los anteriores.

20 Con más de un millón de casos de cáncer que se diagnostican anualmente, y el cáncer que se lleva más de medio millón de vidas en los Estados Unidos cada año, hay una elevada necesidad de nuevas modalidades terapéuticas contra tal afección. Los cánceres de próstata, pulmón y colorrectal siguen siendo los cánceres más comunes entre los hombres; mientras que los de mama, colorrectal y de pulmón son los cánceres más comunes entre las mujeres.

25 En los últimos años ha habido un aumento significativo en el tratamiento de estas afecciones. Al menos una de las historias de éxito en la gestión clínica de un cáncer es el diagnóstico temprano y las opciones de tratamiento ahora disponibles para el cáncer de mama primario. La otra es el empleo de agentes antiestrogénicos eficaces y no tóxicos que bloquean las acciones del estrógeno tanto en sus sitios de receptor como en un punto de su síntesis.

30 Obviamente, la investigación de la función y actividad de los receptores de estrógeno, la estructura y su función ha sido objeto de muchas investigaciones recientes. Los receptores de estrógeno pertenecen a una gran familia de factores de transcripción inducibles por ligando estructuralmente relacionados, que incluyen receptores de esteroides, receptores de tiroides/retinoides, receptores de vitamina D conocidos como receptores nucleares. Aunque no se ha descrito el ligando verdadero para los receptores nucleares, hay distintas moléculas pequeñas que son capaces de unirse a tales receptores y desencadenar una respuesta celular.

35 Los estrógenos y los moduladores de receptores de estrógeno se unen a receptores de estrógeno, clasificados en dos tipos; α y β , para formar complejos moleculares discretos que ejercen efectos pleiotrópicos específicos de tejido que modulan la expresión de genes diana. El receptor de estrógeno unido a ligando actúa de factor de transcripción clave en diversas vías moleculares, y la modulación de los niveles de expresión de ER es importante en la determinación del potencial de crecimiento celular.

40 Aunque ambos de estos tipos de receptores se unen a estrógeno, además de otros agonistas y antagonistas, los dos receptores tienen concentración de localización claramente diferente dentro del cuerpo. Aparte de algunas diferencias estructurales entre los tipos α y β , cuando se complejan con estrógeno, los dos mostraron señalar en forma opuesta, activando el estrógeno la transcripción en presencia del receptor de estrógeno α (ER α) e inhibiendo la transcripción en presencia del receptor de estrógeno β (ER β).

45 El tamoxifeno es principalmente uno de los primeros moduladores selectivos de receptores de estrógeno que se ha convertido en terapia de primera línea para el tratamiento hormonal de cáncer de mama, tanto para el tratamiento complementario como para la terapia de enfermedad metastásica. El tamoxifeno es un inhibidor competitivo del estradiol que se une al receptor de estrógeno inhibiendo la unión del estrógeno al elemento de unión al estrógeno sobre el ADN. Se ha sugerido que la unión del tamoxifeno a los receptores de estrógeno altera significativamente la configuración estructural de los receptores de estrógeno, convirtiendo los sitios de unión en deficientes hacia cualquier estrógeno endógeno. Tal deformación estructural del receptor podría explicar el profundo perfil de efectos secundarios asociado al uso de tamoxifeno.

50 Al menos otro defecto del tamoxifeno es su ineficacia contra tumores dependientes no de estrógeno y eficacia en mujeres pre-menopáusicas. Adicionalmente, el tamoxifeno se somete a isomerización bajo condiciones fisiológicas de un compuesto antiestrogénico terapéuticamente útil dando un isómero estrogénico que puede estimular el crecimiento de células tumorales dependientes de estrógeno proporcionando un desenlace clínico no deseado, particularmente entre pacientes que padecen tumores dependientes de estrógeno.

55 La patente de Estados Unidos n.º 4.732.904 desvela otro tipo de antagonistas de receptores de estrógeno convencionalmente conocidos como compuestos de hidrazona. Se cree que estos compuestos de hidrazona

antiestrogénicos no se someten a isomerización dando compuestos estrogénicos bajo condiciones fisiológicas y los efectos secundarios estrogénicos observados para el tamoxifeno están, por tanto, ausentes. Estos compuestos de hidrazona se han propuesto como tratamientos alternativos para los cánceres de mama dependientes de estrógenos. Entre éstos, se describen las benzofenona-nitrofenil hidrazonas sustituidas, tales como 4,4'-dihidroxibenzofenona-2,4-dinitrofenilhidrazona, por ser superiores.

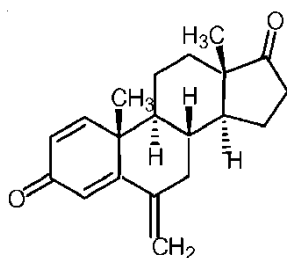
El complejo del receptor y el antiestrógeno tal como los compuestos basados en hidrazona o tamoxifeno puede entonces unirse a cromatina nuclear de una manera atípica durante un tiempo más largo que el complejo de receptor de hormona normal. Los antiestrógenos también pueden ser capaces de agotar el citoplasma de receptor libre. Cualquiera o ambos de estos efectos alteraría gravemente el crecimiento continuado de un tumor dependiente de estrógenos.

También ha habido un elevado interés en el uso de inhibidores de la aromatasa para bloquear específicamente la producción local de estrógenos que puede contribuir sustancialmente a enfermedad sensible a hormonas tal como cáncer de mama. La aromatasa (CYP19) se describe como la principal enzima que convierte andrógenos en estrógenos tanto en mujeres pre- como post-menopáusicas. La privación de estrógenos mediante la inhibición de la aromatasa se describe como un tratamiento eficaz y selectivo para algunos pacientes post-menopáusicos con cáncer de mama dependiente de hormonas.

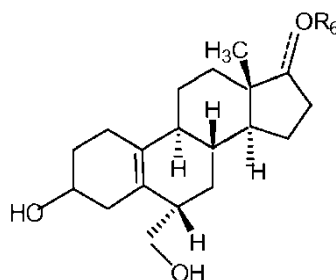
El exemestano (que se comercializa como Aromasin) se describe químicamente como 6-metilenandrosta-1,4-dieno-3,17-diona) y actúa de inactivador esteroideo irreversible de la aromatasa. Se cree que actúa de falso sustrato para la enzima aromatasa, y se procesa en un producto intermedio que se une irreversiblemente al sitio activo de la enzima causando su inactivación. Las patentes de EE.UU. n.º 4.808.616, y 4.904.650 desvelan derivados de 6-alkuilenandrosta-1,4-dieno-3,17-diona, tales como exemestano, y métodos de su preparación. La patente de Estados Unidos n.º 4.876.045 desvela un método de preparación de derivados de 6-metileno de androsta-1,4-dieno-3,17-dionas. La patente de Estados Unidos n.º 4.990.635 desvela un proceso de preparación de derivados de 6-metileno de androsta-1,4-dieno-3,17-dionas.

La preparación de productos intermedios que pueden ser útiles en preparar exemestano se desvela en la patente de Estados Unidos n.º 3.274.176. En la patente alemana DD 258820, la 6-hidroximetil-androsta-1,4-dieno-3,17-diona se prepara a partir de androsta-1,4-dieno-3,17-diona mediante 1,3-dipirrolidinoandrosta-3,5-dien-17-ona.

La solicitud de patente internacional en tramitación junto con la presente n.º PCT/US2005/001248 presentada el 14 de enero de 2005 (publicación PCT número WO 2005/070951) también describe la preparación de productos intermedios que son útiles en la preparación de exemestano. La estructura del exemestano se muestra a continuación.



Schneider et al., en "Course of the reaction of steroidal 3,5-dienamines with formaldehyde", Helvetica Chimica Acta (1973), 56(7), 2396-2404, desvela los siguientes compuestos:



en los que el símbolo \equiv representa un doble enlace, significa un grupo ceto y no está presente R_6 ; y en los que el símbolo --- representa un enlace sencillo R_6 es hidrógeno (es decir, un alcohol grupo). A diferencia de los compuestos de la presente invención, los compuestos de Schneider no engloban estradiol, testosterona o variaciones de dihidrotestosterona.

Un derivado sustituido con tri-hidroxilo de estranos se desvela en la patente de Estados Unidos n.º 3.377.363 a Tadanier et Al., y no se desvela el sustituyente de 3-hidroxi sobre el anillo aromático de los presentes compuestos.

5 La patente de Estados Unidos n.º 5.914.324 a De Funari et al., desvela derivados de 6-hidroxi y oxiandrostano para hipertensión e insuficiencia cardíaca. La patente de Estados Unidos 6.384.250 a Gobbini et al. desvela los sustituyentes de hidroxilo y cetona en la posición 6 en la preparación de (E,Z) 3-(2-aminoetoxiimino)-androstano-6,17-diona. Estos compuestos se dirigieron hacia el tratamiento de insuficiencia cardíaca. No se desvelan los efectos de la sustitución de alquilhidroxilo en la posición 6.

10 Tanenbaum et al., "Crystallographic comparison of the estrogen and progesterone receptor's ligand binding domains", Proc. Natl. Acad. Sci. USA, Biochemical, Vol. 95, pp 5998-6003, desvela el mecanismo de receptores de ER e indica que el estradiol que contiene un anillo aromático con un sustituyente de 3-hidroxi se une bien con la región de unión a ligando de ER. Se desvela que un grupo aromático plano sin el sustituyente de 19-metilo está favorecido.

15 La patente de Estados Unidos 5.892.069 a D'Amato describe derivados de estradiol que inhiben la polimerización de tubulina durante la mitosis celular. Dado lo anterior, existe todavía la necesidad de identificar agentes nuevos y eficaces para tratar cáncer.

20 Otra preocupación en el campo es la eventual conversión de algunos cánceres dependientes de estrógenos, es decir, cáncer de mama, a tipos independientes de estrógenos. Esto puede representarse por una pérdida natural de diferenciación por las células tumorales. Se ha observado que las células cancerosas dependientes de estrógenos pierden frecuentemente con el tiempo su capacidad para producir receptores de proteína de unión a estrógenos y degeneran en cánceres potencialmente mortales independientes de estrógenos mucho más agresivos. De hecho, el uso de antiestrógenos para tratar tumores dependientes de estrógenos puede conducir a la selección clonal de células tumorales independientes de estrógenos y, por tanto, puede promover la conversión de un cáncer dependiente de estrógenos a un cáncer no dependiente de estrógenos.

30 Los cánceres de otros órganos, tales como pulmón y colon, puede no afectar los receptores de proteína de unión a estrógenos y así se consideran independientes de estrógenos para la replicación celular. Tales tumores independientes de estrógenos no son tan susceptibles a las propiedades antiestrogénicas de fármacos tales como tamoxifeno, inhibidores de la aromataasa. Así, deben usarse otros agentes quimioterapéuticos para tratar tales tumores. Se han documentado muchos compuestos por ser eficaces a grados variables contra tumores independientes de estrógenos.

35 Estos compuestos se revisan en muchas referencias y normalmente se administran en quimioterapia de pauta de combinación causando un efecto secundario sustancial a los pacientes. El principio de uso subyacente de agentes citotóxicos generales en quimioterapia se basa en la observación de que células tumorales malignas se replican a una mayor tasa que las células normales del cuerpo y son, por tanto, correspondientemente más susceptibles a estos compuestos. Similarmente, los tejidos normales que proliferan rápidamente (por ejemplo, médula ósea y epitelio intestinal) se someten a daño sustancial una vez se exponen a estos potentes fármacos citotóxicos, y tal toxicidad frecuentemente limita la utilidad.

45 Por otra parte, los tumores de crecimiento lento con una pequeña fracción de crecimiento, por ejemplo, carcinomas de colon o pulmón, son frecuentemente insensibles a fármacos citotóxicos. Aparte del tratamiento de tumores dependientes de estrógenos e independientes de estrógenos, muchos de los fármacos citotóxicos que están siendo usados actualmente para otras enfermedades proliferativas con células que crecen rápidamente implicaron afecciones hiperproliferativas no cancerosas o no malignas.

50 También el aumento de importancia del tratamiento terapéutico eficaz de enfermedades virales tales como el SIDA, herpes, diversos tipos de hepatitis e infecciones bacterianas, especialmente entre pacientes inmunodeprimidos, exige modos alternativos de terapia con perfil de efectos secundarios favorable.

55 Por consiguiente, no existe solo una necesidad de quimioterapéuticos para el cáncer nuevos y mejorados que puedan usarse para tratar tanto tumores dependientes de estrógenos como independientes de estrógenos con riesgo mínimo de toxicidad sistémica desafiando la calidad de vida para tal frágil población de pacientes, sino también de remedios terapéuticos que se dirigen a afecciones hiperproliferativas no cancerosas que pueden beneficiarse de dosis eficaces de derivados de estradiol. Las células hiperproliferativas pueden ser células normales o células anormales que crecen rápidamente y pueden incluir tejido que tiene células endógenas que crecen rápidamente o su subpoblación anormal, u otros tejidos generalmente exógenos al paciente.

60 Ninguna de las enseñanzas del estado de la técnica proporciona un derivado de estradiol terapéutico con perfil de efectos secundarios favorable que pueda usarse para estos tipos de afecciones.

