

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 604 079**

51 Int. Cl.:

A61K 31/56 (2006.01)

C07J 1/00 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **29.11.2007 PCT/US2007/085913**

87 Fecha y número de publicación internacional: **05.06.2008 WO08067450**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **29.11.2007 E 07868944 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **07.09.2016 EP 2099460**

54 Título: **Derivados de 6-alcoxialquil estradiol y métodos de uso**

30 Prioridad:

30.11.2006 US 867980 P

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

02.03.2017

73 Titular/es:

**ENDECE, LLC (100.0%)
1001 WEST GLEN OAKS LANE SUITE 105B
MEQUON, WI 53092, US**

72 Inventor/es:

YARGER, JAMES

74 Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

ES 2 604 079 T3

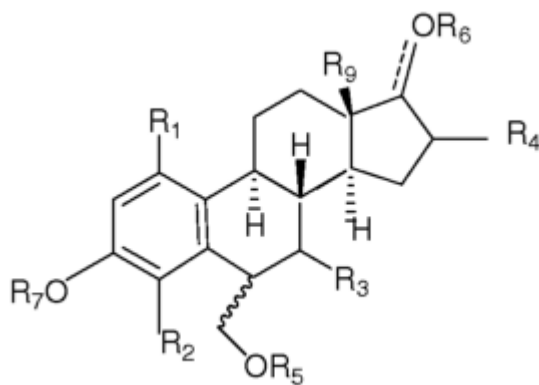
Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar 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 6-alcoxilalquil estradiol y métodos de uso

5 **Campo de la invención**

La presente divulgación se refiere a composiciones y métodos para preparar compuestos de 6-alcoxilalquil estradiol con la fórmula general (I) y en particular de compuestos (R o S) 6 hidroximetil- o (R o S) 6-metiloximetil-(8 R o S, 9S, 13 R o S, 14S, 17 R o S)-13-metil-7,8,9,11,12,14,15,16,17-decehidrocilopenta [a] fenantreno-3, 17-diol y sus sales farmacéuticamente aceptables, o sus profármacos. La presente invención pertenece también a las composiciones farmacéuticas que comprenden dichos compuestos, tanto in vitro como in vivo, para aplicaciones diagnósticas y el tratamiento de dolencias proliferativas, tales como cáncer.



Fórmula (I)

Antecedentes de la invención

Los trastornos celulares proliferativos tales como tumores y tumores malignos primarios {en el presente documento, cáncer(es)} en particular son problemáticos dada su tendencia a invadir los tejidos circundantes y metastatizar órganos distantes en el cuerpo. Hasta la fecha, los métodos más frecuentemente utilizados para tratar la neoplasia, especialmente las formas tumorales sólidas de neoplasia, incluyen procedimientos quirúrgicos, radioterapia, tratamientos con fármacos, y combinaciones de los anteriores.

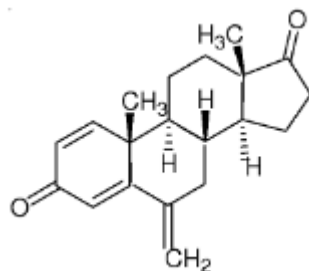
Se diagnostican anualmente aproximadamente un millón de casos de cáncer, y el cáncer provoca más de un millón y medio de muertes en Estados Unidos cada año, existe una necesidad creciente de nuevas modalidades terapéuticas frente a dicha dolencia. Los cánceres de próstata, pulmón y colorrectal siguen siendo los cánceres más comunes entre los varones; mientras que los cánceres de mama, colorrectal y de pulmón son los cánceres más comunes entre las mujeres.

En los últimos años se han producido mejoras significativas en la gestión de estas dolencias. Al menos una de las historias de éxito en la gestión clínica de un cáncer es el diagnóstico y el tratamiento precoces, opciones ahora disponibles para el cáncer de mama primario. Se ha mostrado eficaz la introducción de agentes antiestrógeno eficaces y no tóxicos que bloquean las acciones del estrógeno.

Tamoxifeno es principalmente uno de los primeros moduladores selectivos del receptor de estrógenos que se ha convertido en la primera línea de terapia para el tratamiento hormonal del cáncer de mama, tanto para el tratamiento complementario como para el tratamiento de la enfermedad metastásica. Tamoxifeno es un inhibidor competitivo de la unión de estradiol al receptor de estrógeno que inhibe su unión a estrógeno con el elemento de unión a estrógeno en el ADN. Además, existe un creciente interés en el uso de inhibidores de la aromatasa que bloqueen específicamente la producción local de estrógenos que puedan contribuir sustancialmente a enfermedades sensibles a hormonas tales como el cáncer de mama. Se describe la aromatasa (CYP19) como la principal enzima que convierte andrógenos en estrógenos en mujeres premenopáusicas y postmenopáusicas. La privación de estrógenos debida a la inhibición de la aromatasa se describe como un tratamiento eficaz y selectivo para algunas pacientes postmenopáusicas con cáncer de mama dependiente de hormonas. El exemastano (que se vende como Aromasin, se describe químicamente como 6-metilenandrosta-1,4-dieno-3,17-diona) y actúa como un inactivador irreversible de aromatasa. Se cree que actúa como un falso sustrato para la enzima aromatasa, y se procesó en un compuesto intermedio que se une irreversiblemente al sitio activo de la enzima produciendo su inactivación. Las patentes de Estados Unidos con números 4.808.616, y 4.904.650, divulgan derivados de 6-alquilidenandrosta-1,4-dieno-3,17-diona, tales como exemastano, y los métodos de prepararlo. La patente de Estados Unidos N.º 4.876.045 divulga un método de preparación de derivados 6-metileno de androsta-1,4-dieno-3,17-dionas. La patente de Estados Unidos N.º 4.990.635 divulga un proceso para la preparación de derivados 6-metileno de androsta-1,4-dieno-3,17-dionas.

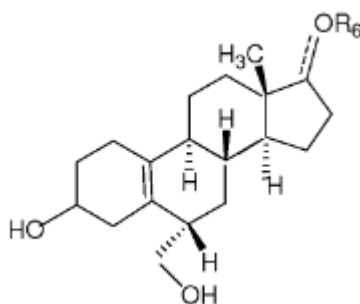
En la patente de estados Unidos N.º 3.274.176 se divulga la preparación de compuestos intermedios que pueden ser útiles en la preparación de exemestano. En la patente alemana DD 258820 se prepara la 6-hidroximetil-androsta-1,4-dieno-3,17-diona a partir de androsta-1,4-dieno-3,17-diona mediante 1,3-dipirrolidinoandrosta-3,5-dien-17-ona.

- 5 La solicitud de patente internacional en tramitación junto con la presente con n.º PCT/US2005/001248 presentada el 14 de enero de 2005 (Número de Publicación PCT WO 2005/070951) describe también la preparación de compuestos intermedios que son útiles en la preparación de exemestano. A continuación se muestra la estructura de exemestano.



10

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



15

donde el símbolo $\equiv$ representa un doble enlace, denota que está presente un grupo ceto y no R₆; y donde el símbolo --- representa un enlace simple R₆ es hidrógeno (es decir, un grupo alcohol). A diferencia de los compuestos de la presente invención, los compuestos de Schneider no abarcan las variaciones estrodiales, la tetastrona o la dihidrotetastrona.

20

Se divulga un derivado de estranos sustituido con trihidroxilo en la patente de Estados Unidos N.º 3.377.363 de Tadanier et. al, y no se divulga el sustituyente 3 hidroxilo en el anillo aromático de los presentes compuestos.

- 25 La patente de Estados Unidos N.º 5.914.324 de De Funari et. al. divulga derivados de 6 hidroxilo y oxiandrostano para la hipertensión y la insuficiencia cardíaca. La patente de Estados Unidos N.º 6.384.250 de Gobbini, et al., divulga los sustituyentes de hidroxilo y cetona en la posición 6 en la preparación de la (E,Z) 3-(2-aminoetoxiimino)-androsta-6,17-diona. Estos compuestos se dirigen al tratamiento de la insuficiencia cardíaca. No se divulgan los efectos de la sustitución alquilhidroxilo en la posición 6.

30

Tanenbaum, et. al, "Crystallographic comparison of the estrogen and progesterone receptor's ligand binding domains", Proc. Natl. Acad. Sci. USA, Biochemistry, Vol. 95(1998), pp. 5998-6003, divulga el mecanismo de los receptores ER e indica que el estradiol que contiene un anillo aromático con un sustituyente 3-hidroxilo se une bien a la región de unión al ligando de ER. Se divulga que se favorece un grupo aromático plano sin el sustituyente metilo 19. Dado lo anterior, sigue existiendo la necesidad de identificar agentes nuevos y eficaces para tratar el cáncer.

35

Buzzettiet al., "Synthesis and aromatase inhibition by potential metabolites of exemestane (6-methylenandrosta-1,4-diene-3,17-dione)", Steroids, 1993, vol. 58, pp. 527-532 describe la síntesis y el ensayo de algunos metabolitos potenciales de exemestano; se descubrió que todos ellos eran menos potentes que exemestano para inhibir la aromatasa. Los compuestos incluyen una funcionalidad cetona en la posición 3.

40

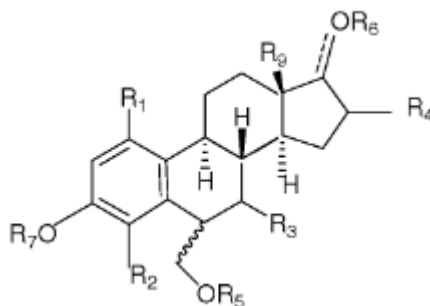
Sumario de la invención

En vista de lo anterior, la presente invención se dirige a compuestos quimioterapéuticos, composiciones y su uso y preparación, superando por tanto varias deficiencias e inconvenientes de la técnica anterior, incluyendo los

45

anteriormente reseñados.

Un aspecto de la presente invención se refiere a un compuesto de Fórmula I.



Fórmula (I)

en el que R₁, R₂, R₃, R₄, R₆, R₇ y R₉ son independientemente hidrógeno, alquilo C₁ a C₆ o alquilo sustituido, halógeno, sulfato, o restos de glucurónido; y el símbolo --- representa o bien un enlace simple o bien un doble enlace y cuando el símbolo -- es un doble enlace y forma un grupo ceto en la posición 17, entonces R₆ no está presente; R₅ es alquilo C₁ a C₆ o alquilo sustituido;

y el símbolo ~~~~ representa cualquier tipo de enlace independientemente de la estereoquímica. Los compuestos abarcan también los enantiómeros, otros isómeros estereoquímicos, hidratos, solvatos, tautómeros y las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

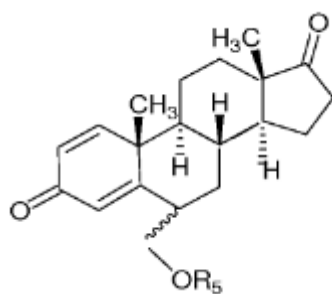
La presente invención se refiere a un compuesto de la invención para su uso en el tratamiento del cáncer en un sujeto mamífero (por ejemplo, un paciente humano). En este aspecto de la invención, se proporcionan compuestos para inhibir el crecimiento de células tumorales o cancerosas en el sujeto mamífero. Las células se expusieron o entraron en contacto con un compuesto de Fórmula (I) o los enantiómeros farmacéuticamente aceptables, otros isómeros estereoquímicos, hidratos, solvatos, tautómeros, o sales de los mismos, como se muestra en el presente documento. En una realización específica no limitante de la presente invención, se utiliza un compuesto de fórmula (I) para tratar e identificar terapéuticamente una patología cancerosa como se describe en el presente documento. En otra realización específica no limitante de la presente invención, se usa una composición que comprende un compuesto de Fórmula (I) para tratar e identificar terapéuticamente una patología cancerosa como se describe en el presente documento.

Los compuestos de la presente invención pueden utilizarse para tratar cualquier tumor que pueda verse afectado o bien directa o bien indirectamente por la actividad hormonal y/o la actividad relacionada con estrógeno, incluyendo, pero sin estar limitado de forma alguna a los tumores sólidos asociados con cánceres de mama, páncreas, pulmón, colon, próstata, ovárico, así como cánceres de cerebro, hígado, bazo, riñón, ganglios linfáticos, intestino delgado, células sanguíneas, hueso, estómago, endometrio, testículo, ovario, del sistema nervioso central, piel, de cabeza y cuello, esófago, o cáncer de médula ósea; así como cánceres hematológicos, tal como leucemia, leucemia promielocítica aguda, linfoma, mieloma múltiple, mielodisplasia, enfermedad mieloproliferativa, o anemia resistente.

Los compuestos de la presente invención pueden utilizarse también junto con tratamientos terapéuticos combinados contra el cáncer en un sujeto mamífero. Dichos métodos pueden comprender la administración de un compuesto de Fórmula (I) junto con otros tratamientos complementarios contra el cáncer, como quimioterapia, radioterapia, terapia génica, tratamiento hormonal y otros tratamientos contra el cáncer conocidos en la técnica.