65

Sumario de la invención

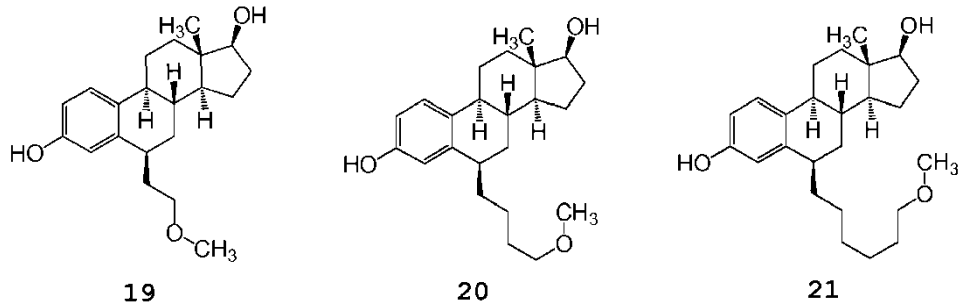
En vista de lo anterior, la presente invención se dirige hacia compuestos quimioterapéuticos y composiciones, venciendo así diversas deficiencias y limitaciones del estado de la técnica, que incluyen aquellas brevemente expuestas anteriormente. Por consiguiente, es un objetivo de la presente invención proporcionar compuestos útiles en el tratamiento de afecciones y tumores dependientes de estrógenos que proporcionen una mejor tolerancia, pronóstico y cumplimiento del paciente.

Otro objetivo de la presente invención es proporcionar compuestos para el tratamiento de tumores independientes de estrógenos con compuestos que tienen sustancialmente menos efectos secundarios que aquellos actualmente disponibles para los pacientes.

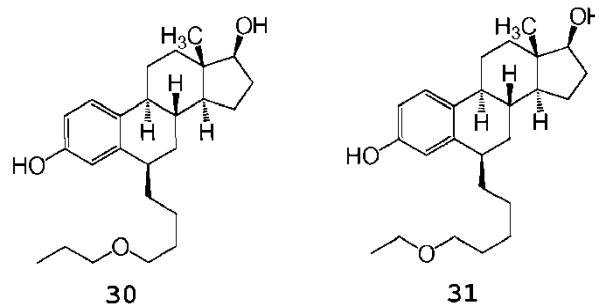
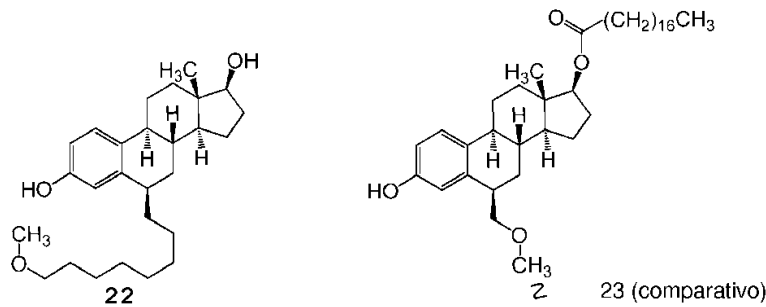
Otro objetivo más de la presente invención es proporcionar compuestos y modos alternativos de tratamiento de tejidos aquejados con afecciones hiperproliferativas, que incluyen infecciones virales y bacterianas.

La presente divulgación proporciona compuestos según la fórmula IV.

Ejemplos específicos de compuestos de la invención se muestran a continuación:

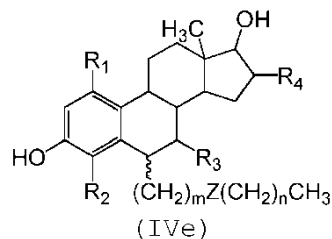



20



25

La presente invención se refiere a un compuesto de fórmula IVe:



en la que R1, R2, R3 y R4 son hidrógeno; m es un número entero de 2 - 8; n es un número entero de 0 - 3 y Z es -O-. Además de esto, tanto el metilo en C-13 como el hidroxilo en C-17 están en configuración (S). En la fórmula IVe, el símbolo  representa cualquier tipo de enlace independientemente de la estereoquímica; y los hidratos respectivos, solvatos y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

5 Los compuestos de la presente invención pueden usarse para tratar cualquier tumor que pueda ser tanto directamente como indirectamente afectado por actividad hormonal y/o relacionada con los estrógenos, que incluye, pero de ningún modo se limita a, tumores sólidos asociados a mama, cánceres pancreáticos, de pulmón, colon, próstata, de ovarios, además de cáncer de cerebro, hígado, bazo, riñón, ganglios linfáticos, intestino delgado, glóbulos sanguíneos, hueso, estómago, endometrio, testicular, ovario, sistema nervioso central, piel, cabeza y cuello, esófago, o de médula ósea; además de cánceres hematológicos, tales como leucemia, leucemia promielocítica aguda, linfoma, mieloma múltiple, mielodisplasia, enfermedad mieloproliferativa, o anemia resistente al tratamiento.

15 Los compuestos de la presente invención también pueden usarse en tratamientos para el cáncer terapéuticos basados en combinación en un sujeto mamífero. Tales métodos pueden comprender la administración de un compuesto de fórmula (IVe) en combinación con otras terapias para el cáncer complementarias, tales como quimioterapia, radioterapia, terapia génica, terapia hormonal y otras terapias para el cáncer conocidas en la técnica.

20 Cualquiera de los compuestos de la presente invención puede contemplarse para administración al sujeto mamífero en forma de un fármaco. En la presente divulgación, el término "administrar" debe englobar el tratamiento de las diversas afecciones descritas con el compuesto específicamente desvelado.

25 Otros objetivos, características, beneficios y ventajas de la presente invención serán evidentes a partir de este resumen y las siguientes descripciones de ciertas realizaciones, y serán rápidamente evidentes para aquellos expertos en la materia que tienen conocimiento de diversos compuestos quimioterapéuticos, métodos y/o modos de operación.

30 Descripción detallada de la invención

A menos que se defina de otro modo, todos los términos técnicos y científicos usados en el presente documento tienen el mismo significado que comúnmente es entendido por un experto en la materia a la que pertenece la presente invención y debe entenderse que tienen los significados descritos a continuación. A menos que se especifique de otro modo, una referencia a un compuesto particular incluye todas aquellas formas isoméricas, que incluyen mezclas racémicas y otras mezclas de las mismas. A menos que se especifique de otro modo, una referencia a un compuesto particular también incluye iónicos, sal, solvato (por ejemplo, hidrato), por ejemplo, como se trata en el presente documento.

40 Puede ser conveniente o deseable preparar, purificar y/o manipular una sal correspondiente del compuesto activo, por ejemplo, una sal farmacéuticamente aceptable. Ejemplos de sales farmacéuticamente aceptables se tratan en Berge et al., 1977, "Pharmaceutically Acceptable Salts", J. Pharm. Sci., Vol. 66, pp. 1-19, y se tratan en el presente documento.

45 Los compuestos antiproliferativos de la presente invención tienen aplicación en el tratamiento de cáncer, y así la presente invención proporciona además agentes antineoplásicos. El término "agente antineoplásico", como se usa en el presente documento, se refiere a un compuesto que trata, retarda la progresión, prolonga el periodo de recaída de y controla los síntomas de un cáncer (es decir, un compuesto que es útil en el tratamiento de un cáncer). El efecto anticancerígeno puede surgir mediante uno o más mecanismos, que incluyen, pero no se limitan a, la regulación de la proliferación celular, la inhibición de la angiogénesis (formación de nuevos vasos sanguíneos), la inhibición de metástasis (la diseminación de un tumor desde su origen), la inhibición de invasión (la diseminación de células tumorales en estructuras normales vecinas), o la promoción de apoptosis (muerte celular programada), o necrosis tumoral o autofagia tumoral o cualquier combinaciones de los mismos.

50 La invención proporciona además compuestos activos para su uso en un método de tratamiento del cuerpo humano o animal por terapia. Un método tal puede comprender administrar a un sujeto tal una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto activo, preferentemente en forma de una composición farmacéutica como se trata adicionalmente en el presente documento.

60 El término "estrógeno", como se usa en el presente documento, engloba hormonas similares a esteroides que son naturalmente producidas y es capaz de cruzar la membrana celular para ejercer su actividad dentro de la célula uniéndose a los receptores de estrógeno. Ejemplo de tales compuestos incluyen, pero no se limitan a, estradioles, estroles y esterenos.

65 El término "tratamiento" o "terapia", como se usa en el presente documento en el contexto de tratar una afección, se refiere generalmente al tratamiento y terapia de un sujeto mamífero, tanto de un ser humano como de un animal no humano (por ejemplo, en aplicaciones veterinarias), en las que se logra algún efecto terapéutico deseado, por

ejemplo, la inhibición del progreso de la afección, e incluye una reducción en la tasa de progreso, una detención en la tasa de progreso, mejora de la afección y/o cura de la afección. También se incluye tratamiento como medida profiláctica. El tratamiento incluye tratamientos de combinación y terapias, en el que dos o más tratamientos o terapias se combinan, por ejemplo, secuencialmente o simultáneamente. Ejemplos de tratamientos y terapias incluyen, pero no se limitan a, quimioterapia (la administración de agentes activos, que incluyen, por ejemplo, fármacos, anticuerpos (por ejemplo, como en inmunoterapia); cirugía; radioterapia; y terapia génica.

El término "isómero estereoquímico", como se usa en el presente documento, se refiere a isómeros que se diferencian entre sí solo en la forma en la que los átomos están orientados en el espacio. Los dos estereoisómeros particularmente de importancia en la presente invención son enantiómeros y diaestereómeros dependiendo de si los dos isómeros son o no imágenes especulares entre sí. En la realización preferida, las formulaciones reivindicadas comprenden tales compuestos que se aislaron, resolvieron y están "sustancialmente libres de otros isómeros".

El término "cantidad terapéuticamente eficaz", como se usa en el presente documento, se refiere a esa cantidad de un compuesto activo, o un material, composición o forma de dosificación, que comprende un compuesto activo, que es eficaz para producir algún efecto terapéutico deseado, proporcional a una relación beneficio/riesgo razonable.

El término "paciente" se refiere a animales, que incluyen mamíferos, preferentemente seres humanos.

El término "región de un paciente" se refiere a un área particular o porción del paciente aquejado con un trastorno proliferativo, cáncer o tumor, y en algunos casos a regiones en todo el paciente entero. A modo de ejemplo de tales regiones son la región pulmonar, la región gastrointestinal, la región de la mama, la región renal, además de otras regiones corporales, tejidos, linfocitos, receptores, órganos y similares, que incluyen la vasculatura y aparato circulatorio, y tejido canceroso. "Región de un paciente" incluye, por ejemplo, regiones que van a tratarse con los compuestos desvelados y composiciones. La "región de un paciente" es preferentemente interna, aunque puede ser externa.

El término "tejido" se refiere generalmente a células especializadas que pueden realizar una función particular. El término "tejido" puede referirse a una célula individual o una pluralidad o agregado de células, por ejemplo, membranas, sangre u órganos. El término "tejido" también incluye referencia a una célula anormal o una pluralidad de células anormales. Tejidos a modo de ejemplo incluyen tejido de mama, que incluye células de mama, tejidos membranosos, que incluyen endotelio y epitelio, láminas, tejido conjuntivo, que incluye tejido intersticial, y tumores.

El término "trastornos proliferativos de células", como se usa en el presente documento, se refiere a trastornos tales como tumores, tumores malignos primarios y otras afecciones hiperproliferativas. Los términos "tumor(es) maligno(s) primario(s)" y "cáncer(es)" se usan indistintamente.

Compuestos

La presente invención se refiere a derivados de estradiol de fórmula (IVe) con modificaciones específicas en la posición 6 del anillo B del estradiol.

Pueden usarse compuestos de la realización de la presente invención en una composición farmacéutica. Una composición tal puede comprender uno o más compuestos seleccionados de aquellos tratados anteriormente, ilustrados más adelante o citados de otro modo en el presente documento, y combinaciones de los mismos. En ciertas realizaciones, una composición tal puede comprender un componente de vehículo farmacéuticamente aceptable. Sin limitación, una composición tal puede comprender una mezcla racémica de compuestos. En ciertas realizaciones, un compuesto tal puede estar presente como el enantiómero S y R, preferentemente su forma aislada y purificada que está sustancialmente libre de otros isómeros

Los compuestos desvelados en el presente documento pueden tener centros asimétricos y pueden producirse como un racemato, una mezcla racémica o como diaestereómeros o enantiómeros individuales y purificados tales como (nombrados mediante ChemDraw Ultra, versión 11,0(3) o 12,0) (6S,8R,9S,13S,14S)-6-(metoximetil)-13-metil-7,8,9,11,12,13,14,15,16,17-decahidro-6H-ciclopenta[a]fenantreno-3,17-diol (compuesto comparativo 3); (6R,8R,9S,13S,14S)-6-(metoximetil)-13-metil-7,8,9,11,12,13,14,15,16,17-decahidro-6H-ciclopenta[a]fenantreno-3,17-diol (compuesto comparativo 4); (6R,8R,9S,13S,14S)-6-((aminooxi)metil)-13-metil-7,8,9,11,12,13,14,15,16,17-decahidro-6H-ciclopenta[a]fenantreno-3,17-diol (compuesto comparativo 10); (6S,8R,9S,13S,14S)-6-((aminooxi)metil)-13-metil-7,8,9,11,12,13,14,15,16,17-decahidro-6H-ciclopenta[a]fenantreno-3,17-diol (compuesto comparativo 11); (6R,8R,9S,13S,14S)-6-((aminooxi)metil)-17-hidroxi-13-metil-6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17-dodecahidro-3H-ciclopenta[a]fenantren-3-ona (compuesto comparativo 12); (6S,8R,9S,13S,14S)-6-((aminooxi)metil)-17-hidroxi-13-metil-6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17-dodecahidro-3H-ciclopenta[a]fenantren-3-ona (compuesto comparativo 13); (6R,8R,9S,13S,14S)-6-(((metoximetil)amino)metil)-13-metil-7,8,9,11,12,13,14,15,16,17-decahidro-6H-ciclopenta[a]fenantreno-3,17-diol (compuesto comparativo 14); (6S,8R,9S,13S,14S)-6-(((metoximetil)amino)metil)-13-metil-7,8,9,11,12,13,14,15,16,17-decahidro-6H-ciclopenta[a]fenantreno-3,17-diol (compuesto comparativo 15); 1-(((6R,8R,9S,13S,14S)-3,17-dihidroxi-13-metil-7,8,9,11,12,13,14,15,16,17-decahidro-6H-ciclopenta[a]fenantren-6-il)metil)amino)propan-2-ona (compuesto comparativo 16); 1-(((6S,8R,9S,13S,14S)-

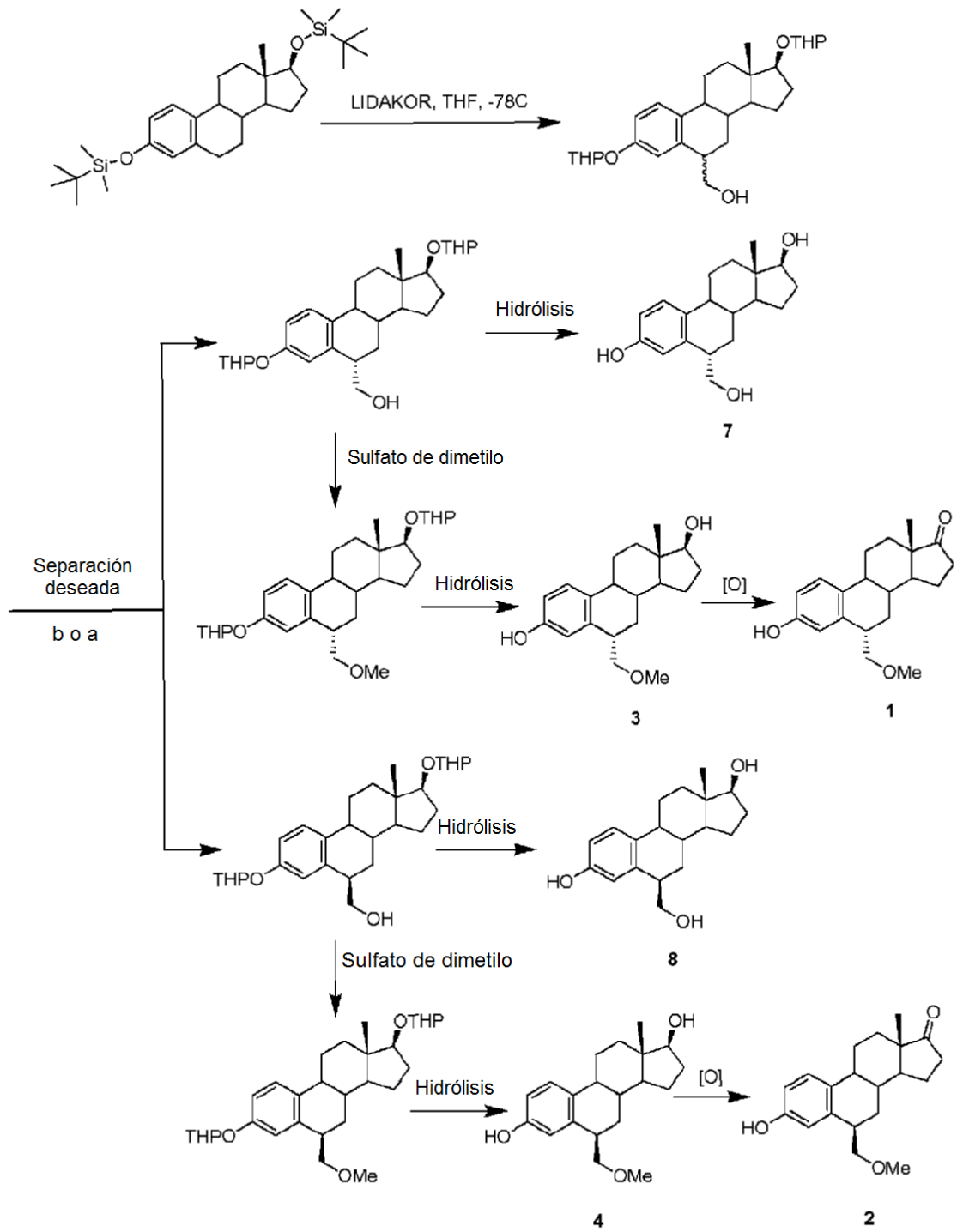
3,17-dihidroxi-13-metil-7,8,9,11,12,13,14,15,16,17-decahidro-6*H*-ciclopenta[a]fenantren-6-il)metil)amino)propan-2-ona (compuesto comparativo **17**); (6*R*,8*R*,9*S*,13*S*,14*S*)-6-metoxi-13-metil-7,8,9,11,12,13,14,15,16,17-decahidro-6*H*-ciclopenta[a]fenantreno-3,17-diol (compuesto comparativo **18**); (6*S*,8*R*,9*S*,13*S*,14*S*)-6-(2-metoxietil)-13-metil-7,8,9,11,12,13,14,15,16,17-decahidro-6*H*-ciclopenta[a]fenantreno-3,17-diol (compuesto **19**); (6*R*,8*R*,9*S*,13*S*,14*S*)-6-(4-metoxibutil)-13-metil-7,8,9,11,12,13,14,15,16,17-decahidro-6*H*-ciclopenta[a]fenantreno-3,17-diol (compuesto **20**); (6*R*,8*R*,9*S*,13*S*,14*S*)-6-(6-metoxihexil)-13-metil-7,8,9,11,12,13,14,15,16,17-decahidro-6*H*-ciclopenta[a]fenantreno-3,17-diol (compuesto **21**); (6*R*,8*R*,9*S*,13*S*,14*S*)-6-(6-metoxioctil)-13-metil-7,8,9,11,12,13,14,15,16,17-decahidro-6*H*-ciclopenta[a]fenantreno-3,17-diol (compuesto **22**); estearato de (6*R*,8*R*,9*S*,13*S*,14*S*)-3-hidroxi-6-(metoximetil)-13-metil-7,8,9,11,12,13,14,15,16,17-decahidro-6*H*-ciclopenta[a]fenantren-17-ilo (compuesto comparativo **23**); (6*R*,8*R*,9*S*,13*S*,14*S*)-13-metil-6-(4-propoxibutil)-7,8,9,11,12,13,14,15,16,17-decahidro-6*H*-ciclopenta[a]fenantreno-3,17-diol (compuesto **30**); y (6*R*,8*R*,9*S*,13*S*,14*S*)-13-metil-6-(5-etoxipentil)-7,8,9,11,12,13,14,15,16,17-decahidro-6*H*-ciclopenta[a]fenantreno-3,17-diol (compuesto **31**).

La presente divulgación se refiere a la preparación de los enantiómeros R o S, y/o diaestereómeros R o S de estradiolos sustituidos en la posición 6. Métodos para la preparación (por ejemplo, síntesis asimétrica) y separación (por ejemplo, cristalización fraccionada y medios cromatográficos) de tales formas isoméricas son tanto generalmente conocidos en la técnica como se obtienen fácilmente adaptando los métodos enseñados en el presente documento. Tales metodologías se describen, por ejemplo, en la solicitud de EE.UU. en tramitación junto con la presente USSN 11/541, 987.

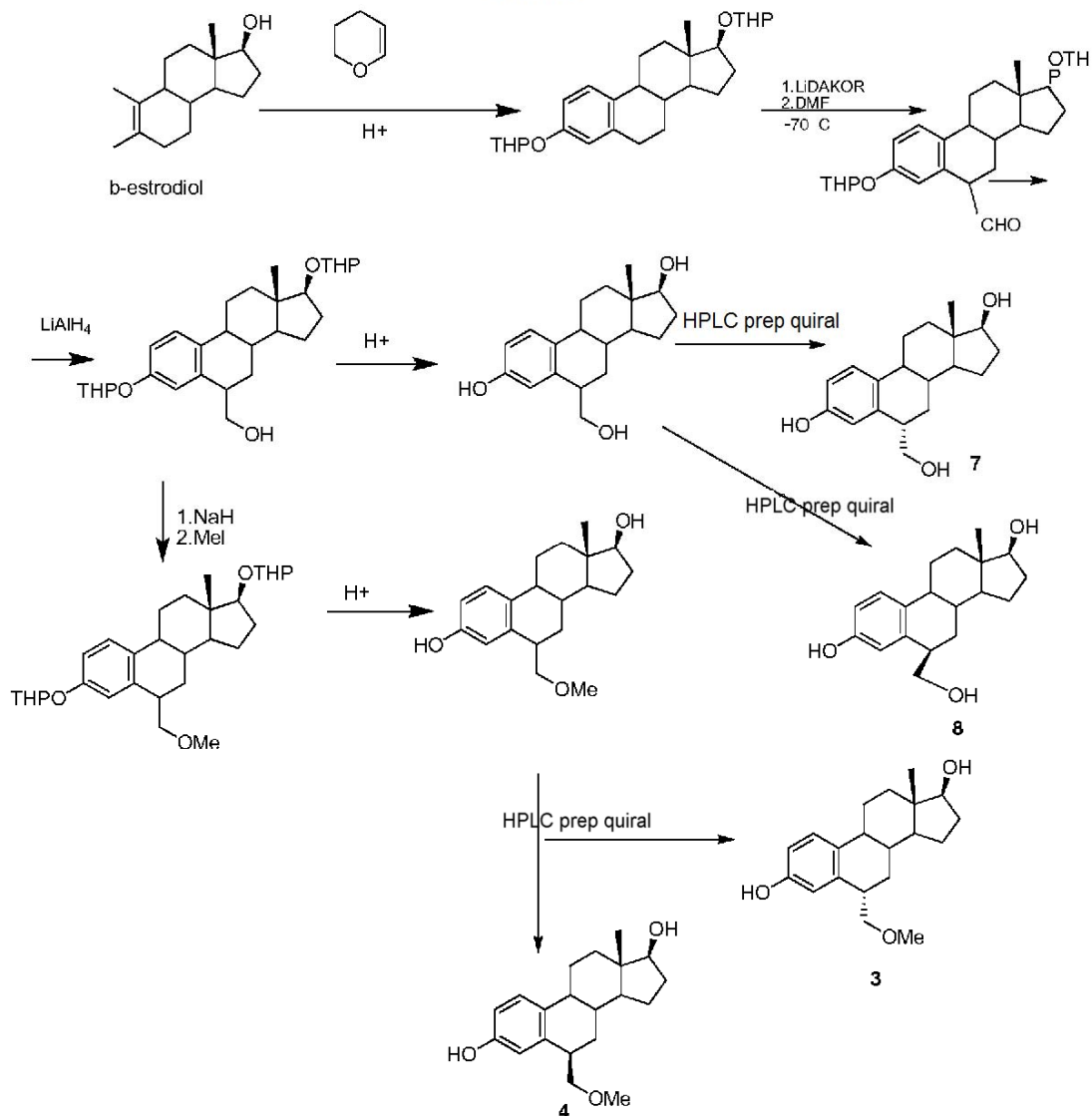
A modo de ilustración, un método de preparación de derivados de 6-hidroximetilo, 6-alcoxialquilo, 6-alquiltioalquilo, 6-aminometoxi, 6-metilaminometoxi o de 6-metoxiamina de estradiol se desvela en el presente documento. Los esquemas de reacción para preparar derivados de estradiol se facilitan a continuación, Esquemas 1-3. Tales métodos pueden comprender reacción de un derivado de t-butildimetilsililo de estradiol con LIDAKOR/THF/formaldehído para obtener un compuesto 6-hidroxilado, seguido de etapas tales como: (i) hidrólisis para obtener el derivado de 6-hidroximetilo de estradiol; y/o (ii) tratamiento con sulfato de dimetilo, seguido de hidrólisis para obtener el derivado de 6-metiloximetilo de estradiol. NDC-1088 puede obtenerse por oxidación adicional de NDC-1033 en la posición de hidroxilo C-17.

En un enfoque alternativo, los esteroides aromáticos sustituidos en la posición 6 relacionados con aquellos de la presente invención también pueden prepararse por un método que comprende etapas tales como: (i) proteger un compuesto de estradiol, (ii) acilar el compuesto de estradiol protegido en la posición 6 bencílica con LIDAKOR/butil-litio/diisopropilamina/terc-amilato de potasio, (iii) reducir el aldehído en la posición 6 con hidruro de litio y aluminio, (iv) desproteger las regiones protegidas del compuesto de estradiol. Un esquema de reacción para preparar derivados de estradiol se facilita a continuación en el Esquema 2.

Esquema 1



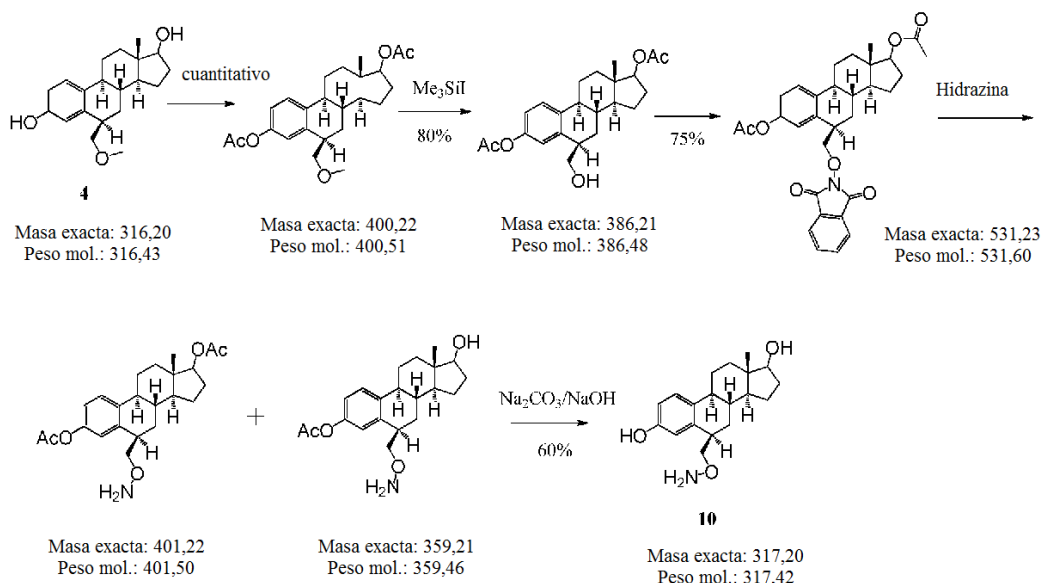
Esquema 2



5 Diversos derivados de alquiloalquilo, según la presente divulgación, implican la selección de agentes alquilantes. Tales derivados serían entendidos por aquellos expertos en la materia avisados de la presente divulgación, y está disponible mediante procedimientos de síntesis del tipo descrito en el presente documento. Por consiguiente, sin limitación, pueden usarse diversos reactivos de alquilo C_1 a C_6 y de alquilo sustituido, como se describen en el presente documento para preparar los derivados de alquiloalquilo correspondientes.