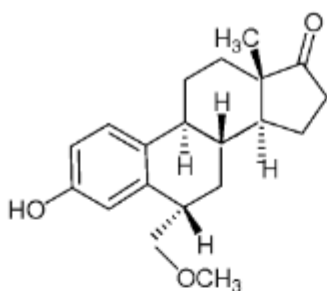
En los métodos de tratamiento de la presente invención, el término "administrar" debe abarcar el tratamiento de las diversas dolencias descritas con el compuesto divulgado específicamente o con un compuesto que puede no divulgarse específicamente, pero que se convierte en el compuesto especificado *in vivo* tras su administración al paciente y presenta actividad terapéutica.

Se describe también la inhibición del crecimiento de células cancerosas que comprende proporcionar a un paciente un fármaco de Fórmula (III) en el que R₅ es un metilo o hidrógeno;

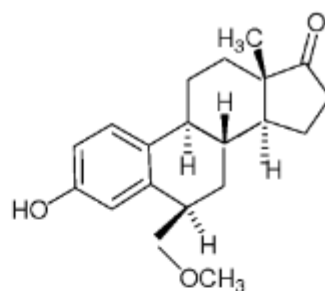


Fórmula (III)

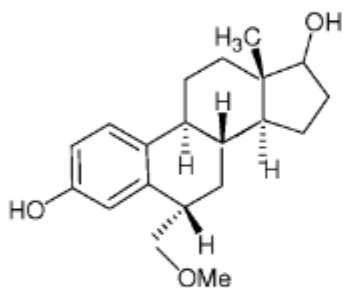
- 5 y formar metabolitos de fórmula (IV), (V), (VI), (VII) y (VIII) en el que cualquiera de R₃, R₄, R₅, R₇, R₈ puede ser metilo o hidrógeno. Dichos metabolitos incluirían por ejemplo las estructuras que se muestran a continuación:



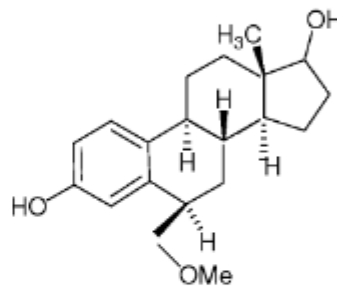
(IV) A - NDC-1088



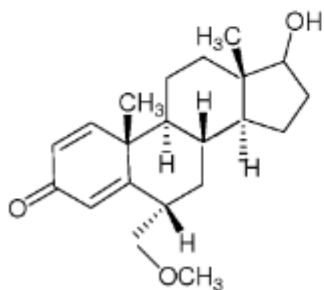
(IV) B - NDC-1099



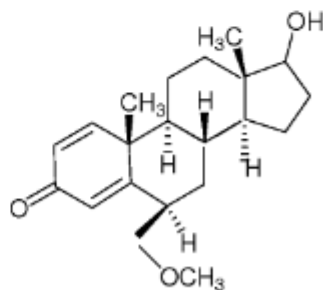
(V) A - NDC-1033



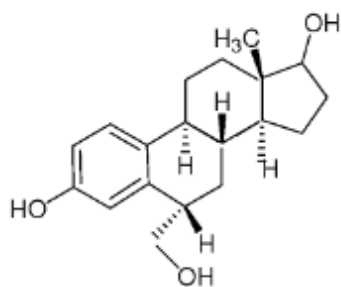
(V) B - NDC-1022



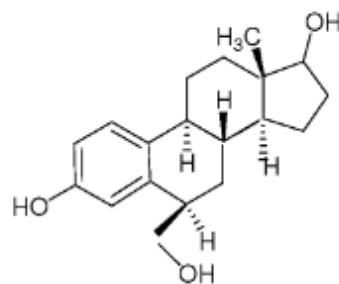
(VI) A - NDC-1110



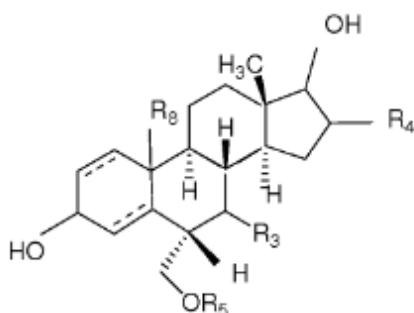
(VI) B - NDC-1044



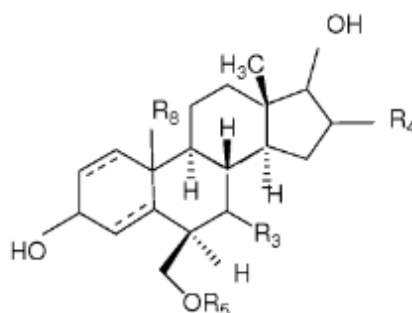
(VII) A - NDC-1066



(VII) B - NDC-1055



Fórmula (VIII-A)



Fórmula (VIII)

Otros objetivos, características, beneficios y ventajas de la presente invención serán evidentes a partir de este resumen y las siguientes descripciones de determinadas realizaciones, y serán fácilmente evidentes para los expertos en la materia que tienen el conocimiento de diversos compuestos quimioterapéuticos, los métodos y/o modos de funcionamiento.

Breve descripción de los dibujos

La Figura 1- muestra la ruta biosintética del estradiol.

La Figura 2- muestra la ruta metabólica prevista de los presentes compuestos.

La Figura 3- muestra el efecto de NDC-1011, NDC-1022, NDC-1033, NDC-1044, NDC-1055 y NDC-1066 sobre la actividad del receptor beta de estrógenos (ER-β) medido por la expresión de la luciferasa (URL= unidades relativas de luz). Se transfectaron células CV-1 con dos constructos de plásmido, el constructo indicador ERE-tk-luciferasa y un constructo CMV-ER-β. Las células CV-1 transfectadas del control (Ctrl) no recibieron tratamiento mientras que las células tratadas con estradiol (E2) recibieron solo estradiol añadido a $10^{-9}M$ (1 nM). En el caso de los compuestos NDC, cada compuesto se añadió respectivamente o bien solo a una concentración de estradiol de $10^{-8}M$ (10 nM) (como resulta evidente en la columna izquierda para cada compuesto de ensayo) o bien a estradiol $10^{-8}M$ más $10^{-9}M$ (E2) (como resulta evidente en la columna derecha para cada compuesto de ensayo).

La Figura 4- muestra el efecto de NDC-1011, NDC-1033, NDC-1055 y NDC-1066 sobre la actividad del receptor alfa de estrógenos (ER-α) medido por la expresión de la luciferasa (URL= unidades relativas de luz). Se transfectaron células CV-1 con dos constructos de plásmido, el constructo indicador ERE-tk-luciferasa y un constructo CMV-ER-α. Las células CV-1 transfectadas del control (Ctrl) no recibieron tratamiento cuando el estradiol se añadió solo (E2) a $10^{-9}M$ (1 nM). En el caso de los compuestos NDC, cada compuesto se añadió respectivamente o bien solo a una concentración de estradiol de $10^{-8}M$ (10 nM) (como resulta evidente en la columna izquierda para cada compuesto de ensayo) o bien a estradiol $10^{-8}M$ más $10^{-9}M$ (E2) (como resulta evidente en la columna derecha para cada compuesto de ensayo).

La Figura 5 muestra los datos de inhibición del crecimiento de la Cl_{50} (en IM) para NDC-1022 (columnas de la izquierda), NDC-1033 (columnas intermedias) y NDC-1044 (columnas de la derecha) determinados para cada una de las líneas de células HT-29, SK-OV-3, NCI-H23, MCF-7, MDA-MB231, OVCAR-3, CAPAN-1, CAPAN-2, SH-SY5Y, A-549 y PC-3.

La Figura 6 muestra los datos numéricos de la Cl_{50} (en μM) para la inhibición del crecimiento de NDC-1022, NDC-1033 y NDC-1044 determinados para en cada una de las líneas de células HT-29, SK-OV-3, NCI-H23, MCF-7, MDA-MB-231, OVCAR-3, CAPAN-1, CAPAN-2, SHSY5Y, A-549 y PC-3.

Descripción detallada de la invención

Salvo que se defina de otra manera, todos los términos técnicos y científicos utilizados en el presente documento tienen el mismo significado que el que entiende comúnmente una persona normalmente experta en la técnica a la cual pertenece la presente invención y debe entenderse que tienen los significados descritos a continuación. Salvo que se especifique otra cosa, una referencia a un compuesto particular incluye todas esas formas isoméricas, incluyendo las formas racémicas y sus diferentes mezclas. Salvo que se especifique otra cosa, una referencia a un compuesto concreto también incluye las formas iónicas, salinas, en forma de solvatos (por ejemplo, hidratos), las formas protegidas, profármacos, y otros isómeros de los mismos, por ejemplo, como se analiza en el presente documento.

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

Los compuestos antiproliferativos de la presente invención tienen aplicación en el tratamiento del cáncer, y de esta manera, la presente invención proporciona además agentes anticancerosos. El término "agente anticanceroso" como se usa en el presente documento, se refiere a un compuesto que trata un cáncer (es decir, un compuesto que es útil en el tratamiento de un cáncer). El efecto anticanceroso puede surgir a través de uno o más mecanismos, incluyendo, pero sin limitación, la regulación de la proliferación celular, la inhibición de la angiogénesis (la formación de nuevos vasos sanguíneos), la inhibición de la metástasis (la diseminación de un tumor a partir de su origen), la inhibición de la invasión (la diseminación de células tumorales en las estructuras normales adyacentes), o la promoción de la apoptosis (muerte celular programada).

La invención proporciona además principios activos para su uso en el tratamiento del cuerpo humano o animal mediante tratamiento. Dicho tratamiento puede comprender administrar a dicho sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de un principio activo, preferentemente en la forma de una composición farmacéutica como se analiza adicionalmente en el presente documento.

El término "tratamiento", o "terapia" tal como se usa en el presente documento en el contexto del tratamiento de una dolencia, se refiere generalmente al tratamiento y terapia de un sujeto mamífero, tanto de un animal 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 dolencia, e incluye una reducción en la velocidad de progreso, una detención en la velocidad de progreso, mejora de la dolencia y/o curación de la dolencia. Se incluye también el tratamiento como medida profiláctica. El tratamiento incluye los tratamientos y terapias combinadas, en los que se combinan dos o más tratamientos o terapias, por ejemplo, de manera secuencial o simultánea. Los ejemplos de tratamientos y terapias incluyen, pero no se limitan a, quimioterapia (la administración de principios activos, incluyendo, por ejemplo, fármacos, anticuerpos (por ejemplo, como en inmunoterapia), profármacos (por ejemplo, empleando grupos protectores que incluyen derivados de ácido fosfórico y fosfinatos en posiciones adecuadas tales como la posición 3 o 17, otros compuestos utilizados por la terapia fotodinámica, GDEPT, ADEPT, etc.); cirugía; radioterapia; y terapia génica.

El término "isómero estereoquímico", como se usa en el presente documento, se refiere a isómeros que difieren entre sí solo en la forma en que los átomos están orientados en el espacio. Los dos estereoisómeros de particular importancia en la presente invención son enantiómeros y diastereómeros dependiendo tanto si los dos isómeros como si no son imágenes especulares entre sí. En la realización preferida, las formulaciones reivindicadas comprenden dichos compuestos que se encuentran aislados, resueltos y están "sustancialmente exentos de los otros isómeros".

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

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

El término "región de un paciente" se refiere a una zona o parte concreta del paciente que padece un trastorno proliferativo, cáncer o tumor y en algunos casos en regiones del paciente completo. Ilustrativas de dichas regiones están la región pulmonar, la región gastrointestinal, la región de la mama, la región renal, así como otras regiones corporales, tejidos, linfocitos, receptores, órganos y similares, incluyendo la vasculatura y el sistema circulatorio y el tejido canceroso. "Región de un paciente" incluye, por ejemplo, las regiones que se van a tratar con los compuestos y composiciones divulgados. La "región de un paciente" es preferentemente interna, aunque puede ser externa.

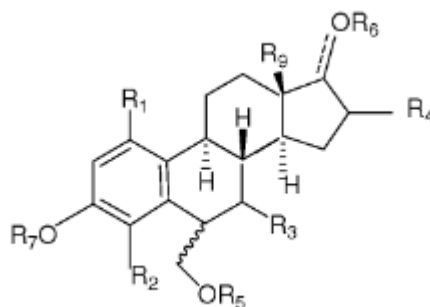
El término "tejido" se refiere generalmente a células especializadas que pueden llevar a cabo una función concreta. El término "tejido" puede referirse a una célula individual o a una pluralidad o a agregados de células, por ejemplo,

membranas, sangre u órganos. El término "tejido" incluye también referencias a una célula anómala o a una pluralidad de células anómalas. Los tejidos ilustrativos incluyen tejido de mama, incluyendo células mamarias, tejidos membranosos, incluyendo endotelio y epitelio, láminas, tejido conectivo, incluyendo tejido intersticial y tumores.

5

Compuestos

La presente invención se dirige a un compuesto quimioterapéutico de Fórmula (I):



10

Fórmula (I)

15

en el que R₁, R₂, R₃, R₄, R₆, R₇ y R₉ son independientemente hidrógeno, alquilo C₁ a C₆ o alquilo sustituido, halógeno, sulfato, o restos de glucurónido; y el símbolo --- representa o bien un enlace simple o bien un doble enlace y cuando el símbolo = es un doble enlace y forma un grupo ceto en la posición 17, entonces R₆ no está presente; R₅ es alquilo C₁ a C₆ o alquilo sustituido;

20

y el símbolo ~~~~~ representa cualquier tipo de enlace independientemente de la estereoquímica. Los compuestos abarcan también los enantiómeros, otros isómeros estereoquímicos, hidratos, solvatos, tautómeros y las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

25

En una realización de Fórmula I, R₅, R₆, R₇, R₉ son átomos de hidrógeno, metilo o Cl; R₁, R₂ es hidrógeno o metilo; R₃, R₄ es alquilo C₁ a C₆ o alquilo sustituido, halógeno y es un enlace simple correspondiente al grupo alcohol. En otra realización, la estereoquímica del carbono C-6 comprende un enantiómero S o R o diastereómeros.

30

Los compuestos de realización de la presente invención se pueden usar en una composición farmacéutica. Dicha composición puede comprender uno o más compuestos seleccionados entre los descritos anteriormente, ilustrados a continuación o inferidos de otra forma en el presente documento, y combinaciones de los mismos. En determinadas realizaciones, dicha composición puede comprender un vehículo farmacéuticamente aceptable. Sin limitación, dicha composición puede comprender una mezcla racémica de compuestos. En determinadas realizaciones, dicho compuesto puede estar presente como enantiómero S y R, preferentemente su forma aislada y purificada que está sustancialmente exenta de otros isómeros, y R₅, o R₇ se pueden seleccionar entre H, alquilo C₁ a C₆ o alquilo sustituido y un halógeno.

35

Los compuestos de la presente invención pueden tener centros asimétricos y pueden producirse como racematos, mezclas racémicas o como diastereómeros o enantiómeros individuales tales como (S)-6-metiloximetil(8S, 9S, 13S, 14S, 17S)-13-metil-7,8,9,11,12,14,15,16,17-decehidrocilopenta [a] fenantreno-3, 17-diol; (R)-6-metiloximetil(8S, 9S, 13S, 14S, 17R)-13-metil-7,8,9,11,12,14,15,16,17-decehidrocilopenta [a] fenantreno-3, 17-diol; (R)-6-metiloximetil(8R, 9S, 13R, 14S, 17R)-13-metil-7,8,9,11,12,14,15,16,17-decehidrocilopenta [a] fenantreno-3, 17-diol (NDC-1022); o (S)-6-metiloximetil(8R, 9S, 13R, 14S, 17R)-13-metil-7,8,9,11,12,14,15,16,17-decehidrocilopenta [a] fenantreno-3, 17-diol (NDC-1033).

40

45

Se describe también en el presente documento la preparación de enantiómeros R o S, diastereómeros R o S de estradiolos 6 sustituidos. Los métodos para la preparación (por ejemplo, síntesis asimétrica) y separación (por ejemplo, cristalización fraccionada y medios cromatográficos) de tales formas isoméricas se conocen generalmente en la técnica o se obtienen fácilmente adaptando los métodos enseñados en el presente documento. Se describe una de las mencionadas metodologías en la solicitud de patente de los estados unidos en tramitación junto con la presente SN 11/541.987.

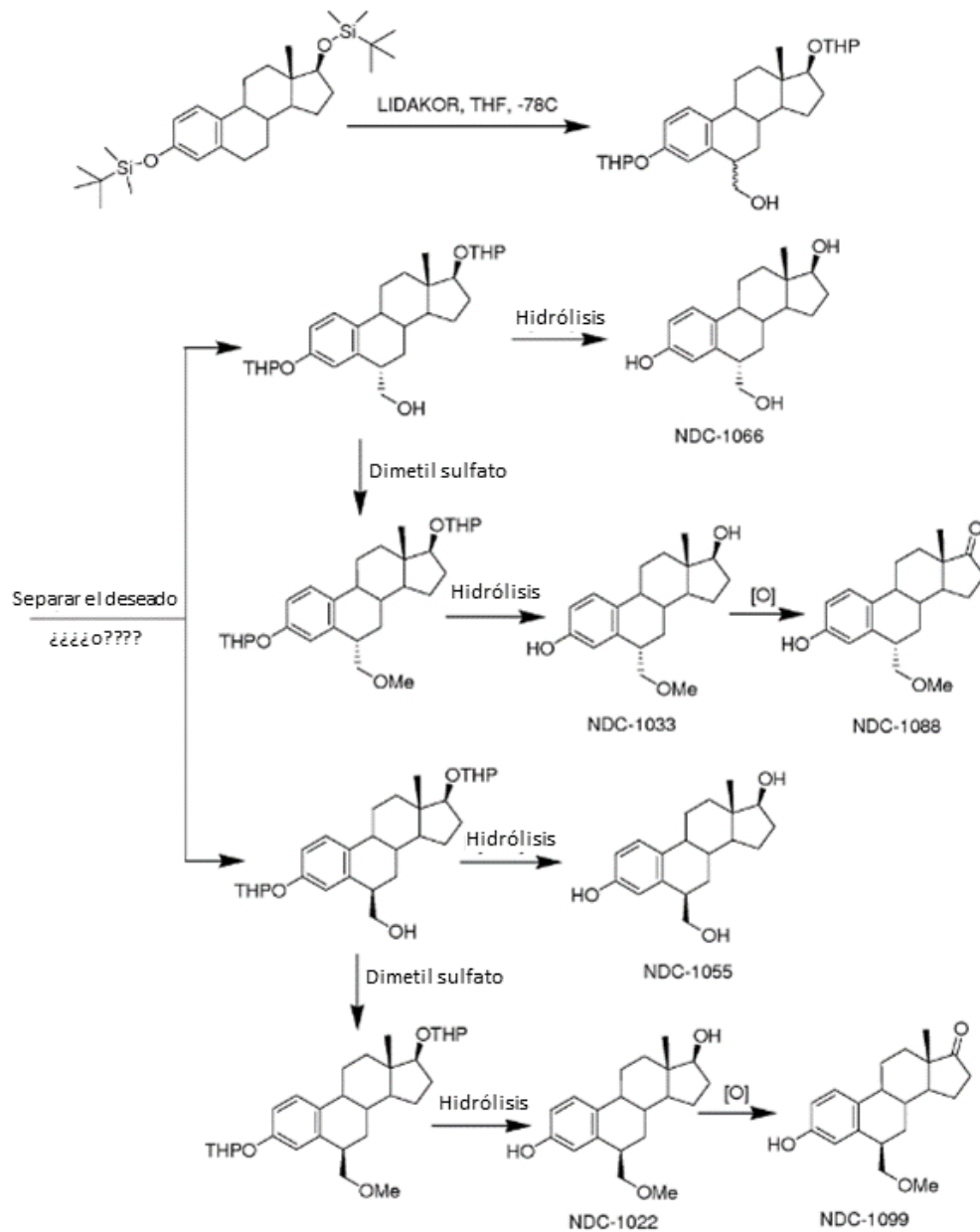
50

Se describe también en el presente documento un método para preparar un 6-hidroximetil o 6-metiloximetil derivado de estradiol. Se proporciona a continuación un esquema de reacción para preparar derivados de estradiol, Esquema 1. Dicho método puede comprender la reacción del derivado de t-butildimetilsililo de estradiol con LIDAKOR/THF/formaldehído para obtener un compuesto 6-hidroxilado seguido por etapas tales como:

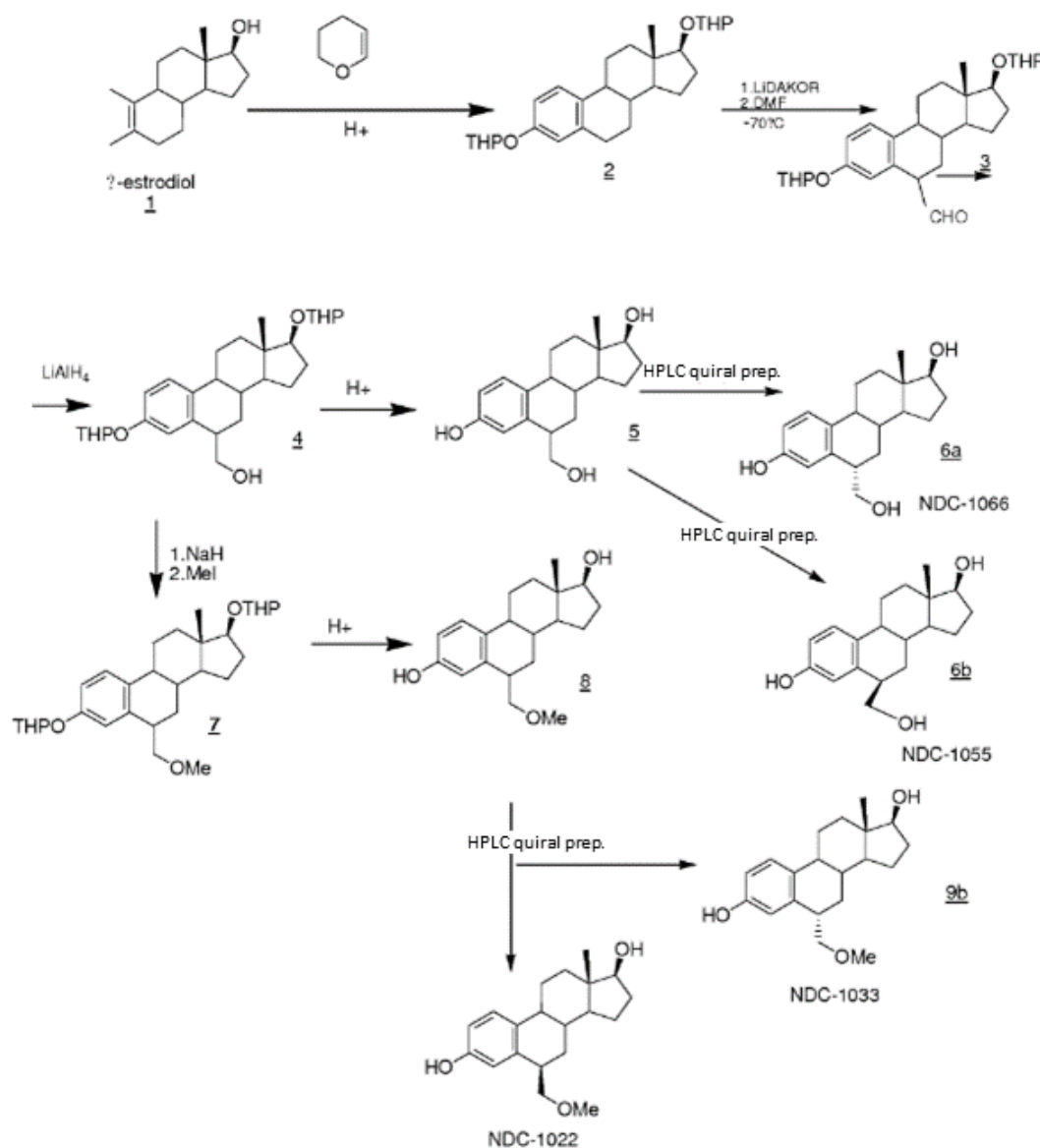
(i) hidrólisis para obtener el derivado 6-hidroximetilo de estradiol, NDC-1066; y/o (ii) tratamiento con dimetilsulfato seguido por hidrólisis para obtener el derivado 6-metiloximetilo de estradiol, NDC-1033. NDC-1088 se puede obtener mediante oxidación adicional de NDC-1033 en la posición del hidroxilo C-17.

5 En una solución alternativa, los compuestos de la presente invención se pueden preparar también por un método que comprende etapas tales como: (i) proteger un compuesto estrodial, (ii) acilar el compuesto de estradiol protegido en la posición 6 del bencílico con LIDAKOR/Butilitio/Diisopropilamina/terc-amilato de potasio, (iii) reducir el aldehído de la posición 6 con hidruro de aluminio y litio, (iv) desproteger las regiones protegidas del compuesto estrodial. Se proporciona a continuación en el esquema 2 un esquema de reacción para preparar derivados de estradiol.

10 Se pueden sintetizar los compuestos de la presente invención mediante los siguientes métodos, como se representa en los siguientes esquemas:

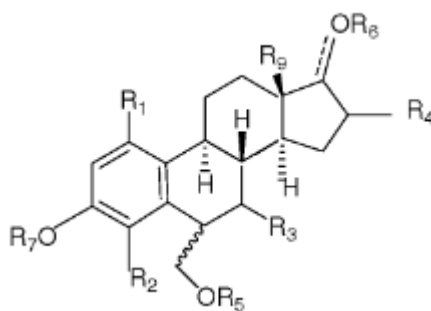


Esquema 2 – Métodos alternativos para preparar los compuestos de la invención



- 5 Diversos derivados de metiloxialquilo, de acuerdo con la presente invención, están limitados solo por la elección del agente alquilante, dichos derivados según entendería un experto en la técnica conocedor de la presente invención, están disponibles a través de procedimientos sintéticos del tipo descrito en el presente documento o de sus modificaciones directas, así como dichas modificaciones como apreciarán los expertos en la materia. De acuerdo con ello, sin limitación, diversos alquilo C₁ a C₆ y alquilo sustituidos reactivos (por ejemplo, alquilo C₁ a C₆ lineal, 10 lineal sustituido, ramificado y ramificado sustituido, dichos mencionados sustituyentes según se entendería en la técnica) se pueden utilizar como se describe en el presente documento para preparar los derivados de metiloxialquilo correspondientes.