10 En otro aspecto de la presente divulgación, los métodos de preparación de derivados de 6-amino del estradiol se desvelan en los esquemas de reacción a continuación. Por consiguiente, los estradiolos 6-metoxilados descritos en los Esquemas 1-2 se emplean y se convierten en sus derivados de amino respectivos.

Esquema 3



Entre otras cosas, la invención ofrece un nuevo modo de acción para tratar tumores dependientes o independientes de estrógenos. El enfoque tradicional empleó fármacos que una vez unidos a los ER modificaron la configuración de los ER hasta el punto que en efecto los destruyeron. Por consiguiente, la destrucción de tales ER unidos cesaría la transmisión de todas las señales externas e internas esenciales para la vitalidad de las células, creando una parada en el crecimiento celular.

Se cree que los compuestos presentemente desvelados son capaces de unirse a varios receptores que incluyen los receptores de estrógeno, testosterona y andrógeno. El inventor ha observado inesperadamente que tras la unión, los compuestos de la presente invención son capaces de modular las vías de señalización del primer o segundo mensajero celular y adicionalmente potenciar sus efectos clínicos mediante mecanismos dependientes de genes o independientes de genes, por ejemplo, la actividad de estrógeno dependiente de genes se ha descrito bien en la materia y aquellos expertos habituales en la materia son capaces de determinar las vías implicadas en la inactivación de un gen dependiente de estrógenos.

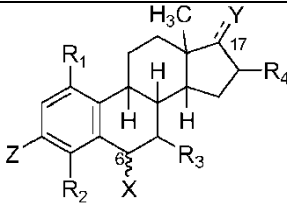
Sin embargo, en la presente invención, los compuestos reivindicados son capaces de modular la actividad celular a un nivel independiente de los mecanismos regulados por genes tradicionales. En este aspecto de la invención, los compuestos de la presente invención son capaces de unirse directamente a múltiples receptores de esteroide en la membrana plasmática y desencadenar mecanismos de estrés mediados por células internos que implican la respuesta a proteínas desplegadas ("UPR") en el retículo endoplásmico. La respuesta al estrés UPR posteriormente conduce a la inhibición del crecimiento, y muerte celular mediante la modulación de genes de respuesta al estrés tales como CHOP, también conocidos como GADD153, TRIB3, etc.

Además, la administración de los compuestos desvelados en el presente documento para el tratamiento de diversos estados de cáncer puede comprender la administración de un compuesto de fórmula IVe en combinación con otras terapias para el cáncer complementarias, tales como quimioterapia, radioterapia, terapia génica, terapia hormonal y otras terapias para el cáncer conocidas en la técnica. Las combinaciones de los compuestos presentemente desvelados con otros agentes anticancerígenos o quimioterapéuticos están dentro del alcance de la invención. Ejemplos de tales agentes pueden encontrarse en Cancer Principles and Practice of Oncology por V. T. Devita y S. Hellman (editors), 6ª edición (15 de Feb. de 2001), Lippincott Williams & Wilkins Publishers. Un médico, veterinario o profesional clínico de experiencia habitual en la materia sería capaz de distinguir qué combinaciones de agentes serían útiles basándose en las características particulares de los fármacos y el cáncer en cuestión. Tales agentes antineoplásicos incluyen los siguientes: moduladores de receptores de estrógeno, moduladores de receptores de andrógeno, moduladores de receptores de retinoide, agentes citotóxicos, agentes antiproliferativos, inhibidores de la proteína-prenil transferasa, inhibidores de la HMG-CoA reductasa, inhibidores de la EHV proteasa, inhibidores de la transcriptasa inversa, inhibidores de la aromatasa e inhibidores de la angiogénesis.

Compuestos ejemplificados

Los compuestos de la presente divulgación se ilustran en la Tabla III a continuación:

Tabla III

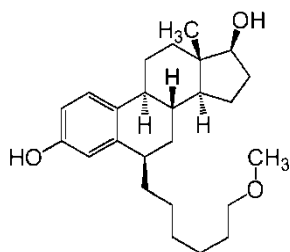


R₁, R₂, R₃, R₄: independientemente H, alquilo C₁-C₆, alquilo sustituido, o halógeno y --- es un enlace simple o doble; no presente.

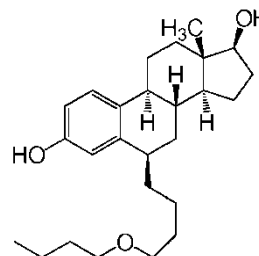
Entrada	X	Z	Y	C-6	C-8	C-9	C-13	C-14	C-17
Compuesto comparativo 18	OMe	OH	OH	R	R	S	S	S	S
Compuesto comparativo 14	CH ₂ NHCH ₂ OCH ₃	OH	OH	R	R	S	S	S	S
Compuesto comparativo 15	CH ₂ NHCH ₂ OCH ₃	OH	OH	S	R	S	S	S	S
Compuesto comparativo 16	CH ₂ NHC(O)-OCH ₃	OH	OH	R	R	S	S	S	S
Compuesto comparativo 17	CH ₂ NHC(O)-OCH ₃	OH	OH	S	R	S	S	S	S
Compuesto 19	(CH ₂) ₂ OMe	OH	OH	S	R	S	S	S	S
Compuesto 20	(CH ₂) ₄ OMe	OH	OH	R	R	S	S	S	S
Compuesto 21	(CH ₂) ₆ OMe	OH	OH	R	R	S	S	S	S
Compuesto 22	(CH ₂) ₈ OMe	OH	OH	R	R	S	S	S	S
Compuesto comparativo 23	Me	C(O)-(CH ₂) ₁₆ CH ₃	H	R	R	S	S	S	S
Compuesto 30	(CH ₂) ₄ O(CH ₂) ₂ -CH ₃	OH	OH	R	R	S	S	S	S
Compuesto 31	(CH ₂) ₅ O(CH ₂)-CH ₃	OH	OH	R	R	S	S	S	S

Los compuestos preferidos en la Tabla III incluyen los compuestos 19, 20, 21, 22 y 31. Al menos un aspecto de la presente invención se refiere a estos compuestos preferidos, su método de uso y preparación.

5 Un ejemplo no limitante específico para el tratamiento de un estado de cáncer identificado como se describe en el presente documento incluye el uso de un compuesto de fórmula IVe tal como:



21



30

10 Los compuestos activos anteriores también pueden usarse como parte de un ensayo *in vitro*, por ejemplo, con el fin de determinar si es probable que un huésped candidato se beneficie de tratamiento con el compuesto en cuestión.

15 Cualquier compuesto activo de la presente invención también puede usarse como patrón, por ejemplo, en un ensayo, con el fin de identificar otros compuestos activos, otros agentes antiproliferativos, otros agentes antiinflamatorios, etc.

Al menos en un aspecto de la presente invención, los compuestos candidatos se evaluaron para su actividad antagonista de receptores de estrógeno. La evaluación en cuanto a si un compuesto es un antagonista de receptores de estrógeno puede llevarse a cabo por diversas metodologías conocidas en la técnica. En la presente solicitud, tal capacidad se determinó realizando el ensayo de unión a luciferasa según los métodos de cribado descritos en el presente documento.

En una realización más preferida de este aspecto de la invención, la capacidad de unión del receptor de estrógeno se evaluó transfectando transitoriamente células CV-1 con construcciones de expresión para tanto ER (α) como ER (β) más una construcción indicadora de ERE-tk-luciferasa. Las células se dividieron entonces en controles y grupos de candidatos en los que los controles no recibieron tratamiento, o se trataron con estradiol solo (1 nM) y los grupos de candidatos recibieron estradiol más un compuesto de la invención a concentraciones variables. Después de 16-24 horas las células se recogieron y se ensayaron para actividad de luciferasa usando un kit de ensayo comercialmente disponible.

En otro aspecto más de la presente invención se determinó la CI_{50} o la concentración de inhibición al 50 % de los compuestos candidatos para evaluar la potencia del fármaco y posibles pautas de dosificación para uso *in vivo*. Un experto habitual en la materia es fácilmente capaz de determinar tal información usando metodologías comúnmente conocidas. Como se ha descrito bien en la materia, la CI_{50} representa y mide cuánto se necesita de una sustancia/molécula particular para inhibir algún proceso biológico el 50 %. En el presente caso, la CI_{50} de los compuestos candidatos se determinó como la concentración que condujo a una respuesta del 50 % en comparación con las células de control de vehículo.

Como se indica en el presente documento, las sales de los compuestos de la presente invención se refieren a "sales farmacéuticamente aceptables" no tóxicas. Otras sales pueden, sin embargo, ser útiles en la preparación de los compuestos según la invención o de sus sales farmacéuticamente aceptables. Cuando los compuestos de la presente invención contienen un grupo básico, las sales englobadas dentro del término "sales farmacéuticamente aceptables" se refiere a sales no tóxicas que se preparan generalmente haciendo reaccionar la base libre con un ácido orgánico o inorgánico adecuado. Sales representativas incluyen cualquiera de tales sales conocidas en la técnica. Si los compuestos de la presente invención llevan un resto ácido, sales farmacéuticamente aceptables adecuadas de los mismos pueden incluir sales de metales alcalinos, por ejemplo, sales de sodio o potasio; sales de metales alcalinotérreos, por ejemplo, de calcio o magnesio; y sales formadas con ligandos orgánicos adecuados, por ejemplo, sales de amonio cuaternario.

Para tratar un sujeto mamífero, tal como un paciente humano, una cantidad eficaz de uno o más compuestos de la presente invención, o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, se administra al sujeto mamífero para promover la exposición a o contacto de las células cancerosas o el crecimiento tumoral elegido como diana. Pueden determinarse formas de dosificación eficaces, modos de administración y cantidades de dosificación empíricamente, y el hacer tales determinaciones está dentro de la experiencia de la materia. Se entiende por el médico, veterinario o profesional clínico de experiencia habitual en la materia que la cantidad de dosificación variará con la actividad del compuesto particular empleado, transcurso y/o progresión del estado de enfermedad, la vía de administración, la tasa de eliminación del compuesto, función renal y hepática del paciente, la duración del tratamiento, la identidad de cualquier otro fármaco que se administre al sujeto, edad, tamaño y factores similares muy conocidos en las ciencias médicas. Como se trata en el presente documento, los compuestos de la presente invención pueden administrarse en formas de dosificación oral tales como comprimidos, cápsulas (incluyendo cada una formulaciones de liberación sostenida o de liberación controlada), píldoras, polvos, composiciones micronizadas, gránulos, elixires, tinturas, suspensiones, jarabes y emulsiones. Asimismo, también pueden administrarse en forma intravenosa (bolo o infusión), intraperitoneal, tópica (por ejemplo, colirio ocular), subcutánea, intramuscular o transdérmica (por ejemplo, parche), todas usando formas muy conocidas para aquellos expertos en las técnicas farmacéuticas. De nuevo, el médico generalmente experto, veterinario o profesional clínico puede determinar fácilmente y recetar la cantidad eficaz del fármaco requerida para prevenir, contrarrestar o detener el progreso de la afección.

Las dosificaciones orales de la presente invención, cuando se usan para los efectos indicados, oscilarán entre aproximadamente 0,01 mg por kg de peso corporal por día (mg/kg/día) y aproximadamente 100 mg/kg/día, preferentemente 0,01 a 10 mg/kg/día, y lo más preferentemente 0,1 a 5,0 mg/kg/día. Para administración por vía oral, las composiciones se proporcionan preferentemente en forma de comprimidos que contienen 0,01, 0,05, 0,1, 0,5, 1,0, 2,5, 5,0, 10,0, 15,0, 25,0, 50,0, 100 y 500 miligramos del principio activo para el ajuste sintomático de la dosificación al paciente que va a tratarse. Un medicamento normalmente contiene de aproximadamente 0,01 mg a aproximadamente 500 mg de principio activo, preferentemente de aproximadamente 1 mg a aproximadamente 100 mg de principio activo. Intravenosamente, la dosis más preferida oscilará de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 10 mg/kg/minuto durante una infusión de tasa constante. Los compuestos de la presente invención pueden administrarse en una única dosis diaria, o la dosificación diaria total puede administrarse en dosis divididas de dos, tres o cuatro veces al día.