15 La presente invención se refiere a un compuesto de la invención para su uso en el tratamiento del cáncer en un sujeto mamífero (por ejemplo, un paciente humano). En este aspecto de la invención, se proporcionan compuestos para inhibir el crecimiento de células tumorales o cancerosas. En dichos aspectos, las células se exponen o entran en contacto con un compuesto de Fórmula (I) o las sales o hidratos farmacéuticamente aceptables de los mismos:



Fórmula (I)

en el que R₁, R₂, R₃, R₄, R₆, R₇ y R₉ son independientemente hidrógeno, alquilo C₁ a C₆ o alquilo sustituido, halógeno, sulfato, o restos de glucurónido; y el símbolo --- representa o bien un enlace simple o bien un doble enlace y cuando el símbolo = es un doble enlace y forma un grupo ceto en la posición 17, entonces R₆ no está presente; R₅ es alquilo C₁ a C₆ o alquilo sustituido;

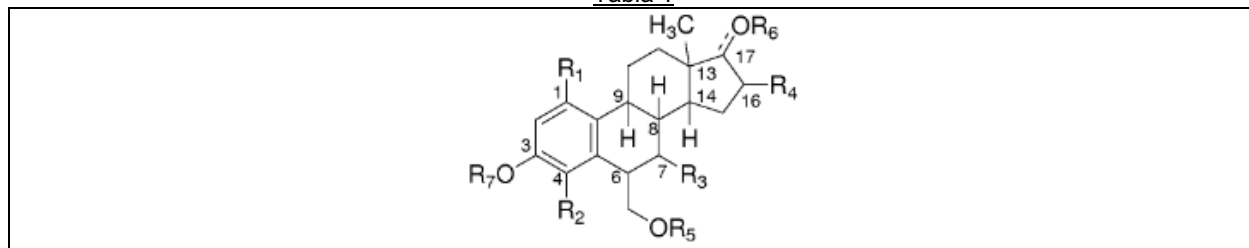
y el símbolo --- representa cualquier tipo de enlace independientemente de la estereoquímica. Los compuestos abarcan también los enantiómeros, otros isómeros estereoquímicos, hidratos, solvatos, tautómeros y las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

Estos compuestos pueden utilizarse para tratar cualquier tumor que pueda estar afectado o bien directa o bien indirectamente por la actividad hormonal y/o la actividad relacionada con estrógeno, incluyendo, pero sin estar limitado de forma alguna a los tumores sólidos asociados con cáncer de mama, de páncreas, pulmón, colon, de próstata, de ovario, así como de cerebro, hígado, bazo, riñón, ganglios linfáticos, intestino delgado, células sanguíneas, hueso, estómago, endometrio, testículo, ovario, del sistema nervioso central, piel, de cabeza y cuello, esófago, o cáncer de médula ósea; así como cánceres hematológicos, tal como leucemia, leucemia promielocítica aguda, linfoma, mieloma múltiple, mielodisplasia, enfermedad mieloproliferativa, o anemia resistente.

Además, la administración de los compuestos de la presente invención para el tratamiento de diversas patologías cancerosas puede comprender la administración de un compuesto de Fórmula (1) en combinación con otros tratamientos auxiliares contra el cáncer, como quimioterapia, radioterapia, terapia génica, tratamiento hormonal y otros tratamientos contra el cáncer conocidos en la técnica. Las combinaciones de los compuestos divulgados actualmente con otros agentes anticancerosos o quimioterapéuticos están incluidas en el alcance de la invención. Pueden encontrarse ejemplos de dichos agentes en Cancer Principles and Practice of Oncology por V.T. Devita and S. Hellman (editores), 6ª edición (15 de febrero, 2001), Lippincott Williams & Wilkins Publishers. Un médico, veterinario o experto habitual en la técnica puede ser capaz de discernir qué combinaciones de agentes pueden ser útiles basándose en las características concretas de los fármacos y el cáncer involucrado. Dichos agentes antineoplásicos incluyen los siguientes: moduladores de los receptores de estrógenos, moduladores de los receptores de andrógenos, moduladores de los receptores retinoides, agentes citotóxicos, agentes antiproliferativos, inhibidores de la prenil-proteína transferasa, inhibidores de la HMG-CoA reductasa, inhibidores de la proteasa del VHE, inhibidores de la transcriptasa inversa, inhibidores de la aromatasa, e inhibidores de la angiogénesis.

En la tabla 1 siguiente se ilustran los compuestos de la presente divulgación:

Tabla 1



R ₁ , R ₂ , R ₃ , R ₄ ; independientemente H, alquilo C ₁ -C ₆ , alquilo sustituido o halógeno R ₇ : H, alquilo C ₁ -C ₆ , alquilo sustituido, sulfato o glucurónido R ₆ : H, alquilo C ₁ -C ₆ , o alquilo sustituido, sulfato o glucurónido, cuando --- es un enlace simple; no está presente, cuando --- es un doble enlace R ₅ es alquilo C ₁ a C ₆ o alquilo sustituido;									
Entrada	Sustituyentes			Configuración espacial					
	R ₅	R ₆	R ₇	C-6	C-8	C-9	C-13	C-14	C-17
1	H	H	H	S	S	S	S	S	S
2	H	H	H	S	R	R	R	R	R
3	H	H	H	S	S	S	S	S	R
4	H	H	H	S	R	R	R	R	S
5	H	-	H	S	S	S	S	S	C=O
6	H	-	H	S	R	R	R	R	C=O
7	H	H	H	R	R	R	R	R	R
8	H	H	H	R	S	S	S	S	S
9	H	H	H	R	S	S	S	S	R
10	H	H	H	R	R	R	R	R	S
11	H	-	H	R	S	S	S	S	C=O
12	H	-	H	R	R	R	R	R	C=O
13	Me	H	H	S	S	S	S	S	S
14	Me	H	H	S	R	R	R	R	R
15*	Me	H	H	S	R	S	R	S	R
16	Me	H	H	S	R	R	R	R	S
17	Me	-	H	S	S	S	S	S	C=O
18	Me	-	H	S	R	R	R	R	C=O
19	Me	H	H	R	R	R	R	R	R
20**	Me	H	H	R	R	S	R	S	R
21	Me	H	H	R	S	S	S	S	R
22	Me	H	H	R	R	R	R	R	S
23	Me	-	H	R	S	S	S	S	C=O
24	Me	-	H	R	R	R	R	R	C=O
25	H	H	SO ₃ H	S	S	S	S	S	S
26	H	H	SO ₃ H	S	R	R	R	R	R
27	H	H	SO ₃ H	S	S	S	S	S	R
28	H	H	SO ₃ H	S	R	R	R	R	S
29	H	-	SO ₃ H	S	S	S	S	S	C=O
30	H	-	SO ₃ H	S	R	R	R	R	C=O
31	H	H	SO ₃ H	R	R	R	R	R	R
32	H	H	SO ₃ H	R	S	S	S	S	S
33	H	H	SO ₃ H	R	S	S	S	S	R
34	H	H	SO ₃ H	R	R	R	R	R	S

ES 2 604 079 T3

35	H	-	SO ₃ H	R	S	S	S	S	C=O
36	H	-	SO ₃ H	R	R	R	R	R	C=O
37	Me	H	SO ₃ H	S	S	S	S	S	S
38	Me	H	SO ₃ H	S	R	R	R	R	R
39	Me	H	SO ₃ H	S	S	S	S	S	R
40	Me	H	SO ₃ H	S	R	R	R	R	S
41	Me	-	SO ₃ H	S	S	S	S	S	C=O
42	Me	-	SO ₃ H	S	R	R	R	R	C=O
43	Me	H	SO ₃ H	R	R	R	R	R	R
44	Me	H	SO ₃ H	R	S	S	S	S	S
45	Me	H	SO ₃ H	R	S	S	S	S	R
46	Me	H	SO ₃ H	R	R	R	R	R	S
47	Me	-	SO ₃ H	R	S	S	S	S	C=O
48	Me	-	SO ₃ H	R	R	R	R	R	C=O
49	H	H	glucurónido	S	S	S	S	S	S
50	H	H	glucurónido	S	R	R	R	R	R
51	H	H	glucurónido	S	S	S	S	S	R
52	H	H	glucurónido	S	R	R	R	R	S
53	H	-	glucurónido	S	S	S	S	S	C=O
54	H	-	glucurónido	S	R	R	R	R	C=O
55	H	H	glucurónido	R	R	R	R	R	R
56	H	H	glucurónido	R	S	S	S	S	S
57	H	H	glucurónido	R	S	S	S	S	R
58	H	H	glucurónido	R	R	R	R	R	S
59	H	-	glucurónido	R	S	S	S	S	C=O
60	H	-	glucurónido	R	R	R	R	R	C=O
61	Me	H	glucurónido	S	S	S	S	S	S
62	Me	H	glucurónido	S	R	R	R	R	R
63	Me	H	glucurónido	S	S	S	S	S	R
64	Me	H	glucurónido	S	R	R	R	R	S
65	Me	-	glucurónido	S	S	S	S	S	C=O
66	Me	-	glucurónido	S	R	R	R	R	C=O
67	Me	H	glucurónido	R	R	R	R	R	R
68	Me	H	glucurónido	R	S	S	S	S	S
69	Me	H	glucurónido	R	S	S	S	S	R
70	Me	H	glucurónido	R	R	R	R	R	S
71	Me	-	glucurónido	R	S	S	S	S	C=O
72	Me	-	glucurónido	R	R	R	R	R	C=O

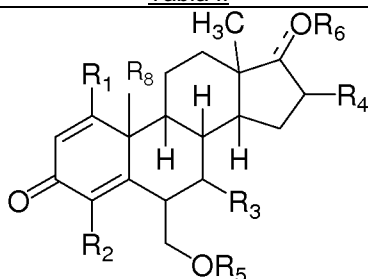
* NDC-1033; ** NDC-1022

Los compuestos preferidos en la Tabla I incluyen los compuestos 15 y 20. Al menos, un aspecto de la presente invención se dirige a este compuesto preferido y sus usos.

En la tabla II siguiente se describen también compuestos comparativos:

5

Tabla II



R₁, R₂, R₃, R₄: independientemente H, alquilo C₁-C₆, alquilo sustituido o halógeno

R₅: H, alquilo C₁-C₆, alquilo sustituido, sulfato, o glucurónido

R₆: H, alquilo C₁-C₆, o alquilo sustituido, sulfato o glucurónido,

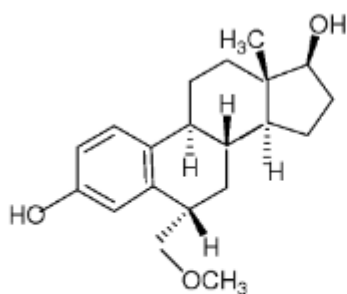
R₈: H, alquilo C₁-C₆, o alquilo sustituido, cuando --- es un enlace simple; no está presente, cuando --- es un doble enlace

Entrada	Sustituyente		Configuración espacial						
	R ₅	R ₆	C-6	C-8	C-9	C-10	C-13	C-14	C-17
73	H	H	S	S	S	R	S	S	S
74	H	H	S	R	R	R	R	R	R
75	H	H	S	S	S	R	S	S	R
76	H	H	S	R	R	R	R	R	S
77	H	-	S	S	S	R	S	S	C=O
78	H	-	S	R	R	R	R	R	C=O
79	H	H	R	R	R	R	R	R	R
80	H	H	R	S	S	R	S	S	S
81	H	H	R	S	S	R	S	S	R
82	H	H	R	R	R	R	R	R	S
83	H	-	R	S	S	R	S	S	C=O
84	H	-	R	R	R	R	R	R	C=O
85	Me	H	S	S	S	R	S	S	S
86	Me	H	S	R	R	R	R	R	R
87	Me	H	S	S	S	R	S	S	R
88	Me	H	S	R	R	R	R	R	S
89*	Me	-	S	R	S	R	R	S	C=O
90**	Me	-	R	R	S	R	R	S	C=O
91	Me	H	R	R	R	R	R	R	R
92	Me	H	S	S	S	R	S	S	S
93	Me	H	S	R	R	R	R	R	R
94	Me	H	S	S	S	R	S	S	R
95	Me	H	S	R	R	R	R	R	S
96	Me	-	R	R	S	-	R	S	C=O

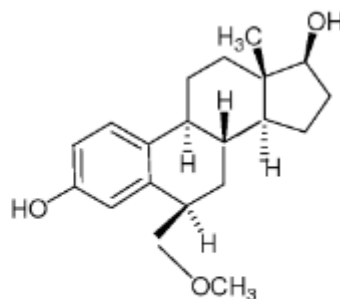
97	Me	-	S	R	R	R	R	R	C=O
98***	Me	H	S	R	S	R	R	S	R
99	Me	H	R	S	S	R	S	S	S
100	Me	H	R	S	S	S	S	S	R
101	Me	H	R	R	R	S	R	R	S
102	Me	-	R	S	S	R	S	S	C=O
103	Me	-	R	R	R	R	R	R	C=O
104	H	H	S	S	S	R	S	S	S
105	H	H	S	R	R	R	R	R	R
106	H	H	S	S	S	R	S	S	R
107	H	H	S	R	R	R	R	R	S
108	H	-	S	S	S	R	S	S	C=O
109	H	-	S	R	R	R	R	R	C=O
110	H	H	R	R	R	R	R	R	R
111	H	H	R	S	S	R	S	S	S
112	H	H	R	S	S	R	S	S	R
113	H	H	R	R	R	R	R	R	S
114	H	-	R	S	S	R	S	S	C=O
115	H	-	R	R	R	R	R	R	C=O
116	Me	H	S	S	S	R	S	S	S
117	Me	H	S	R	R	R	R	R	R
118	Me	H	S	S	S	R	S	S	R
119	Me	H	S	R	R	R	R	R	S
120	Me	-	S	S	S	S	S	S	C=O
121	Me	-	S	R	R	R	R	R	C=O
122	Me	H	R	R	R	R	R	R	R
123	Me	H	R	S	S	R	S	S	S
124	Me	H	R	S	S	S	S	S	R
125	Me	H	R	R	R	S	R	R	S
126	Me	-	R	S	S	R	S	S	C=O
127	Me	-	R	R	R	R	R	R	C=O
128****	Me	H	R	R	S	R	R	S	R

* NDC-1077, cuando R₈ es un metilo; ** NDC-1011, cuando R₈ es un metilo; *** NDC-1110, cuando R₈ es un metilo; **** NDC1044, cuando R₈ es un metilo.