Como se indica en el presente documento, los compuestos de la presente invención pueden usarse en combinación con otros agentes antineoplásicos u otros agentes que potenciarán la pauta de tratamiento para el sujeto mamífero. Los componentes individuales de tales combinaciones pueden administrarse por separado en momentos diferentes

durante el transcurso de la terapia o simultáneamente en formas de combinación divididas o individuales a pacientes o regiones de tales pacientes en necesidad de tal terapia. La presente invención debe entenderse, por tanto, como que engloba todas aquellas pautas de tratamiento simultáneo o alterno y el término "administrar" debe interpretarse consecuentemente. Se entenderá que el alcance de las combinaciones de los compuestos de la presente invención con otros agentes útiles para tratar la afección de cáncer dirigida incluye en principio cualquier combinación con cualquier composición farmacéutica útil para tratar trastornos relacionados con el funcionamiento de estrógenos.

Los compuestos de la presente invención pueden ser profármacos para potentes agentes antiproliferativos. Los compuestos que presentan actividad intrínseca baja o moderada pueden actuar de profármacos, y ser metabólicamente activados (por ejemplo, *in vivo*) para generar compuestos más potentes. Esto es especialmente útil en la terapia del cáncer en la que la activación metabólica puede lograrse por una enzima que se expresa en tumores. Los profármacos, que actúan de sustrato, pueden ser metabolizados por CYP19, 17 β -HSD, HS-desmetilasa u otra enzima asociada a esteroidea para generar un potente agente antineoplásico. Los derivados de (R) o (S)-6-metiloxalquilo de exemestano sugieren que puede ser activo contra numerosas formas de cáncer más allá del cáncer de mama. La actividad en inhibir el crecimiento de células tumorales en líneas de células derivadas de cánceres de mama, pulmón, colon, próstata, endometrio y de ovario se observó para el enantiómero NDC-1011. Por ejemplo, estudios *in vitro* de crecimiento de células tumorales es la mayor en líneas celulares que son positivas para CYP19 (MDA-MB-213 y SK-OV-3) y se reduce en aquellas líneas celulares que son negativas para CYP19 (MCF-7 y NIH:OVCAR-3) indica que el compuesto comparativo 24 puede actuar de pro-fármaco.

Aunque no se está ligado a teoría alguna, por ejemplo, si el compuesto comparativo 24 es un profármaco, entonces cualquier número de enzimas esteroideas normales del cuerpo deben ser activas hacia el compuesto comparativo 24, convirtiendo así el compuesto comparativo 24 en el (los) metabolito(s) activo(s). Este aspecto de la invención puede aplicarse del mismo modo a tanto los diaestereómeros S como R.

Composiciones

Como se usa en el presente documento, el término "composición" pretende englobar un producto que comprende los componentes especificados en las cantidades especificadas, además de cualquier producto que resulte, directamente o indirectamente, de la combinación de los componentes especificados en las cantidades especificadas.

Las formulaciones farmacéuticas de la presente invención incluyen aquellas adecuadas para administración oral, nasal, tópica (incluyendo bucal y sublingual), rectal, vaginal y/o parenteral. Independientemente de la vía de administración seleccionada, el (los) principio(s) activo(s) se formula(n) en formas de dosificación farmacéuticamente aceptables por métodos convencionales conocidos para aquellos expertos en la materia.

La cantidad del (de los) principio(s) activo(s) que se combinará con un material de vehículo para producir una forma de dosificación única variará dependiendo del huésped que está tratándose, el modo particular de administración y todos los otros factores descritos anteriormente. La cantidad del (de los) principio(s) activo(s) que se combinará con un material de vehículo para producir una forma de dosificación única generalmente será aquella cantidad del (de los) principio(s) activo(s) que será la dosis eficaz más baja para producir un efecto terapéutico.

Los métodos de preparación de formulaciones farmacéuticas o composiciones incluyen la etapa de poner el (los) principio(s) activo(s) en asociación con el vehículo y, opcionalmente, uno o más componentes accesorios. En general, las formulaciones se preparan poniendo uniformemente e íntimamente el (los) principio(s) activo(s) en asociación con vehículos líquidos, o vehículos sólidos finamente dividido, o ambos, y luego, si fuera necesario, moldeando el producto.

Las formulaciones de la invención adecuadas para administración por vía oral pueden estar en forma de cápsulas, sellos, píldoras, comprimidos, pastillas para chupar (usando una base aromatizada, normalmente sacarosa y goma arábiga o tragacanto), polvos, gránulos, o como una disolución o una suspensión en un líquido acuoso o no acuoso, o como una emulsión líquida de aceite en agua o agua en aceite, o como un elixir o jarabe, o como pastillas (usando una base inerte, tal como gelatina y glicerina, o sacarosa y goma arábiga) y/o como enjuagues bucales y similares, conteniendo cada uno una cantidad predeterminada del (de los) principio(s) activo(s). El (Los) principio(s) activo(s) también puede(n) administrarse como un bolo, electuario o pasta.

En las formas de dosificación sólidas de la invención para administración por vía oral (cápsulas, comprimidos, píldoras, comprimidos recubiertos de azúcar, polvos, gránulos y similares), el (los) profármaco(s), principio(s) activo(s) (en la forma micronizada) se mezcla/mezclan con uno o más vehículos farmacéuticamente aceptables, tales como citrato de sodio o fosfato de dicalcio, y/o cualquiera de los siguientes: (1) cargas o sustancias de relleno, tales como almidones, lactosa, sacarosa, glucosa, manitol y/o ácido silícico; (2) aglutinantes, tales como, por ejemplo, carboximetilcelulosa, alginatos, gelatina, polivinilpirrolidona, sacarosa y/o goma arábiga; (3) humectantes, tales como glicerol; (4) agentes disgregantes, tales como, agar-agar, carbonato cálcico, almidón de patata o tapioca, ácido algínico, ciertos silicatos, y carbonato sódico; (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, laurilsulfato sódico y mezclas de los mismos; y (10) agentes colorantes. En el caso de cápsulas, comprimidos y píldoras, las composiciones farmacéuticas también pueden comprender agentes de tamponamiento. Pueden emplearse como cargas composiciones sólidas de tipo similar en cápsulas de gelatina rellenas blandas y duras usando excipientes tales como lactosa o azúcares de la leche, además de polietilenglicoles de peso molecular alto y similares.

Puede prepararse un comprimido por compresión o moldeo, opcionalmente con uno o más componentes accesorios. Los comprimidos pueden prepararse usando aglutinante (por ejemplo, gelatina o hidroxipropilmetilcelulosa), lubricante, diluyente inerte, conservante, disgregante (por ejemplo, glicolato sódico de almidón o carboximetilcelulosa sódica reticulada), tensioactivo o dispersante. Los comprimidos pueden prepararse moldeando en una máquina adecuada una mezcla del (de los) principio(s) activo(s) en polvo humedecido(s) con un diluyente líquido inerte.

Los comprimidos, y otras formas de dosificación sólidas de las composiciones farmacéuticas de la presente invención, tales como comprimidos recubiertos de azúcar, cápsulas, píldoras y gránulos, pueden opcionalmente ranurarse o prepararse con recubrimientos y vainas, tales como recubrimientos entéricos y otros recubrimientos muy conocidos en la técnica de la formulación farmacéutica. También pueden formularse de manera que proporcionen liberación lenta o controlada del (de los) principio(s) activo(s) en su interior usando, por ejemplo, hidroxipropilmetilcelulosa en proporciones variables para proporcionar el perfil de liberación deseado, otras matrices poliméricas, liposomas y/o microesferas. Pueden esterilizarse, por ejemplo, por filtración a través de un filtro de retención de bacterias. Estas composiciones también pueden contener opcionalmente agentes opacificantes y pueden ser de una composición tal que liberen el principio activo sólo, o preferentemente, en una cierta porción del tubo gastrointestinal, opcionalmente de manera retardada. Ejemplos de composiciones de inclusión que pueden usarse incluyen sustancias poliméricas y ceras. El principio activo también puede estar en forma microencapsulada.

Las formas de dosificación líquidas para administración por vía oral del (de los) principio(s) activo(s) incluyen emulsiones, microemulsiones, disoluciones, suspensiones, jarabes y elixires farmacéuticamente aceptables. Además del (de los) principio(s) activo(s), las formas de dosificación líquidas pueden contener diluyentes inertes comúnmente usados en la técnica, tales como, por ejemplo, agua u otros disolventes, agentes solubilizantes y emulsionantes, tales como alcohol etílico, alcohol isopropílico, acetato de etilo, alcohol butílico, benzoato de bencilo, propilenglicol, glicol, aceites (en particular, aceites de semilla de algodón, de cacahuete, de maíz, de germen, de oliva, de ricino y de sésamo), glicerol, alcohol amílico, alcohol tetrahidrofurfílico, polietilenglicoles y ésteres de ácidos grasos de sorbitano, y mezclas de los mismos.

Además de los diluyentes inertes, las composiciones orales también pueden incluir adyuvantes tales como humectantes, emulsionantes y agentes de suspensión, edulcorantes, aromatizantes, colorantes, perfumantes y conservantes. Las suspensiones, además del (de los) principio(s) activo(s), pueden contener agentes de suspensión como, por ejemplo, alcoholes etoxilados, ésteres de polioxietilensorbitol y de sorbitano, celulosa microcristalina, metahidróxido de aluminio, bentonita, agar-agar y tragacanto, y mezclas de los mismos.

Las formulaciones de las composiciones farmacéuticas de la invención para administración rectal o vaginal pueden presentarse como un supositorio, que puede prepararse mezclando el (los) principio(s) activo(s) con uno o más excipientes o vehículos no irritantes adecuados que comprenden, por ejemplo, manteca de cacao, polietilenglicol, cera o salicilato y que es sólido a temperatura ambiente, pero líquido a temperatura corporal y, por tanto, se fundirá en el recto o cavidad vaginal y liberará el (los) principio(s) activo(s). Las formulaciones de la presente invención que son adecuadas para administración vaginal también incluyen pesarios, tampones, cremas, geles, pastas, espumas o formulaciones en spray que contienen vehículos tales que son conocidos en la técnica por ser apropiados.

Las formas de dosificación para la administración tópica o transdérmica del (de los) principio(s) activo(s) incluyen polvos, sprays, pomadas, pastas, cremas, lociones, geles, disoluciones, parches e inhaladores. El (los) principio(s) activo(s) puede(n) mezclarse en condiciones estériles con un vehículo farmacéuticamente aceptable, y con cualquier tampón, o propulsor que pueda requerirse.

Las pomadas, pastas, cremas y geles pueden contener, además del (de los) principio(s) activo(s), excipientes, tales como grasas animales y vegetales, aceites, ceras, parafinas, almidón, tragacanto, derivados de celulosa, polietilenglicoles, siliconas, bentonitas, ácido silícico, talco y óxido de cinc, o mezclas de los mismos. Los polvos y sprays pueden contener, además del (de los) principio(s) activo(s), excipientes tales como lactosa, talco, ácido silícico, hidróxido de aluminio, silicatos de calcio y polvo de poliamida o mezclas de estas sustancias. Los sprays pueden contener adicionalmente propulsores habituales tales como clorofluorohidrocarburos e hidrocarburos volátiles no sustituidos, tales como butano y propano.

Los compuestos de la presente invención pueden administrarse en forma intranasal mediante uso tópico de vehículos intranasales adecuados, o mediante vías transdérmicas, usando aquellas formas de parches transdérmicos para la piel muy conocidos para aquellos expertos habituales en la materia. Un sistema de administración transdérmica proporciona administración continua mediante la pauta de dosificación. Los parches

transdérmicos tienen la ventaja añadida de proporcionar la liberación controlada del (de los) principio(s) activo(s) al cuerpo. Tales formas de dosificación pueden prepararse disolviendo, dispersando o incorporando de otro modo el (los) principio(s) activo(s) en un medio apropiado, tal como un material de matriz elastomérica. También pueden usarse potenciadores de la absorción para aumentar el flujo del (de los) principio(s) activo(s) a través de la piel. La tasa de tal flujo puede controlarse tanto proporcionando una membrana de control de la tasa como dispersando el (los) principio(s) activo(s) en una matriz de polímero o gel.

Los compuestos de la presente invención también pueden administrarse en forma de sistemas de administración de liposomas, tales como vesículas unilaminares pequeñas, vesículas unilaminares grandes y vesículas multilaminares. Los liposomas pueden formarse a partir de una variedad de fosfolípidos, tales como colesterol, estearilamina o fosfatidilcolinas.

Otro modo de administración para los compuestos de la presente invención puede ser la administración mediante el uso de anticuerpos monoclonales como vehículos individuales a los que se acoplan las moléculas de compuesto. Los compuestos de la presente invención también pueden acoplarse con polímeros solubles como vehículos de fármaco direccionables. Tales polímeros pueden incluir polivinilpirrolidona, copolímero de pirano, polihidroxipropilmetacrilamida-fenol, polihidroxi-etilaspirtamida-fenol, o poli(óxido de etilo)-polilisina sustituido con residuos de palmitoilo. Además, los compuestos de la presente invención pueden acoplarse a una clase de polímeros biodegradables útiles en lograr la liberación controlada de un fármaco, por ejemplo, ácido poliláctico, ácido poliglicólico, copolímeros de ácido poliláctico y poliglicólico, poli-épsilon-caprolactona, ácido polihidroxibutírico, poliortoésteres, poliacetales, polidihidropiranos, policianoacrilatos y copolímeros de bloque reticulados o anfipáticos de hidrogeles.

Las composiciones farmacéuticas de la presente invención adecuadas para administración parenteral comprenden el (los) principio(s) activo(s) en combinación con una o más disoluciones, suspensiones o emulsiones acuosas o no acuosas isotónicas estériles, o polvos estériles farmacéuticamente aceptables, que pueden reconstituirse en disoluciones o dispersiones inyectables estériles justo antes de su uso, que pueden contener antioxidantes, tampones, solutos que hacen la formulación isotónica con la sangre del receptor previsto o agentes de suspensión o espesantes.

Ejemplos de vehículos acuosos y no acuosos adecuados que pueden emplearse en las composiciones farmacéuticas de la invención 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, mediante el uso de materiales de recubrimiento, tales como lecitina, mediante el mantenimiento del tamaño de partícula requerido y mediante el uso de tensioactivos.

Estas composiciones también pueden contener adyuvantes, tales como humectantes, emulsionantes y dispersantes. También puede desearse incluir en las composiciones agentes isotónicos, tales como azúcares, cloruro sódico y similares. Además, la absorción prolongada de la forma farmacéutica inyectable puede provocarse mediante la inclusión de agentes que retardan la absorción, tales como monoestearato de aluminio y gelatina.

En algunos casos, con el fin de prolongar el efecto del (de los) principio(s) activo(s), se desea ralentizar la absorción del fármaco de la inyección subcutánea o intramuscular. Esto puede llevarse a cabo mediante el uso de una suspensión líquida de material cristalino o amorfo que tiene poca solubilidad en agua. La velocidad de absorción del (de los) principio(s) activo(s) 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 del (de los) principio(s) activo(s) parenteralmente administrado(s) se lleva a cabo disolviendo o suspendiendo el (los) principio(s) activo(s) en un vehículo de aceite.

Las formas de liberación prolongada inyectables se preparan formando matrices microencapsuladas del (de los) principio(s) activo(s) en polímeros biodegradables tales como polilactida-poliglicolida. Dependiendo de la relación del (de los) principio(s) activo(s) con respecto al polímero y la naturaleza del polímero particular empleado, puede controlarse la velocidad de liberación del (de los) principio(s) activo(s). Ejemplos de otros polímeros biodegradables incluyen poli(ortoésteres) y poli(anhídridos). Las formulaciones de liberación prolongada inyectables también se preparan atrapando el (los) principio(s) activo(s) en liposomas o microemulsiones que son compatibles con el tejido corporal. Los materiales inyectables pueden esterilizarse, por ejemplo, por filtración a través de un filtro de retención de bacterias.

Preferentemente, la composición administrada en forma de una forma de dosificación inyectable comprende un polímero biocompatible, una forma compatible de los compuestos presentemente desvelados y un disolvente biocompatible que solubiliza el polímero biocompatible, en el que los porcentajes en peso del polímero biocompatible, el presente y el disolvente biocompatible se basan en el peso total de la composición completa; adicionalmente en el que cantidades suficientes de dicho polímero se emplean en dicha composición de forma que, tras la administración a un sitio vascular, el polímero sea capaz de precipitar y permitir la liberación del compuesto activo en dosis suficientes para detener el crecimiento tumoral.

Todavía otro aspecto de esta realización observaría la apropiada viscosidad de dicha composición, preferentemente en el intervalo de aproximadamente 10 a 200 cSt a 40 °C.

Más preferentemente, la composición administrada localmente al tumor sólido comprende un polímero biocompatible a una concentración de aproximadamente el 1 al 95 por ciento en peso de compuesto activo a una concentración de aproximadamente el 5 a aproximadamente el 75 por ciento en peso, y un disolvente biocompatible de aproximadamente el 5 a aproximadamente el 95 por ciento en peso, en el que el porcentaje en peso de todos los componentes se basa en el peso total de la composición completa y adicionalmente en el que la composición tiene una viscosidad de al menos 10 a aproximadamente 200 y más preferentemente al menos aproximadamente 200 cSt a 40 °C.

Polímeros biodegradables se desvelan en la materia. Por ejemplo, Dunn et al. en la patente de Estados Unidos 4.938.763 desvela los siguientes ejemplos de polímeros biodegradables: polímeros de cadena lineal tales como polilactidas, poliglicolidas, policaprolactonas, polianhídridos, poliamidas, poliuretanos, poliesteramidas, poliortoésteres, polidioxanonas, poliacetales, policetales, policarbonatos, poliortocarbonatos, polifosfazenos, polihidroxitiratos, polihidroxitiratos, poli(oxalatos de alquileo), poli(succinatos de alquileo), poli(ácido málico), poli(aminoácidos), polivinilpirrolidona, polietilenglicol, polihidroxicelulosa, quitina, quitosano, y copolímeros, terpolímeros y combinaciones de los mismos. Otros polímeros biodegradables incluyen, por ejemplo, gelatina, colágeno, etc.

Polímeros biocompatibles no biodegradables adecuados incluyen, a modo de ejemplo, acetatos de celulosa, copolímeros de etileno-alcohol vinílico, hidrogeles (por ejemplo, acrílicos), poliacrilonitrilo, poli(acetato de vinilo), acetato-butirato de celulosa, nitrocelulosa, copolímeros de uretano/carbonato, copolímeros de estireno/ácido maleico, y mezclas de los mismos.

Los polímeros biocompatibles preferidos pueden incluir polímeros acrílicos, diacetato de celulosa y copolímero de etileno-alcohol vinílico, polietilenglicol, quitosano, colágeno y gelatina. Tales polímeros están tanto comercialmente disponibles como pueden prepararse por procedimientos reconocidos en la técnica. En una realización preferida, el peso molecular promedio en número, como se ha determinado por la composición por cromatografía de exclusión molecular, es de aproximadamente 5.000 a aproximadamente 200.000, más preferentemente de aproximadamente 25.000 a aproximadamente 180.000, y todavía más preferentemente de aproximadamente 50.000 a 100.000.

Puede emplearse un agente de contraste biocompatible dentro de la composición proporcionada en el presente documento para observar y monitorizar el progreso clínico del sitio local de interés. Estos agentes de contraste incluyen agentes de contraste solubles en agua y agentes de contraste insolubles en agua. Preferentemente, el agente de contraste insoluble en agua es un material biocompatible seleccionado del grupo que consiste en sulfato de bario, polvo de tántalo y óxido de tántalo. En todavía otra realización preferida, el disolvente biocompatible es agua, sulfóxido de dimetilo (DMSO), etanol, lactato de etilo o acetona.

Las formulaciones pueden presentarse en envases sellados de dosis unitaria o multi-dosis, por ejemplo, ampollas y viales, y pueden almacenarse en una condición liofilizada que requiere solo la adición del vehículo líquido estéril, por ejemplo agua para inyección, inmediatamente antes de uso. Pueden prepararse disoluciones y suspensiones de inyección extemporánea a partir de polvos estériles, gránulos, nanopartículas y comprimidos del tipo descrito anteriormente.

Las composiciones farmacéuticas de la presente invención también pueden usarse en forma de formulaciones veterinarias, que incluyen aquellas adaptadas para lo siguiente: (1) administración por vía oral, por ejemplo, rociados (disoluciones o suspensiones acuosas o no acuosas), comprimidos, bolos, polvos, gránulos o pellas para mezcla con piensos, pastas para aplicación a la lengua; (2) administración parenteral, para "ampolla, por inyección subcutánea, intramuscular o intravenosa como, por ejemplo, una disolución o suspensión estéril o, cuando convenga, por inyección intramamaria en la que una suspensión o disolución se introduce en la ubre del animal mediante su pezón; (3) administración tópica, por ejemplo, como una crema, pomada o espray aplicado a la piel; o (4) intravaginalmente, por ejemplo, como un pesario, crema o espuma o cualquier otro métodos adecuado para aquellos expertos habituales en la materia para administración a una región de interés.

Los métodos generales dados en los Esquemas 1, 2 y 3 para la preparación de compuestos ejemplificados en la fórmula IV y en la Tabla III anteriores se ilustran adicionalmente por los siguientes ejemplos. Específicamente, los métodos dados en el Esquemas 1 y 2 para la preparación de compuestos de 6-alcóxialquilo de estradiol se ilustran por los Ejemplos comparativos 1, 2, 4 y 5 mostrados a continuación, y el Esquema 3 es para la preparación de derivados de 6-amino de estradiol. Un ejemplo de evaluación de la capacidad de unión del receptor de estrógeno se expresa en el Ejemplo comparativo 4, y finalmente de evaluación de Cl_{50} de los compuestos preferidos de la presente divulgación y su eficacia comparativa se facilita en el Ejemplo comparativo 5. A menos que se especifique de otro modo, todos los materiales de partida y reactivos son de calidad comercial estándar, y se usan sin más purificación, o se preparan fácilmente a partir de tales materiales por métodos rutinarios. Aquellos expertos en la materia de la síntesis orgánica reconocerán que los materiales de partida y condiciones de reacción pueden variarse para lograr el producto final deseado.

Ejemplo comparativo 1

Métodos de preparación de 6-hidroximetil-androsta-1,4-dieno-3,17-diona.

5 En un sistema de reacción, se calientan cantidades suficientes de (+)androsta-1,4-dieno-3,17-diona (ADD), 12,2 equivalentes de pirrolidina, ácido acético catalítico, etanol desnaturalizado (95/5 de etanol/metanol) y 6-7 % de tetrahidrofurano (THF) a 30 a 40 °C durante un mínimo de 16 horas para formar 1,3-dipirrolidinoandrosta-3,5-dien-17-ona. Una vez el contenido de ADD alcanza menos del 3 % por área de HPLC, o se vuelve estático o el
10 dipirrolidinoandrostadieno resultante empieza a revertir a ADD, la mezcla de reacción se enfría a 5 ± 5 °C. El compuesto resultante se recoge entonces y se lava con etanol desnaturalizado frío. Los rendimientos son normalmente del 70-80 % en una base seca con purezas normalmente del 90-95 % por porcentaje de área de HPLC.

15 La 1,3-dipirrolidinoandrosta-3,5-dien-17-ona resultante se mezcla entonces en la cantidad de 1 equivalente con 2,6 equivalentes de formalina (formaldehído) en 10 ml de diclorometano/g a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se acidifica entonces a un pH de aproximadamente 2 con 2 % de disolución de ácido sulfúrico. Por consiguiente, se forma una fase orgánica, que se lava con 2 % de ácido sulfúrico y 1:1 de agua/salmuera. Entonces se lleva a cabo intercambio del disolvente en tolueno (aproximadamente 10 ml/g) en el que el producto cristaliza a medida que transpira el intercambio de tolueno. Dicho producto se recoge, se lava y se seca para proporcionar 6-
20 hidroximetil-androsta-1,4-dieno-3,17-diona. Un experto habitual en la materia puede modificar adicionalmente la estereoquímica en la posición 6, si así se desea, empleando técnicas conocidas en la materia.

Ejemplo comparativo 2

25 Métodos de preparación de los compuestos comparativos 3 y 4.

Como se ha expuesto brevemente en el Esquema 2, los compuestos comparativos 3 y 4 de estradiol se sintetizan del siguiente modo. El estradiol protegido se prepara haciendo reaccionar β -estradiol con dihidropirano en THF, usando ácido toluenosulfónico o ácido canforsulfónico como catalizador. Como puede apreciar un experto habitual
30 en la materia, esta reacción es una reacción de equilibrio y no se completaría bajo tales condiciones. Así, ambos estradioles mono-protegidos pueden encontrarse en la mezcla de reacción. Tal mezcla de reacción en bruto se sometería a una etapa de trituración con acetonitrilo causando que el bis-THP estradiol deseado cristalizara con aproximadamente el 70 % de rendimiento.

35 Como se muestra en el Esquema 2, el aldehído intermedio se obtiene mediante acilación en la posición 6 bencílica con una mezcla de base fuerte denominada LiDAKOR: butil-litio, diisopropilamina y terc-amilato de potasio. Bajo tales condiciones a -70 °C, un experto habitual en la materia puede apreciar la eliminación de un protón en una posición bencílica. El aldehído intermedio se purifica entonces por cromatografía en columna para dar un jarabe con
40 aproximadamente el 50 % de rendimiento. La reducción del aldehído con un exceso de hidruro de litio y aluminio produce altos rendimientos del compuesto de hidroximetil estradiol racémico como una espuma cristalina.

Para los fines de preparación de los compuestos comparativos 3 y 4, el compuesto intermedio de metoximetilo se prepara por metilación del compuesto de hidroximetil estradiol racémico con hidruro de sodio y yoduro de metilo. El
45 producto intermedio de metoximetilo se purifica por cromatografía en columna dando una espuma cristalina. La desprotección de los grupos protectores da 6-metoximetil estradiol racémico desprotegido. La separación de los enantiómeros se realiza usando HPLC preparativa quiral dando los compuestos comparativos 3 y 4. Para el compuesto comparativo 4 se realiza una pureza quiral de >95:5 de R:S. Para el compuesto comparativo 3 se realiza una pureza quiral de 86:14 de S:R. Está perfectamente dentro del nivel de un experto habitual en la materia emplear RMN para la determinación de la estereoquímica absoluta de la posición 6, en la que los protones 4 y 6 son
50 diagnósticos.

Ejemplo comparativo 4

Métodos de preparación del compuesto comparativo 10.

55 Usando las mismas metodologías que en los Ejemplos comparativos 1-2, se prepara el compuesto comparativo 4. A una disolución del compuesto comparativo 4 (0,32 g, 1 mmol) en DCM (30 ml) se añade anhídrido acético (0,6 ml, 6 mmoles, 3 eq), TEA (0,5 ml, 3,6 mmoles, 1,8 eq) y DMAP (50 mg). La disolución de reacción se agita a temperatura ambiente durante 3 h. La cromatografía en capa fina ("CCF") sigue la reacción hasta el fin.

60 La disolución de reacción se lava con HCl 1 M (20 ml), NaHCO₃ saturado (20 ml) y salmuera (20 ml), respectivamente. La fase de DCM se seca sobre MgSO₄ y se filtra. El filtrado se evapora y se seca a alto vacío a 60 °C durante 3 h y a temperatura ambiente durante la noche para proporcionar el compuesto de metoxi protegido deseado puro del Esquema 3 (0,4 g, blanco, cuantitativo).