Un ejemplo específico no limitante para el tratamiento de una patología cancerosa identificada como se describe en el presente documento incluye el uso de un compuesto de Fórmula (I), que tiene la Fórmula (IX) siguiente:



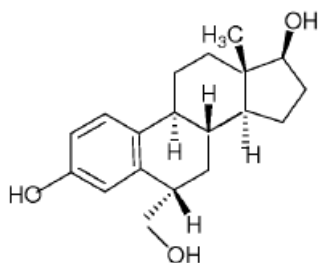
(IX) A- NDC -1033



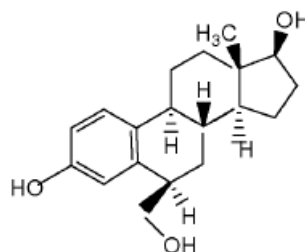
(IX) B- NDC - 1022

Otro ejemplo específico no limitante para el tratamiento de patología cancerosa identificada como se describe en el presente documento incluye el uso de un compuesto de Fórmula (1), que tiene la Fórmula (X), a continuación:

5



(X) A- NDC -1066



(X) B- NDC -1055

Los anteriores principios activos también se pueden utilizar como parte de un ensayo *in vitro*, por ejemplo, para determinar si es probable que un hospedador candidato se beneficie del tratamiento con el compuesto en cuestión. Se puede usar también cualquier principio activo de la presente invención como un patrón, por ejemplo, en un ensayo, para identificar otros principios activos, otros agentes antiproliferativos, otros agentes antiinflamatorios, etc.

Como se describe también en el presente documento, se evaluaron los compuestos candidatos para determinar su actividad antagonista frente al receptor de estrógenos. La evaluación para determinar si un compuesto es un antagonista del receptor de estrógenos puede llevarse a cabo mediante diversas metodologías conocidas en la materia. En la presente solicitud, se determinó dicha capacidad llevando a cabo el ensayo de unión a la luciferasa de acuerdo con los métodos de selección descritos en el presente documento.

En un aspecto más preferido, se evaluaron las capacidades de unión del receptor de estrógenos transfectando transitoriamente células CV-1 con constructos de expresión o bien para ER(a) o bien para ER (8) más un constructo indicador de ERE-tk-luciferasa. A continuación se dividieron las células en controles y grupos candidatos en los que los controles no recibieron tratamiento, o se trataron solo con estradiol (1 nM) y los grupos candidatos recibieron estradiol más un compuesto Endece a concentraciones variables. Después de 16-24 horas se recogieron las células y se evaluaron para determinar la actividad de la luciferasa utilizando un kit de ensayo comercialmente disponible.

Como se describe también en el presente documento, se determinaron los valores de CI_{50} o la mitad de la concentración máxima inhibidora de los compuestos candidatos para evaluar la potencia del fármaco y los regímenes de dosificación potenciales para el uso *in vivo*. Una persona normalmente experta en la técnica puede discernir fácilmente dicha información utilizando metodologías comúnmente conocidas. Como se ha descrito también en la técnica, CI_{50} representa y mide cuantas sustancias/moléculas concretas son necesarias para inhibir el 50 % de algún proceso biológico. En el presente caso, se determinaron las CI_{50} de los compuestos candidatos como la concentración que condujo a una respuesta del 50 % en comparación con las células del vehículo control.

Como se notifica en el presente documento, las sales de los compuestos de la presente invención se refieren a "sales farmacéuticamente aceptables" no tóxicas. Otras sales, sin embargo, pueden ser útiles en la preparación de los compuestos de acuerdo con la invención o de sus sales farmacéuticamente aceptables. Cuando los compuestos de la presente invención contienen un grupo básico, las sales abarcadas en el término "sales farmacéuticamente aceptables" se refieren a sales no tóxicas que se preparan generalmente haciendo reaccionar la base libre con un ácido orgánico o inorgánico adecuado. Las sales representativas incluyen cualquiera de dichas sales conocidas en

la técnica. Cuando los compuestos de la presente invención contienen un resto ácido, las 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, sales de calcio o magnesio; y las sales formadas con ligandos orgánicos adecuados, por ejemplo, sales de amonio cuaternario.

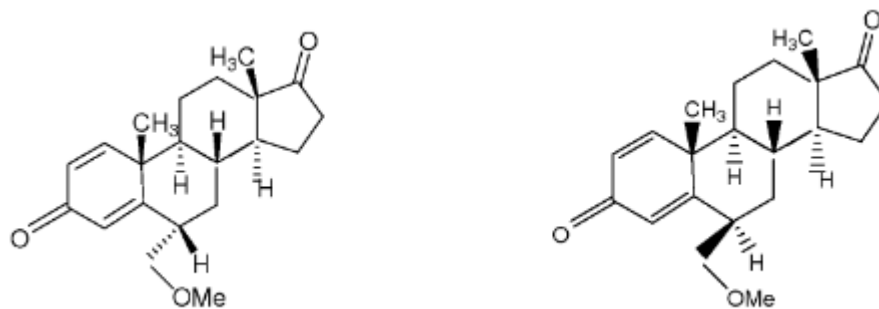
Para tratar a un sujeto mamífero, tal como un paciente humano, se administra al sujeto mamífero una cantidad eficaz de uno o más compuestos de la presente invención, o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, para estimular la exposición o el contacto de las células cancerosas o el crecimiento del tumor diana. Las formas farmacéuticas eficaces, los modos de administración y las cantidades de dosificación pueden determinarse empíricamente y realizar dichas determinaciones está comprendido en el conocimiento. El médico, el veterinario o la persona normalmente experta en la materia deben entender que la cantidad de dosificación variará con la actividad del compuesto concreto empleado, el curso y/o la progresión de la patología, la vía de administración, la tasa de excreción del compuesto, la función renal y hepática del paciente, la duración del tratamiento, la identidad de otros fármacos cualesquiera que se están administrando al sujeto, edad, tamaño y factores similares bien conocidos en las prácticas médicas. Como se analiza en el presente documento, los compuestos de la presente invención se pueden administrar en formas farmacéuticas orales tales como comprimidos, cápsulas (cada una de las cuales incluye formulaciones de liberación sostenida o de liberación temporalizada), píldoras, polvos, composiciones micronizadas, gránulos, elixires, tinturas, suspensiones, jarabes y emulsiones. Del mismo modo, pueden administrarse también en forma intravenosa (bolo o infusión), intraperitoneal, tópica (por ejemplo, colirio ocular), subcutánea, intramuscular o transdérmica (por ejemplo, un parche), utilizando todas las citadas formas bien conocidas por las personas normalmente expertas en la materia. De nuevo, el médico normalmente experto, el veterinario o los expertos pueden determinar y prescribir fácilmente la cantidad eficaz del fármaco requerida para tratar, hacer frente o detener el progreso de la dolencia.

Las dosificaciones orales de la presente invención, cuando se usan para los efectos indicados, estarán comprendidas de aproximadamente 0,01 mg por kg de peso corporal por día (mg/kg/día) a aproximadamente 100 mg/kg/día, preferentemente de 0,01 a 10 mg/kg/día, y lo más preferente de 0,1 a 5,0 mg/kg/día. Para administración oral, las composiciones se proporcionan preferentemente en la 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 se va a tratar. Un medicamento contiene normalmente de aproximadamente 0,01 mg a aproximadamente 500 mg del principio activo, preferentemente, de aproximadamente 1 mg a aproximadamente 100 mg de principio activo. Por vía intravenosa, las dosis más preferidas variarán de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 10 mg/kg/minuto durante una infusión a velocidad constante. Los compuestos de la presente invención se pueden administrar en una dosis diaria única, o la dosificación diaria total se puede administrar en dosis divididas de dos, tres o cuatro veces al día.

Como se notifica en el presente documento, los compuestos de la presente invención se pueden usar junto con otros agentes anticancerosos u otros agentes que potenciarán el régimen de tratamiento para el sujeto mamífero. Los componentes individuales de dichas combinaciones se pueden administrar por separado en diferentes momentos durante el ciclo de tratamiento o de forma simultánea en formas de combinación divididas o múltiples a pacientes o regiones de dichos pacientes que necesitan de dicho tratamiento. Se entiende por tanto que la presente invención abarca los mencionados regímenes de tratamiento simultáneo o alternante y el término "administrar" es para interpretarse de acuerdo con ello. Se entenderá que el alcance de las combinaciones de los compuestos de la presente invención con otros agentes útiles para tratar la dolencia de cáncer dirigida incluye en principio cualquier combinación con cualquier composición farmacéutica útil para tratar trastornos relacionados con el funcionamiento del estrógeno.

Tal como se usa en el presente documento, se pretende que el término "composición" abarque un producto que comprende los ingredientes especificados en las cantidades especificadas, así como cualquier producto que sea el resultado, directa o indirectamente, de la combinación de los ingredientes especificados en las cantidades especificadas.

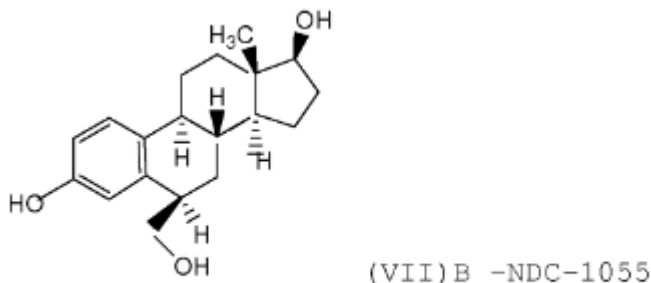
Los derivados (R) o (S)-6-metiloxalquilo de exemestano sugieren que puede ser activo frente a numerosas formas de cáncer además del cáncer de mama.



Como con estradiol, el compuesto diol NDC-1022 tiene un anillo aromático, pero difiere de estradiol con respecto al sustituyente metiloxialquilo en el carbono C-6. El metabolismo de NDC-1011 en el compuesto diol NDC-1022 podría producirse en cualquier orden como se muestra en la Figura 2. Por ejemplo, NDC-1044 formado por 17p-HSD se convirtió en NDC-1022 diol debido a la actividad de aromatización de CYP19.

Sin pretender quedar vinculado a teoría alguna, se ha notificado que estradiol se une a la bolsa del ligando del receptor de los receptores de estrógenos (ER α y ER β), mediante el C17-OH (vía His 524); y del C3-OH (vía Arg 394 y Glu 353). Como con estradiol, se puede producir la unión del NDC-1022 diol en la misma bolsa del ligando de ER α y ER β mediante uniones de aminoácidos similares. Además, la presencia del sustituyente metiloxialquilo en el carbono C-6 del compuesto NDC-1022 puede alterar la conformación del receptor normal de unión al ligando en una actividad modificada teniendo en cuenta la actividad antitumoral observada.

Además, la actividad de la enzima desmetilasa dirigida al grupo metilo C-6 de NDC-1011 (o uno de los metabolitos de NDC-1011), puede indicar la formación del metabolito de triol NDC-1055. Con grupos alcohol en los átomos de carbono C-3, C6 y C-17, dicho metabolito de triol NDC-1055 puede unirse a una amplia gama de receptores esteroides en un intervalo de tejidos que implican diversas combinaciones de los alcoholes C-3, C-6 y C-17. Un ejemplo de dichos metabolitos incluye el compuesto de Fórmula (VII)B como se muestra a continuación:



Las formulaciones farmacéuticas de la presente invención incluyen las adecuadas para la administración oral, nasal, tópica (incluyendo bucal y sublingual), rectal, vaginal y/o parenteral. Dependiendo de la ruta de administración seleccionada, el/los principio(s) activo(s) se formulan en formas farmacéuticas farmacéuticamente aceptables mediante métodos convencionales conocidos por los expertos en la materia.