65

A una disolución del compuesto de metoxi protegido del Esquema 3 (0,35 g, 0,87 mmoles) en DCM se añade yodotrimetilsilano (6 ml, 44 mmoles, 50 eq) a temperatura ambiente. La disolución amarilla se agita a 38 °C durante la noche bajo argón.

5 La disolución de reacción se enfría en un baño de hielo. Se añade lentamente NaHCO₃ sat. en exceso (10 ml) para extinguir la reacción. Después de la separación de la mezcla, la fase orgánica se lava con salmuera y se concentra para la purificación en gel de sílice usando 3 % de MeOH en DCM como fase móvil. Se obtiene un rendimiento (80 %) de 270 mg de compuesto de hidroxilo puro del Esquema 3.

10 Una disolución de compuesto de hidroxilo del Esquema 3 (250 mg, 0,65 mmoles), trifenilfosfina (222 mg, 0,85 mmoles, 1,3 eq) y N-hidroxifalimida (140 mg, 0,85 mmoles, 1,3 eq) en THF (20 ml) se enfría en un baño de hielo. A la disolución enfriada se añade azodicarboxilato de dietilo (0,6 ml, 1 mmol, 1,5 eq). La mezcla de reacción se calienta a temperatura ambiente y se agita durante la noche.

15 La mezcla de reacción se evapora entonces, y el residuo resultante se diluye con DCM (50 ml), se lava con salmuera y se concentra para la purificación en gel de sílice usando 3 % de MeOH/DCM como fase móvil dando 260 mg (75 %) del compuesto de ftalimida blanco deseado del Esquema 3.

20 Una disolución del compuesto de ftalimida del Esquema 3 (580 mg, 1,1 mmoles) en DCM anhidro (30 ml) se enfría en un baño de hielo. Se añade metilhidracina (0,22 ml, 2,2 mmoles, 4 eq). La mezcla se calienta a temperatura ambiente y se agita durante 3 h. La CL-EM sigue la reacción hasta el fin.

25 La disolución de reacción se lava con una disolución de salmuera y NaHCO₃ sat. (1:1, 10 ml). La fase acuosa se lava con DCM (10 ml). Las fases de DCM combinadas se evaporan a sequedad bajo alto vacío. La CL-EM confirma que el producto en bruto contiene dos productos de aminooxi principales del Esquema 3.

30 La mezcla en bruto (~ 0,7 mmoles) de compuestos de aminooxi del Esquema 3 en MeOH (60 ml) se enfría en un baño de hielo. Posteriormente se añade una disolución de carbonato sódico (0,5 g, 4,7 mmoles) en agua (10 ml) y una disolución de NaOH (0,8 g, 20 mmoles) en agua (10 ml). La reacción se calienta a temperatura ambiente y se agita durante la noche.

35 El pH de la disolución de reacción final es aproximadamente 14. Se añade una disolución de bicarbonato sódico sat. (~10 ml) para ajustar el pH a 10. La mezcla se evapora entonces para eliminar la mayoría del metanol. A la mezcla resultante se añade DCM (100 ml) y bicarbonato sódico sat. (30 ml) para la extracción. La fase acuosa se lava con DCM (2x50 ml). Las fases de DCM combinadas se evaporan a sequedad dando la mezcla en bruto 400 mg.

40 La mezcla en bruto se purifica por columna de gel de sílice usando 5 % de MeOH/DCM como fase móvil para proporcionar el compuesto comparativo del producto final deseado 10 (135 mg, blanquecino, 60 % de rendimiento, 98 % de pureza por HPLC, RMN y CL-EM confirmada).

Ejemplo comparativo 5

Métodos de preparación del compuesto comparativo 21

45 a) (8R,9S,13S,14S,17S)-3,17-bis(metoximetoxi)-13-metil-7,8,9,11,12,13,14,15,16,17-decahidro-6H-ciclopenta[a]fenantreno - Se añade éter clorometilmetílico (7,0 ml, 92,0 mmoles) a una disolución de β-estradiol (5 g, 18,4 mmoles) y diisopropiletilamina (16,0 ml 92 mmoles) en 100 ml de THF. La mezcla de reacción se calienta a reflujo y se agita durante 18 horas. El THF se elimina a vacío, y el aceite amarillo/marrón se reparte entre agua y CH₂Cl₂. La fase orgánica se separa, se lava con salmuera, se seca (Na₂SO₄), se filtra y se evapora a vacío dando un aceite dorado. La purificación por cromatografía en columna de gel de sílice (10 % de EtOAc/Hex) proporciona el compuesto del título como un aceite transparente viscoso (5,7 g, 86 %).

50 b) (8R,9S,13S,14S,17S)-3,17-bis(metoximetoxi)-13-metil-7,8,9,11,12,13,14,15,16,17-decahidro-6H-ciclopenta[a]fenantren-6-ol - A una disolución de terc-butóxido de potasio (8,87 g, 79,0 mmoles) y diisopropilamina (11,2 ml, 79,0 mmoles) en 80 ml de THF anhidro enfriado a -78 °C bajo argón se añade n-butilitio (49,4 ml, 79,0 mmoles, 1,6 M en hexano) gota a gota. La mezcla de reacción se agita a -78 °C durante 30-45 minutos. Entonces se añade gota a gota una disolución del compuesto de a) (5,7 g, 15,8 mmoles) en 45 ml de THF y la mezcla de reacción se agita durante 3 horas a -78 °C. Durante la adición del compuesto de a), la reacción vira a un color rojo oscuro. Entonces se añade lentamente borato de trimetilo (10,6 ml, 94,8 mmoles) y la mezcla se calienta a 0 °C y se agita durante 2 horas. A continuación se añade peróxido de hidrógeno (24 ml de una disolución ac. al 30 %), y la mezcla de reacción se calienta a temperatura ambiente y se agita durante otra 1 hora. La reacción se enfría de nuevo a 0 °C y se extingue cuidadosamente con una disolución ac. al 10 % de Na₂S₂O₃ (70 ml). La mezcla resultante se extrae con EtOAc (2x), y los extractos orgánicos combinados se secan (Na₂SO₄), se filtran y se evaporan a vacío dando un aceite amarillo/marrón. La purificación por cromatografía en columna de gel de sílice (25 % de EtOAc/Hex) proporciona el compuesto del título como un sólido blanco (3,5 g, 59 %).

- c) (8R,9S,13S,14S,17S)-3,17-bis(metoximetoxi)-13-metil-7,8,9,11,12,13,14,15,16,17-decahidro-6H-ciclopenta[a]fenantren-6-ona - Se añade peryodinano de Dess-Martin (9,46 g, 22,3 mmoles) en porciones a una disolución del compuesto de b) (7,0 g, 18,6 mmoles) en 300 ml de CH₂Cl₂. La mezcla de reacción resultante se agita a temperatura ambiente durante 3 horas. La mezcla se vierte en agua y se separan las fases. La fase acuosa se extrae con CH₂Cl₂, y los extractos orgánicos combinados se lavan con salmuera, se secan (Na₂SO₄), se filtran y se evaporan a vacío dando un sólido marrón pegajoso. La purificación por cromatografía en columna de gel de sílice (15 % de EtOAc/Hex) proporciona el compuesto del título como un aceite viscoso amarillo pálido (6,0 g, 86 %).
- d) 2-(((8R,9S,13S,14S,17S)-3,17-bis(metoximetoxi)-13-metil-7,8,9,11,12,13,14,15,16,17-decahidro-6H-ciclopenta[a]fenantren-6-iliden)acetato de etilo - Se añade fosfonoacetato de trietilo (4,1 ml, 20,8 mmoles) a una mezcla de hidruro de sodio (832 mg, 20,8 mmoles) en 25 ml de THF a temperatura ambiente. Después de aproximadamente 10 minutos, se añade gota a gota una disolución del compuesto de c) (3,9 g, 10,4 mmoles) en 10 ml de THF. La mezcla de reacción resultante se calienta a reflujo en un tubo cerrado durante 72 horas. La mezcla se concentra a vacío y se purifica por cromatografía en columna de gel de sílice (gradiente de 5 % de EtOAc/Hex a 40 % de EtOAc/Hex) dando el compuesto del título como un aceite viscoso claro (3,4 g, 74 %).
- e) 2-((8R,9S,13S,14S,17S)-3,17-bis(metoximetoxi)-13-metil-7,8,9,11,12,13,14,15,16,17-decahidro-6H-ciclopenta[a]fenantren-6-iliden)etanol - Una disolución del compuesto de d) (3,1 g, 6,97 mmoles) en 65 ml de THF se trata con hidruro de litio y aluminio (5,2 ml, 10,46 mmoles, 2 M en THF) gota a gota a 0 °C. Se retira el baño frío, y la mezcla de reacción se agita a temperatura ambiente durante 15 minutos. La reacción se enfría de nuevo a 0 °C y se extingue por la cuidadosa adición de 1,3 ml de agua, seguido de 2,6 ml de NaOH 2 N, y luego 1,3 ml de agua. La mezcla se agita vigorosamente hasta que se forma un sólido blanco. La mezcla se filtra, y el filtrado se concentra a vacío dando el compuesto del título como un aceite transparente (2,8 g, 99 %).
- f) 2-((6S,8R,9S,13S,14S,17S)-3,17-bis(metoximetoxi)-13-metil-7,8,9,11,12,13,14,15,16,17-decahidro-6H-ciclopenta[a]fenantren-6-il)acetaldehído - Una mezcla del compuesto de e) (3,09 g, 7,68 mmoles) y 10 % de Pd/C (500 mg) en 100 ml de acetato de etilo se agita bajo 40 psi de H₂ (g) durante 5 horas a temperatura ambiente. La mezcla se filtra a través de Celite, y el Celite se lava bien con acetato de etilo. El filtrado se concentra a vacío dando un aceite amarillo pálido (3,1 g). El aceite se disuelve en 100 ml de diclorometano, y se añade peryodinano de Dess-Martin (3,9 g, 9,22 mmoles) en porciones. La mezcla de reacción resultante se agita a temperatura ambiente durante 30 minutos. La mezcla se vierte en agua y se extrae con CH₂Cl₂. Los extractos orgánicos combinados se lavan con salmuera, se secan (Na₂SO₄), se filtran y se evaporan a vacío dando un sólido marrón. La purificación por cromatografía en columna de gel de sílice (15 % de EtOAc/Hex) proporciona el compuesto del título como un aceite transparente (2,0 g, 65 %).
- g) 4-((6R,8R,9S,13S,14S,17S)-3,17-bis(metoximetoxi)-13-metil-7,8,9,11,12,13,14,15,16,17-decahidro-6H-ciclopenta[a]fenantren-6-il)but-2-en-1-ol - Se añade gota a gota bis(trimetilsilil)amida de litio (18,4 ml, 18,4 mmoles, 1,0 M en THF) a una suspensión de bromuro de (2-hidroxietil)trifenilfosfonio (3,37 g, 8,70 mmoles) en 60 ml de THF a 0 °C. Después de 1 hora, la disolución marrón dorada se trata con una disolución del compuesto de f) (1,4 g, 3,48 mmoles) en 10 ml de THF gota a gota. La mezcla de reacción resultante se agita a 0 °C durante 40 minutos y luego se extingue con NH₄Cl acuoso saturado. La mezcla resultante se extrae con EtOAc (2x), y los extractos orgánicos combinados se secan (Na₂SO₄), se filtran y se evaporan dando un aceite marrón. La purificación por cromatografía en columna de gel de sílice (gradiente de 20 % de EtOAc/Hex a 75 % de EtOAc/Hex) proporciona el compuesto del título como un aceite viscoso amarillo (680 mg, 45 %).
- h) 4-((6R,8R,9S,13S,14S,17S)-3,17-bis(metoximetoxi)-13-metil-7,8,9,11,12,13,14,15,16,17-decahidro-6H-ciclopenta[a]fenantren-6-il)but-2-enal - Se añade peryodinano de Dess-Martin (437 mg, 1,03 mmoles) a una disolución del compuesto de g) (370 mg, 0,86 mmoles) en 15 ml de CH₂Cl₂ a temperatura ambiente. La mezcla de reacción resultante se agita durante 10 minutos y entonces se vierte en agua. Las fases se separan y la fase acuosa se extrae con CH₂Cl₂ (2x). Los extractos orgánicos combinados se lavan con salmuera, se secan (Na₂SO₄), se filtran y se evaporan a vacío dando un aceite marrón. La purificación por cromatografía en columna de gel de sílice (gradiente de 5 % de EtOAc/CH₂Cl₂ a 10 % de EtOAc/CH₂Cl₂) proporciona el compuesto del título como un aceite viscoso amarillo pálido (358 mg, 86 %).
- i) 6-((6R,8R,9S,13S,14S,17S)-3,17-bis(metoximetoxi)-13-metil-7,8,9,11,12,13,14,15,16,17-decahidro-6H-ciclopenta[a]fenantren-6-il)hexa-2,4-dien-1-ol - Se añade gota a gota bis(trimetilsilil)amida de litio (4,3 ml, 4,29 mmoles, 1,0 M en THF) a una suspensión de bromuro de (2-hidroxietil)trifenilfosfonio (786 mg, 2,03 mmoles) en 14 ml de THF a 0 °C. Después de 30 minutos, la disolución marrón dorada se trata con una disolución del compuesto de h) (345 mg, 0,81 mmoles) en 2 ml de THF gota a gota. La mezcla de reacción resultante se agita a 0 °C durante 20 minutos y se extingue con NH₄Cl acuoso saturado. La mezcla resultante se extrae con EtOAc (2x), y los extractos orgánicos combinados se secan (Na₂SO₄), se filtran y se evaporan dando un aceite marrón. La purificación por cromatografía en columna de gel de sílice (gradiente de 5 % de EtOAc/CH₂Cl₂ a 40 % de EtOAc/CH₂Cl₂) proporciona el compuesto del título como un aceite viscoso amarillo (140 mg, 38 %).

j) (6*R*,8*R*,9*S*,13*S*,14*S*,17*S*)-6-(6-metoxihexa-2,4-dien-1-il)-3,17-bis(metoximetoxi)-13-metil-7,8,9,11,12,13,14,15,16,17-decahidro-6*H*-ciclopenta[*a*]fenantreno - Una disolución del compuesto en i) (135 mg, 0,3 mmoles) se enfría a 0 °C, y se añade hidruro de sodio (120 mg, 3,0 mmoles) en porciones. Después de 5-10 minutos se añade gota a gota yodometano (0,19 ml, 3,0 mmoles), y la mezcla de reacción resultante se calienta a temperatura ambiente y se agita durante 4 horas. Se añade EtOAc y la reacción se extingue cuidadosamente con agua. Las fases se separan y la fase orgánica se seca (Na₂SO₄), se filtra y se evapora dando un residuo aceitoso marrón. La purificación por cromatografía en columna de gel de sílice (gradiente de 5 % de EtOAc/Hex a 20 % de EtOAc/Hex) proporciona el compuesto del título como un aceite transparente (92 mg, 65 %).

k) (6*R*,8*R*,9*S*,13*S*,14*S*,17*S*)-6-(6-metoxihexil)-3,17-bis(metoximetoxi)-13-metil-7,8,9,11,12,13,14,15,16,17-decahidro-6*H*-ciclopenta[*a*]fenantreno - Una mezcla del compuesto en j) (90 mg, 0,19 mmoles) y 10 % de Pd/C (100 mg) en 5-10 ml de acetato de etilo se agita bajo un balón de H₂ (g) durante 16 horas a temperatura ambiente. La mezcla se filtra a través de Celite, y el Celite se lava bien con acetato de etilo. El filtrado se concentra a vacío dando el compuesto del título como un aceite transparente (90 mg, 99 %).