La cantidad del principio(s) activo(s) que se combinará con un material de vehículo para producir una única forma farmacéutica variará dependiendo del sujeto que se está tratando, el modo concreto de administración y todos los diferentes factores descritos anteriormente. La cantidad de principio(s) activo(s) que se combinará con un material de vehículo para producir una única forma farmacéutica será generalmente la cantidad de principio(s) activo(s) que es la dosis eficaz más baja para producir un efecto terapéutico.

Los métodos de preparación de las formulaciones o composiciones farmacéuticas incluyen la etapa de poner el/los principio(s) activo(s) en asociación con el vehículo y, opcionalmente, uno o más ingredientes auxiliares. En general, las formulaciones se preparan de forma uniforme e íntima poniendo el/los principio(s) activo(s) en asociación con transportadores líquidos, o transportadores sólidos finamente divididos, o ambos, y después, si es necesario, dar forma al producto.

Las formulaciones de la invención adecuadas para la administración oral pueden estar en la forma de cápsulas, sellos, píldoras, comprimidos, comprimidos masticables (utilizando bases aromatizadas, habitualmente sacarosa y acacia o tragacanto), polvos, gránulos, o como una solución o una suspensión en un líquido acuoso o no acuoso, o

una emulsión líquida de aceite en agua o de agua en aceite, o como un elixir o jarabe, o como pastillas (utilizando una base inerte, tal como gelatina y glicerina, o sacarosa y acacia) y o como enjuagues bucales y similares, conteniendo cada uno de ellos una cantidad predeterminada del/de los principio(s) activo(s). El/los principio(s) activo(s) también se puede administrar como un bolo, electuario o pasta.

5 En formas farmacéuticas sólidas de la invención para la administración oral (cápsulas, comprimidos, píldoras, grageas, polvos, gránulos y similares), el/los principio(s) activo(s) (en su forma micronizada) se mezcla(n) con uno o más transportadores farmacéuticamente aceptables, tales como citrato sódico o fosfato dicálcico, y/o cualquiera de los siguientes; (1) rellenos o extensores, Tales como almidones, lactosa, sacarosa, glucosa, manitol y/o ácido silícico; (2) aglutinantes, Tales como, por ejemplo, carboximetilcelulosa, alginatos, gelatina, polivinilpirrolidona, 10 sacarosa y/o acacia; (3) humectantes, Tales como glicerol; (4) agentes disgregantes, tales como agar-agar, carbonato de calcio, almidón de patata o tapioca, ácido algínico, algunos silicatos y carbonato de sodio; (5) agentes retardantes de la solución, 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) 15 absorbentes, tales como caolín y arcilla de bentonita; (9) lubricantes, tales como talco, estearato cálcico, estearato de magnesio, polietilenglicoles sólidos, laurilsulfato de sodio y sus mezclas; y (10) agentes colorantes. En el caso de cápsulas, comprimidos y píldoras, las composiciones farmacéuticas pueden comprender también agentes tamponantes. Se pueden emplear también composiciones sólidas de un tipo similar como rellenos en cápsulas de gelatina blandas y duras usando excipientes tales como lactosa o azúcares de la leche, así como polietilenglicoles 20 de alto peso molecular y similares.

Puede prepararse un comprimido mediante compresión o moldeo, opcionalmente, con uno o más ingredientes auxiliares. Se pueden preparar comprimidos preparados por compresión utilizando aglutinantes (por ejemplo, 25 gelatina o hidroxipropilmetil celulosa), lubricante, diluyentes inertes, conservantes, disgregantes (por ejemplo, almidón glicolato de sodio o carboximetil celulosa de sodio reticulada), agentes tensioactivos o agentes dispersantes. Se pueden preparar comprimidos moldeados moldeando en una máquina adecuada una mezcla del/de los principio(s) activo(s) en polvo humedecida con un diluyente líquido inerte.

Los comprimidos, y otras formas farmacéuticas sólidas de las composiciones farmacéuticas de la presente 30 invención, tales como grageas, cápsulas, píldoras y gránulos, pueden opcionalmente marcarse o prepararse con revestimientos y cubiertas, tales como revestimientos entéricos y otros revestimientos bien conocidos en la técnica de la formulación farmacéutica. Pueden formularse también de esta manera para proporcionar una liberación lenta o controlada del/de los principio(s) activo(s) utilizando, por ejemplo, hidroxipropilmetilcelulosa en proporciones variables para proporcionar el perfil de liberación deseado, otras matrices poliméricas, liposomas y/o microesferas. 35 Se pueden esterilizar mediante, por ejemplo, mediante filtración a través de un filtro de retención de bacterias. Estas composiciones pueden contener opcionalmente agentes opacificantes y pueden ser también de una composición tal que liberan solo el/los principio(s) activo(s), o preferentemente, en una parte determinada del tracto intestinal, opcionalmente, de manera retardada. Los ejemplos de composiciones incluidas que pueden utilizarse incluyen sustancias poliméricas y ceras. El/los principio(s) activo(s) también pueden estar en forma microencapsulada. 40

Las formas farmacéuticas líquidas para la administración oral del/de los principio(s) activo(s) incluyen emulsiones farmacéuticamente aceptables, microemulsiones, soluciones, suspensiones, jarabes y elixires farmacéuticamente 45 aceptables. además del/de los principio(s) activo(s), las formas farmacéuticas líquidas pueden contener diluyentes inertes comúnmente utilizados en la técnica, tales como, por ejemplo, agua y 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, aceite de semillas de algodón, cacahuete, maíz, germen, oliva, de ricino y de sésamo), glicerol, alcohol amílico, tetrahidrofuril polietilenglicoles y ésteres de ácido graso de sorbitán y mezclas de los mismos.

50 Además, los diluyentes de las composiciones orales también pueden incluir adyuvantes, tales como agentes humectantes, agentes emulsionantes y suspensores, edulcorantes, aromatizantes, colorantes, agentes perfumantes y conservantes. Las suspensiones, además del/de los principio(s) activo(s), pueden contener agentes suspensores como, por ejemplo, alcoholes etoxilados, ésteres de sorbitol y sorbitán polioxietilenados, celulosa microcristalina, metahidróxido de aluminio, bentonita, agar-agar y tragacanto y mezclas de los mismos. 55

Se pueden presentar las formulaciones de las composiciones farmacéuticas de la invención para la administración rectal o vaginal como supositorio, que puede prepararse mezclando el/los principio(s) activo(s) con uno o más 60 excipientes o transportadores 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, fundirá en el recto o en la cavidad vaginal y liberará el/los principio(s) activo(s). Las formulaciones de la presente invención que son adecuadas para la administración vaginal incluyen también pesarios, tampones, cremas, geles, pastas, espumas o formulaciones en pulverización que contienen dichos transportadores que se conocen en la técnica por ser adecuados.

65 Las formas farmacéuticas para la administración tópica o transdérmica del/de los principio(s) activo(s) incluyen pulverizadores en polvos, pomadas, pastas, cremas, lociones, geles, soluciones, parches e inhaladores. El/los

principio(s) activo(s) puede mezclarse en condiciones estériles con un vehículo farmacéuticamente aceptable, y con cualesquiera tampones, o propulsores que puedan ser necesarios.

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 los pulverizadores 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 pulverizadores pueden contener adicionalmente propulsores habituales, tales como clorofluorohidrocarburos e hidrocarburos volátiles no sustituidos, tales como butano y propano.

Los compuestos de la presente invención se pueden administrar en forma intranasal mediante el uso tópico de vehículos de administración intranasal adecuados, o mediante rutas transdérmicas, utilizando aquellas formas de parches en piel transdérmicos bien conocidas por las personas normalmente expertas en la materia. Un sistema de administración transdérmica proporciona la administración continua a través del régimen de dosificación. Los parches transdérmicos tienen la ventaja añadida de proporcionar un suministro controlado del (de los) principio(s) activo(s) al cuerpo. Dichas formas farmacéuticas pueden prepararse disolviendo, dispersando o incorporando de otra forma el/los principio(s) activo(s) en un medio adecuado, tal como un material de matriz elastomérica. También se pueden usar potenciadores de la absorción para aumentar el flujo del/de los principio(s) activo(s) a través de la piel. La velocidad de dicho flujo puede controlarse ya sea proporcionando una membrana de control de la velocidad o dispersando el/los principio(s) activo(s) en una matriz polimérica o gel.

Los compuestos de la presente invención también se pueden administrar en forma de sistemas de administración de liposomas, tales como pequeñas vesículas unilamelares, grandes vesículas unilamelares y vesículas multilamelares. Se pueden formar liposomas a partir de varios fosfolípidos, tales como colesterol, estearilamina o fosfatidilcolinas.

Otro modo de administración de los compuestos de la presente invención puede administrarse mediante el uso de anticuerpos monoclonales tales como transportadores individuales a los cuales se acoplas las moléculas de compuesto. Los compuestos de la presente invención pueden acoplarse también con polímeros solubles como transportadores de fármacos direccionables. Dichos polímeros pueden incluir polivinilpirrolidona, copolímero de pirano, polihidroxipropilmetacrilamida-fenol, polihidroxi-etilaspirtamida-fenol, u óxido de polietileno-polilisina sustituido con restos de palmitoilo. Adicionalmente, los compuestos de la presente invención pueden acoplarse a una clase de polímeros biodegradables útiles para conseguir la liberación controlada de un fármaco, por ejemplo, ácido poliláctico, ácido poliglicólico, copolímeros de ácido poliláctico y ácido poliglicólico, poli épsilon caprolactona, ácido polihidroxisteárico, poliortoésteres, poliacetales, polihidropiranos, policianoacrilatos y copolímeros en bloque reticulados o anfipáticos de hidrogeles.

Las composiciones farmacéuticas de la presente invención adecuadas para la administración parenteral comprenden el/los principio(s) activo(s) en combinación con una o más soluciones, suspensiones o emulsiones acuosas o no acuosas isotónicas estériles farmacéuticamente aceptables, o polvos estériles que pueden reconstituirse en soluciones o dispersiones inyectables estériles exactamente antes del uso, que pueden incluir antioxidantes, tampones, solutos que convierten la formulación en isotónica con respecto a la sangre del receptor previsto o agentes suspensores o espesantes.

Los ejemplos de transportadores acuosos y no acuosos adecuados que se pueden emplear 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 correcta se puede mantener, por ejemplo, mediante el uso de materiales de revestimiento, tal como lecitina, mediante el mantenimiento del tamaño de partícula necesario, y mediante el uso de tensioactivos.

Estas composiciones pueden contener también adyuvantes tales como agentes humectantes, agentes emulsionantes y agentes dispersantes. También puede ser deseable incluir agentes isotónicos, tales como azúcares, cloruro de sodio, y similares en las composiciones. Además, La absorción prolongada de la forma farmacéutica inyectable se puede conseguir aproximadamente mediante la inclusión de agentes que retrasan la absorción, como monostearato de aluminio y gelatina.

En algunos casos, para prolongar el efecto del/de los principio(s) activo(s), es deseable ralentizar la absorción del fármaco procedente de la inyección subcutánea o intramuscular. Esto puede lograrse mediante el uso de una suspensión líquida de material cristalino o amorfo con 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 de la forma cristalina. Como alternativa, se consigue una absorción retardada de una forma del/de los principio(s) activo(s) administrada parenteralmente disolviendo o suspendiendo el/los principio(s) activo(s) en un vehículo oleoso.

Las formas de depósitos inyectables se preparan formando matrices microencapsuladas del/de los principio(s)

activo(s) en polímeros biodegradables tales como polilactida-poliglicólido. Dependiendo de la relación del/de los polímero(s) activo(s) al polímero, y de la naturaleza del polímero concreto empleado, se puede controlar la velocidad de liberación. Los ejemplos de otros polímeros biodegradables incluyen poli(ortoésteres) y poli(anhídridos). Se preparan también formulaciones inyectables de depósito atrapando el (los) principio(s) activo(s) en liposomas o microemulsiones que son compatibles con los tejidos corporales. Los materiales inyectables se pueden esterilizar, por ejemplo, mediante filtración a través de un filtro de retención de bacterias.

Las formulaciones se pueden presentar en recipientes monodosis o multidosis precintados, por ejemplo, ampollas y viales, y pueden almacenarse en estado liofilizado requiriendo únicamente la adición del vehículo líquido estéril, por ejemplo agua para inyección, inmediatamente antes de su uso. Las soluciones y suspensiones extemporáneas para inyección se pueden preparar a partir de polvos estériles, gránulos y comprimidos del tipo descrito anteriormente.

Las composiciones farmacéuticas de la presente invención se pueden usar también en la forma de formulaciones veterinarias, incluyendo aquellas adaptadas para lo siguiente: (1) administración oral, por ejemplo, pociones (soluciones o suspensiones acuosas o no acuosas), comprimidos, bolos, polvos, gránulos o aglomerados para premezclar con comestibles, pastas para la aplicación a la lengua; (2) administración parenteral, para "ampolla, mediante inyección subcutánea, intramuscular o intravenosa como, por ejemplo, una solución o suspensión estéril o, cuando es apropiado, mediante inyección intramamaria cuando una suspensión o solución se introduce en la ubre del animal a través de su pezón; (3) aplicación tópica, por ejemplo, como una crema, pomada o pulverización aplicada a la piel; o (4) intravaginalmente, por ejemplo, como un pesario, crema o espuma o cualquier otro método que la persona normalmente experta en la técnica considere adecuado para la administración a una región de interés.