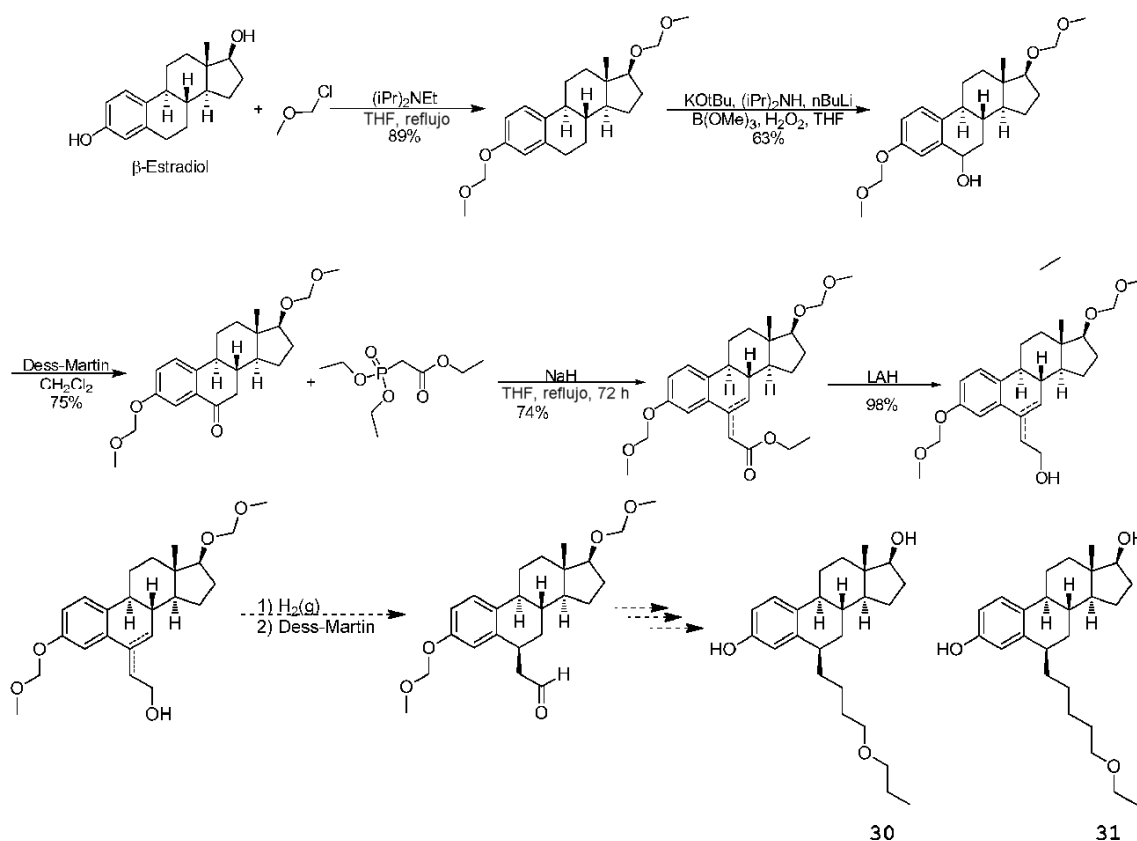
l) (6*R*,8*R*,9*S*,13*S*,14*S*)-6-(6-metoxihexil)-13-metil-7,8,9,11,12,13,14,15,16,17-decahidro-6*H*-ciclopenta[*a*]fenantreno-3,17-diol (compuesto comparativo **21**) - Una disolución del compuesto de k) (90 mg, 0,19 mmoles) en 1,5 ml de cada uno de HCl 6 N y THF se agita durante 5 horas a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se diluye con agua y se extrae con EtOAc (2x). Los extractos orgánicos combinados se secan (Na₂SO₄), se filtran y se evaporan a vacío dando un residuo aceitoso claro. La purificación por cromatografía en columna de gel de sílice (gradiente de CH₂Cl₂ a 30 % de EtOAc/CH₂Cl₂) proporcionó el compuesto comparativo **21** como una espuma sólida blanca (38 mg, 52 %).

Ejemplo 6

Métodos de preparación de los compuestos 30 y 31

Los compuestos 30 y 31 se preparan según el Esquema 4 (se proporcionan los rendimientos reales).

Esquema 4



Ejemplo 7

Métodos de determinación de la capacidad de unión de receptores de estrógeno usando actividad de luciferasa.

5 Se mantienen células de riñón CV-1 negativas para el receptor de estrógeno en medio Eagle modificado por Dulbecco con 4,5 g/l de glucosa complementada con 10 % de suero bovino fetal y 100 unidades/ml de penicilina-estreptomicina a 37 °C en una atmósfera humidificada con 5 % de CO₂. Las células se siembran entonces en placa de 6 pocillos a una densidad de 2 x 10⁵ células por pocillo en medio Eagle modificado por Dulbecco libre de rojo de fenol que contiene 10 % de suero bovino fetal tratado con carbón vegetal-dextrano. Las células CV-1 se transfectan usando el reactivo LipofectAMINE según el protocolo del fabricante. Transfecciones que contenían 1,5 ug de plásmido indicador (que contiene ERE-tk-luciferasa que contiene un único ERE clonado en la dirección 5' del promotor de timidina cinasa y el gen de luciferasa) y 0,5 ug de tanto el vector de expresión ER α como ER β (que contienen la secuencia codificante de longitud completa de CMV-ER α o CMV-ER β , respectivamente). Al día siguiente, las células no reciben tratamiento (controles) o se tratan con estradiol solo (1 nM) o estradiol más un compuesto de la invención (a concentraciones variables). Después de 16-24 horas, las células se recogen y se ensayan para actividad de luciferasa.

Al comienzo, monocapas de células se lavan dos veces con solución salina tamponada con fosfato fría en hielo y se incuban durante 15 minutos en 250 μ l de 1X reactivo de lisis de cultivo celular (Promega, Madison, WI). Los extractos de células se transfieren a un tubo nuevo y se ensayan usando el sistema de ensayo de luciferasa (Promega). Para cada ensayo, se diluyen 10 μ l de extracto con 90 μ l de 1X reactivo de lisis de cultivo celular. La luminiscencia se lee usando un luminómetro AutoLumat LB953.

Un compuesto o una sal del mismo, que se identifica por el ensayo de unión descrito en el presente documento, es un compuesto que inhibe la unión de estradiol en el sitio de unión del ligando de los receptores de estrógeno. Específicamente, es un compuesto o una sal del mismo que se prevé que produzca la estasis de la proliferación celular y, por consiguiente, ejerce su actividad farmacológica.

Las células CV-1 se transfectan con dos construcciones de plásmido, la construcción indicadora ERE-tk-luciferasa y una construcción de CMV-ER- β . Las células de control (Ctrl) transfectadas CV-1 no reciben tratamiento mientras que las células tratadas con estradiol reciben estradiol (E2) añadido solo a 10⁻⁹ M (1 nM). En el caso de los compuestos de la invención, cada compuesto es respectivamente cualquiera añadido solo a 10⁻⁸ M (10 nM) o a 10⁻⁸ M más estradiol 10⁻⁹ M (E2).

Ejemplo 8

Método de determinación de los valores de CI₅₀ de los compuestos candidatos.

Las líneas celulares enumeradas se mantienen a aproximadamente 5 % de CO₂, 37 °C, 95 % de humedad relativa en los medios apropiados para esa línea celular. Las células se subcultivan cada dos a tres días y se siembran en placas de 96 pocillos de fondo claro a una densidad de 1 x 10⁴ células/pocillo y se incuban a aprox. 5 % de CO₂, 37 °C, durante la noche antes del inicio del ensayo. Para empezar los ensayos de viabilidad celular, el medio en la placa de células (100 μ l) se sustituye por medio nuevo (100 μ l). Los artículos de prueba se diluyen sucesivamente 1:2 en medio nuevo por duplicado y se añaden a las células (100 μ l) a concentraciones de muestra final de 0,46, 1,37, 4,12, 12,35, 37,04, 111,1, 333,3 y 1000 μ M (\leq 1 % de DMSO) en un volumen total de 200 μ l. Se usan pocillos que no contienen células y pocillos que contienen células lisadas con 0,1 % de Triton-X para los controles de referencia. Se usa tamoxifeno como control conocido para cada ensayo y el DMSO solo se ejecutará como control de vehículo. Las muestras se incuban a aprox. 37 °C en atmósfera humidificada de 5 % de CO₂ durante 72 horas. La placa se monitoriza una vez al día durante el periodo de incubación, prestando especial atención al nivel de confluencia. Si las células se aproximan a la confluencia antes del final del periodo de incubación de 72 horas, el experimento se termina y se mide la viabilidad celular como se describe a continuación.

La viabilidad celular se determina usando un kit comercialmente disponible para determinar niveles de ATP por luminiscencia. Brevemente, la placa de células tiene los medios eliminados y sustituidos con 100 μ l de medio fresco, y el tampón y el sustrato liofilizado se equilibran a temperatura ambiente. El tampón se usa para reconstituir el sustrato justo antes de la adición a los pocillos de la placa de células (100 μ l por pocillo). La placa se dispone en el lector de placas Infinite M200, se deja con agitación durante 10 minutos, seguido de un periodo de espera de 10 minutos. La placa se lee entonces usando un tiempo de integración de 0,5 s sin atenuación.

Se restan los controles de referencia medios (pocillos con Triton X-100 o sin células) de la luminiscencia total para dar la luminiscencia neta para ese pocillo. Este total se compara con el control de DMSO solo. Se calcula una CI₅₀ como la concentración que condujo a una respuesta del 50 % en comparación con las células de control de vehículo. Por consiguiente, aquellos expertos habituales en la materia pueden apreciar que la configuración R (en C-6) de la composición presentemente reivindicada es superior a la de otros estereoisómeros.

La Tabla IV da la CI₅₀ en diversas líneas celulares para los compuestos desvelados en el presente documento.

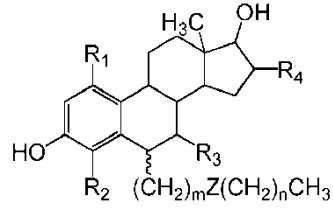
ES 2 568 941 T3

Los resultados para los compuestos 3, 4, 10, 18 y 23 se proporcionan a continuación para fines de comparación.

Tabla IV			
Compuesto	CI50 pulmón (A549)	CI50 ovario (Ovcar-3)	CI50 Páncreas (Capan-1)
18	139 uM (91 %)	207 uM (89 %)	192 uM (85 %)
4	70 uM (97 %)	100 uM (95 %)	32 uM (93 %)
3	84 uM (95 %)	94 uM (90 %)	168 uM (80 %)
19	80 uM (98 %)	96 uM (98 %)	32 uM (90 %)
20	34 uM (99 %)	60 uM (99 %)	16 uM (99 %)
21	17 uM (100 %)	24 uM (100 %)	23 uM (100 %)
22	13 uM (100 %)	20 uM (100 %)	22 uM (100 %)
10	170 uM (87 %)	317 uM (52 %)	277 uM (66 %)
23	1000 uM (7 %)	1000 uM (35 %)	775 uM (65 %)
30	5 uM (100 %)	29 uM (100 %)	10 uM (100 %)
31	7 uM (100 %)	28 uM (100 %)	15 uM (100 %)

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula:




5

en la que

10 R₁, R₂, R₃ y R₄ son hidrógeno
 m es un número entero de 2-8;
 n es un número entero de 0-3;
 Z es -O-;

15 en el que tanto el metilo en C-13 como el hidroxilo en C-17 están en configuración (S);
 y

el símbolo  representa cualquier tipo de enlace independientemente de la estereoquímica; y los respectivos hidratos, solvatos y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

20 2. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de la reivindicación 1 y un vehículo farmacéuticamente aceptable.