Aunque la presente invención se ha descrito con referencia a determinadas realizaciones, una persona experta en la materia apreciara que la presente invención puede llevarse a la práctica mediante otras realizaciones además de las descritas, que se ha presentado a fines ilustrativos y no limitativos. Por lo tanto, el alcance de las reivindicaciones adjuntas no debe limitarse a la descripción de las realizaciones contenidas en el presente documento.

Los métodos generales proporcionados en los Esquemas 1 y 2 para la preparación de compuestos ilustrados en las Tablas I y II anteriores se ilustran adicionalmente por los siguientes ejemplos. Específicamente, los métodos proporcionados en los esquemas 1 y 2 para la preparación de compuestos de 6-alcoxialquil estradiol se ilustran mediante los Ejemplos 1-5 que se muestran a continuación. Un ejemplo de evaluación de la capacidad de unión al receptor estrógeno se articula en el ejemplo 4, y finalmente, la evaluación de la Cl_{50} de los compuestos preferidos de la presente invención y su eficacia comparativa se proporciona en el ejemplo 5. A no ser que se especifique de otra forma todos los materiales y reactivos de partida son de calidad comercial normalizada, y se usan sin purificación adicional, o se preparan fácilmente a partir de dichos materiales mediante métodos rutinarios. Los expertos en la materia de la síntesis orgánica reconocerán que todos los materiales de partida y condiciones de reacción pueden variarse para conseguir el producto final deseado.

Ejemplo 1 (comparativo)

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

En un sistema de reacción, se calentaron cantidades suficientes de (+)androsta-1,4-dieno-3,17-diona (ADD), 12,2 equivalentes de pirrolidina, ácido acético catalítico, etanol desnaturalizado (95/5 etanol/metanol) y tetrahidrofurano al 6-7 % (THF) a 30 a 400° C durante un mínimo de 16 horas para formar 1,3-dipirrolidinoandrosta-3,5-dieno-17ona. Una vez que el contenido de ADD alcanza a menos de un 3 % del área del HPLC, o llega a ser estática o el dipirrolidinoandrostadieno resultante comienza a revertir a ADD, la mezcla de reacción se enfría a 5 ± 50 C. El compuesto resultante se enfría a continuación y se lava con etanol desnaturalizado frío. Los rendimientos son normalmente del 70-80 % sobre una base seca con purezas normalmente del 90-95 % según el porcentaje del área del HPLC.

La 1,3-dipirrolidinoandrosta-3,5-dieno-17ona resultante se mezcla a continuación en una cantidad de 1 equivalente, con 2,6 equivalentes de formalina (formaldehído) en 10 ml de diclorometano/g a temperatura ambiente. A continuación se acidifica la mezcla de reacción a un pH de aproximadamente 2 con una solución de ácido sulfúrico al 2 %. De acuerdo con ello, se formó una capa orgánica, que se lavó con ácido sulfúrico al 2 % y 1:1 de agua/salmuera. A continuación se llevó a cabo el intercambio de disolvente en tolueno (aproximadamente 10 ml/g) en el que el producto cristaliza a medida que transpira el intercambio de tolueno. Se recogió dicho producto, se lavó y se secó para proporcionar 6-hidroximetil-androsta-1,4-dieno-3,17 diona. Una persona normalmente experta en la materia puede modificar además la estereoquímica en la posición 6, si se desea mediante el uso de técnicas conocidas en la materia.

Ejemplo 2

Métodos de preparación de los compuestos NDC-1022 y NDC-1033

- 5 Como se indica el Esquema 2, los derivados de estradiol NDC-1022, NDC-1033 se sintetizaron de la siguiente manera. El compuesto 2 de estradiol protegido se preparó mediante reacción del compuesto 1 con dihidropirano en THF, utilizando ácido toluenosulfónico o ácido alcanforsulfónico como catalizador. Como una persona normalmente experta en la materia puede apreciar, esta reacción es una reacción en equilibrio y podría no llegar a la finalización en dichas condiciones. Por lo tanto, se pueden encontrar ambos estradiolos monoprotectados en la mezcla de reacción. Dicha mezcla de reacción bruta se sometería a una etapa de trituración con acetonitrilo dando lugar a que el bis-THP estradiol cristalice con un rendimiento aproximado del 70 %.

15 Como se muestra en el Esquema 2, el compuesto intermedio clave 3 se obtiene mediante acilación en la posición 6 del bencílico con una mezcla de base fuerte denominada LiDAKOR: butil litio, diisopropilamina y terc-amilato de potasio. En dichas condiciones a -70 °C, una persona normalmente experta en la materia puede apreciar la abstracción de un protón en la posición bencílica. A continuación se purificó el compuesto 3 mediante cromatografía en columna para dar un jarabe con un rendimiento aproximado del 50 %, que contenía además impurezas menores y disolventes de columna. La reducción del aldehído con un exceso de hidruro de aluminio litio da como resultado elevados rendimientos del compuesto de hidroximetil estradiol racémico 4 como una espuma vítrea.

20 A fin de preparar NDC-1022 y NDC 1033, se preparó el compuesto intermedio de metoximetilo 7 mediante metilación del compuesto 4 con hidruro de sodio y yoduro de metilo. El compuesto 7 se purificó mediante cromatografía en columna para dar una espuma vítrea. Desproteger los grupos protegidos proporcionaría el compuesto de 6-metoximetil estradiol racémico 8. Se llevó a cabo la separación de los enantiómeros utilizando HPLC preparativa quiral para proporcionar los compuestos NDC1022 y NDC-1033. Para el compuesto NDC-1022, se identificó una pureza quiral de >95:5 *R*:*S*. Para el compuesto NDC-1033, se identificó una pureza quiral de 86:14 *S*:*R*. Está comprendido también en el nivel de una persona normalmente experta en la materia que emplea RMN para la determinación de la estereoquímica absoluta de la posición 6, donde los protones 4 y 6 son diagnósticos.

Ejemplo 3

Métodos de preparación de los compuestos NDC-1055 y NDC-1066

- 35 Utilizando las mismas metodologías descritas en el Ejemplo 2, se sintetizó el compuesto 4. A continuación se consiguió la desprotección del compuesto 4 con cloruro de hidrógeno catalítico en metanol, y se separó el compuesto 5 racémico sobre HPLC preparativa quiral para dar las dos fracciones, una enriquecida para NDC-1055 y la otra enriquecida para NDC-1066. Para cada compuesto, la pureza quiral de >95:5 *R*:*S* y *S*:*R* se realizó respectivamente. Se estableció la estereoquímica absoluta de la posición 6 mediante RMN, donde los protones 4 y 6 son diagnósticos.

Ejemplo 4

Métodos de determinación de la capacidad de unión al receptor de estrógenos utilizando la actividad de la luciferasa.

- 45 Se mantuvieron células CV-1 de riñón negativas para el receptor de estrógeno en medio Eagle modificado por Dulbecco con 4,5 g/l de glucosa suplementada suero bovino fetal al 10 % y 100 unidades / ml de penicilina-estreptomomicina a 37 °C en atmósfera humidificada en CO₂ al 5 %.

- 50 A continuación se sembraron las células en placas de 6 pocillos a una densidad de 2 x 10⁵ células por pocillo en medio de Eagle modificado Dulbecco exento de rojo fenol que contenía carbón activo-dextrano-suero bovino fetal purificado al 10 %. Se transfectaron las células CV-1 utilizando el reactivo LipofectAMINE de acuerdo con el protocolo del fabricante. Las transfecciones contenían 1,5 ug de plásmido indicador (que contenía ERE-tk-luciferasa que contenía un único ERE clonado en la dirección 5' del promotor de la timidina quinasa y el gen de la luciferasa) y 0,5 ug o bien del vector ERα o bien del vector de expresión ERβ (que contiene la secuencia de codificación de longitud completa de CMV-ERα o CMV-ERβ respectivamente).

- 60 Al día siguiente, las células no recibieron tratamiento (controles) o se trataron solo con estradiol (1 nM) o estradiol más un compuesto Endece (a concentraciones variables). Después de 16-24 horas, se recogieron las células y se evaluaron para la actividad de la luciferasa.

- 65 Al principio, las monocapas de células se lavaron dos veces con solución salina tamponada con fosfato enfriada en hielo y se incubaron durante 15 minutos en 250 ul de 1X de reactivo de lisis de cultivo celular (Promega, Madison, WI). Se transfirieron los extractos celulares a un tubo nuevo y se evaluaron usando el sistema de ensayo de la luciferasa (Promega). Para cada ensayo, se diluyeron 10 ul de extracto con 90 ul de 1X reactivo de lisis de cultivo celular. Se leyó la luminiscencia utilizando un luminómetro AutoLumat LB953.

Un compuesto o una de sus sales, que se identificó mediante el ensayo de descrito en el presente documento es un compuesto que inhibe la unión del estradiol en el sitio de unión al ligando de los receptores de estrógeno. Específicamente, es un compuesto o una sal del mismo que se prevé que produce la estasis de la proliferación celular y de acuerdo con ello ejerce su actividad farmacológica. Como se ha indicado en las Figuras 3 y 4, los

5 compuestos principales NDC-1022, NDC-1033 presentan un fuerte comportamiento competitivo frente al estradiol en la unión a cualquiera de los receptores produciendo la estasis de la actividad de la proliferación celular.

Ejemplo 5

10 Método de determinación de los valores de CI_{50} de los compuestos candidatos. Las líneas celulares citadas se mantuvieron a una concentración aproximada al 5 % de CO_2 , 37°C, humedad relativa del 95 % en el medio adecuado para esta línea celular. Las células se subcultivaron cada dos a tres días y se sembraron en placas de 96 pocillos de fondo transparentes a una densidad de 1×10^4 células/pocillo y se incubó a aproximadamente CO_2 al 5 %, 37 °C durante la noche antes del inicio del ensayo. Para comenzar los ensayos de viabilidad celular, se substituyó el

15 medio en la placa de células (100 IL) se substituyó con medio reciente (100 IL). Los artículos de ensayo se diluyeron en serie 1.2 en medio reciente por duplicado y se añadieron a las células (100 µl) a concentraciones finales de muestras de 0,46, 1,37, 4,12, 12,35, 37,04, 111,1, 333,3 y 1000 µM (≤ 1 % DMSO) en un volumen total de 200 µl. Los pocillos que no contenían células y los pocillos que contenían células lisadas con TritonX al 0,1 % se utilizaron para los controles de los valores iniciales. Se usó tamoxifeno como control conocido para cada ensayo y se

20 analizará solo DMSO como vehículo control. Se incubaron las muestras a aproximadamente 37 °C en atmósfera humidificada en CO_2 al 5 % durante 72 horas. La placa se controló 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 terminó cuando debía y la viabilidad celular se midió como se describe a continuación.

25 Se determinó la viabilidad celular utilizando un kit comercialmente disponible para determinar los niveles de ATP mediante luminiscencia. En resumen, la placa de células tenía el medio eliminado y substituido con 100 µl de medio reciente, y el tampón y el sustrato liofilizado se equilibraron a temperatura ambiente. El tampón se utilizó para reconstituir el sustrato exactamente antes de la adición a los pocillos de la placa de células (100 µl por pocillo). Se

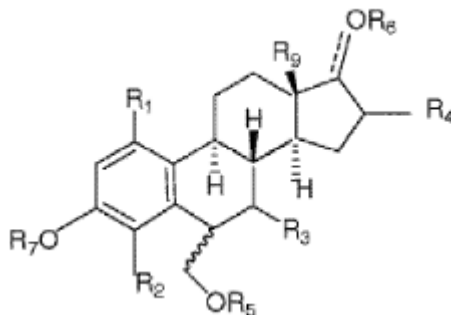
30 colocó la placa en el lector de placas Infinite M200, se dejó agitar durante 10 minutos seguido por un periodo de espera de 10 minutos, la placa se leyó utilizando un tiempo de integración de 0,5 s sin atenuación.

Los controles de los valores iniciales promedio (pocillos sin Triton X-100 o sin células) se sustrajeron de la luminiscencia total para dar la luminiscencia neta para este pocillo. Este total se comparó con el control del DMSO

35 solo. Se calculó la CI_{50} como la concentración que condujo a una respuesta del 50 % en comparación con las células del vehículo control. Las Figuras 5 y 6 representan gráficamente los resultados de los ensayos. De acuerdo con ello, las personas normalmente expertas en la materia pueden apreciar que la configuración R de la composición reivindicada instantáneamente son superiores a los otros estereoisómeros.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto que tiene la estructura de la Fórmula (I):



Fórmula (I)

en el que R₁, R₂, R₃, R₄, R₆, R₇ y R₉ son independientemente hidrógeno, alquilo C₁ a C₆ o alquilo sustituido, restos halógeno, sulfato o glucurónido;

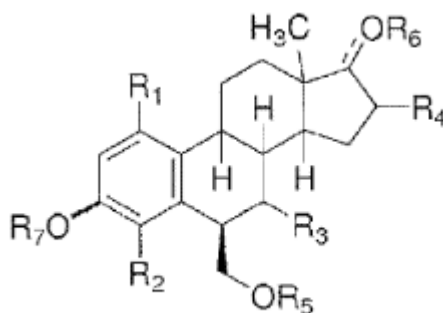
R₅ es alquilo C₁ a C₆ o alquilo sustituido,

el símbolo --- representa o bien un enlace simple o bien un doble enlace y cuando el símbolo --- es un doble enlace en la posición 17 forma un grupo ceto; y el símbolo ~~~~~ representa cualquier tipo de enlace con independencia de la estereoquímica; y los enantiómeros, otros isómeros estereoquímicos, hidratos, solvatos, tautómeros y sales farmacéuticamente aceptables de dichos compuestos.

2. El compuesto de Fórmula (I) de la reivindicación 1, en el que R₁, R₂, R₃, R₄, R₆ y R₇ son independientemente hidrógeno, metilo o etilo.

3. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1-2, en el que el símbolo ~~~~~ representa un enlace que forma un estereoisómero R o un estereoisómero S.

4. Un compuesto de acuerdo con la Fórmula (I) de la reivindicación 1 que tiene la estructura:



en la que:

R₁, R₂, R₃, R₄ se seleccionan independientemente de entre el grupo que consiste en H, alquilo C₁-C₆, alquilo sustituido y halógeno;

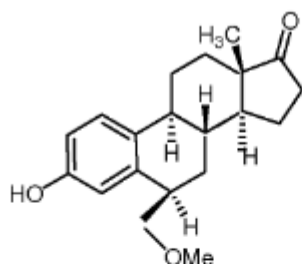
R₅ es alquilo C₁-C₆,

R₆, R₇ se seleccionan independientemente de entre el grupo que consiste en H, alquilo C₁-C₆, y el símbolo --- representa o bien un enlace simple o bien un doble enlace en la posición 17, con la condición que cuando el símbolo --- es un doble enlace, forme un grupo ceto en la posición 17 y ningún R₆ esté presente.

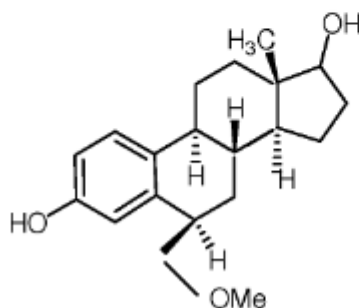
5. El compuesto de la reivindicación 4 en el que R₆ y R₇ se seleccionan independientemente de entre un grupo que consiste en metilo e hidrógeno.

6. El compuesto de las reivindicaciones 1 o 4 en el que R₅ es metilo y R₁, R₂, R₃, R₄ son hidrógenos.

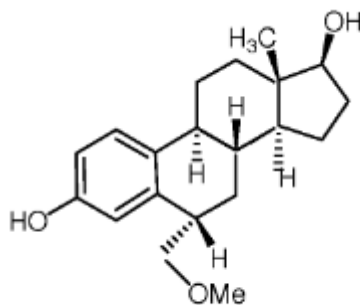
7. Un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que tiene la fórmula seleccionada de entre el grupo que consiste en:



NDC-1099



NDC-1022



NDC-1033

5

8. El compuesto de la reivindicación 1, en el que el carbono en la posición 6 es un centro asimétrico que tiene una configuración R.

10 9. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de las reivindicaciones 1 o 4 y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

10. Una composición farmacéutica de la reivindicación 9 en la que el compuesto tiene un centro asimétrico en la posición 6 que tiene una configuración R.

15

11. Una composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 10 en la que el compuesto aparece sustancialmente exento de otros isómeros.

12. Una composición farmacéutica de las reivindicaciones 9 o 10 en la que el compuesto aparece como una mezcla racémica o como diastereómeros o enantiómeros individuales.

20

13. Un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1-8 o una composición de una cualquiera de las reivindicaciones 9-12,

para su uso en la inhibición del crecimiento de células cancerosas de un tumor sólido seleccionado de entre el grupo que consiste en cáncer de mama, pancreático, de pulmón, de colon, de próstata, ovárico, de cerebro, de hígado, de bazo, de riñón, de ganglios linfáticos, de intestino delgado, de células sanguíneas, de hueso, de estómago, de endometrio, de testículo, de ovario, del sistema nervioso central, de piel, de cabeza y cuello, de esófago y de médula ósea.

25

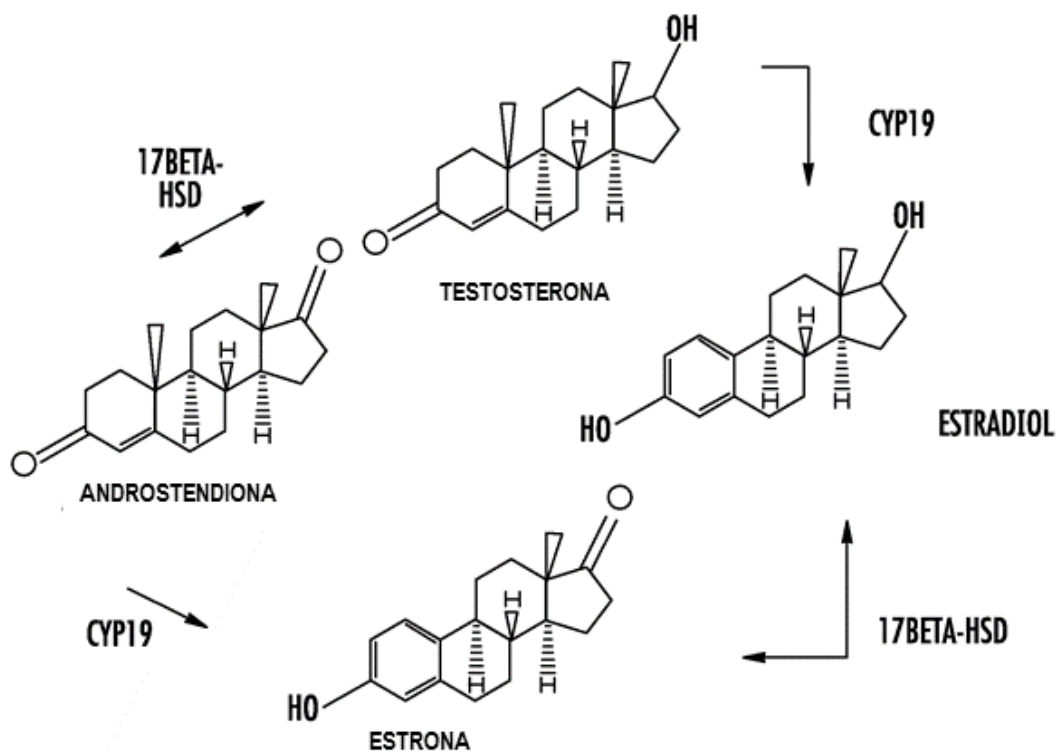


FIG. 1 RUTA BIOSINTÉTICA DEL ESTRADIOL

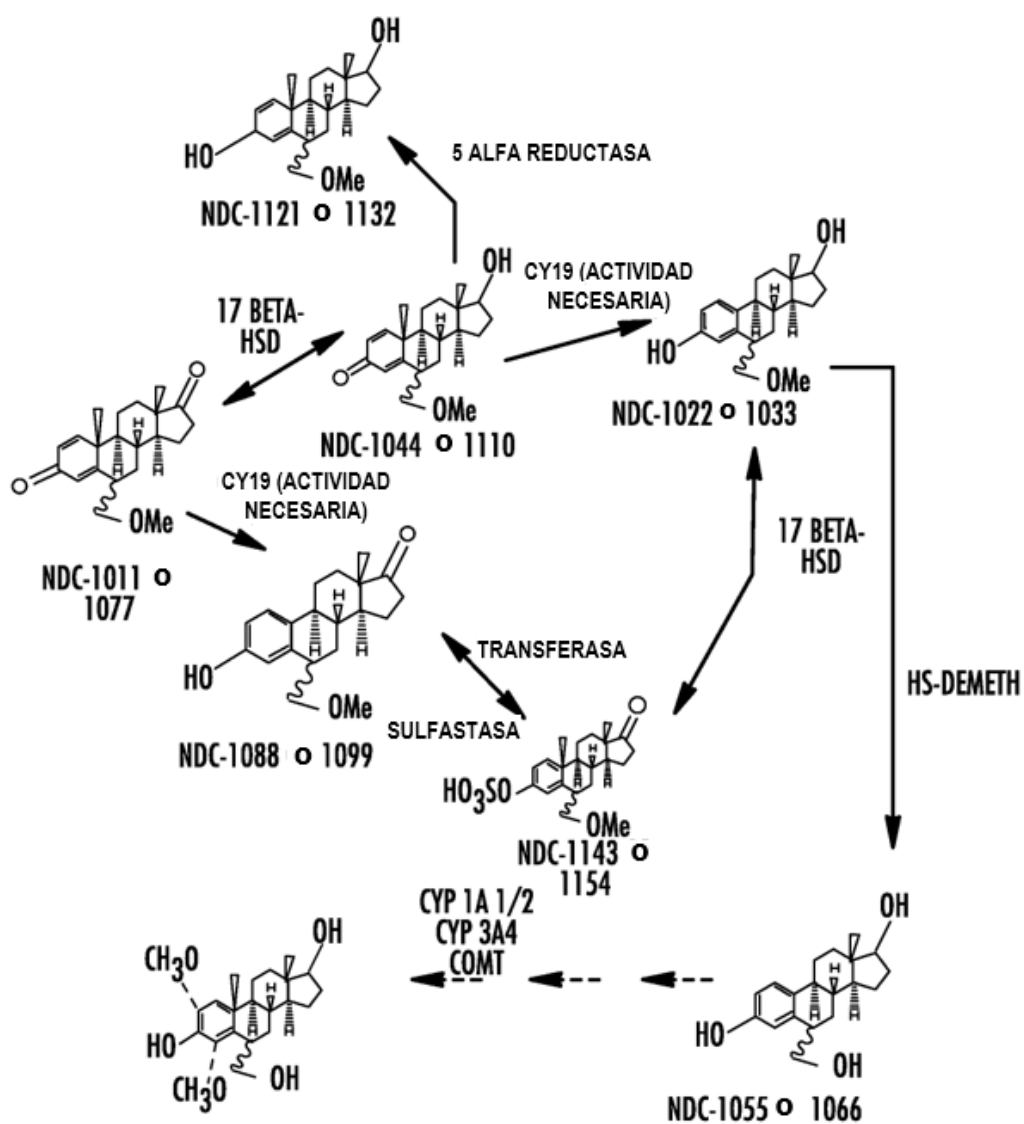


FIG. 2 RUTA METABÓLICA PREVISTA DE LOS COMPUESTOS PRESENTADOS

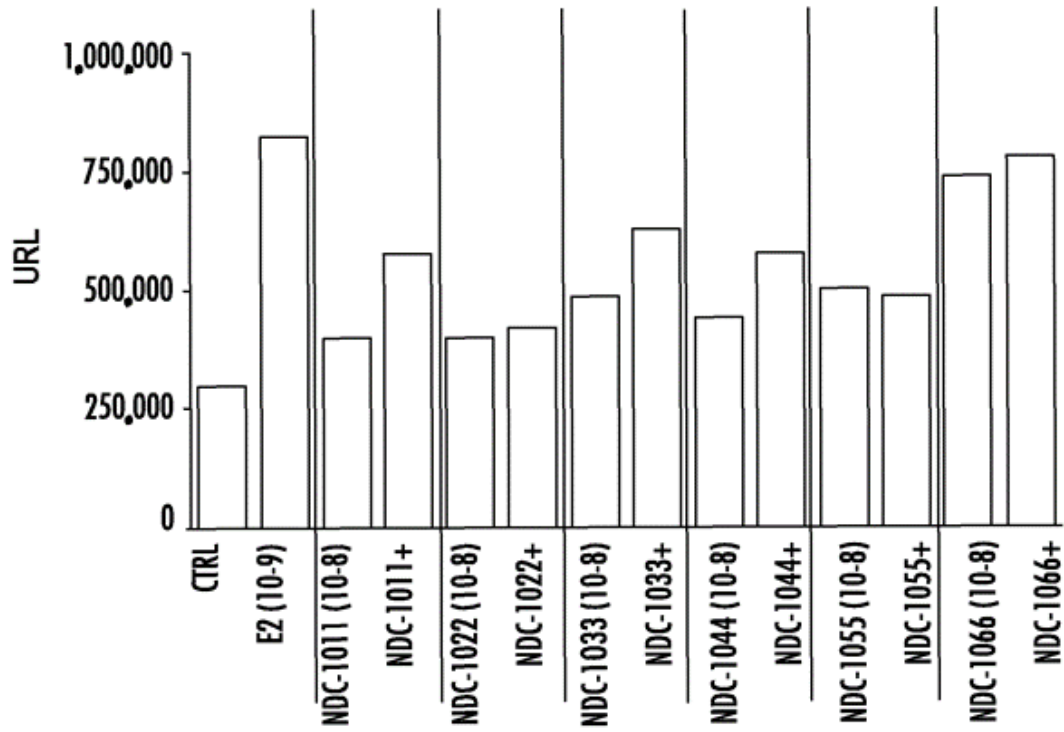


FIG. 3 ER BETA + ERE

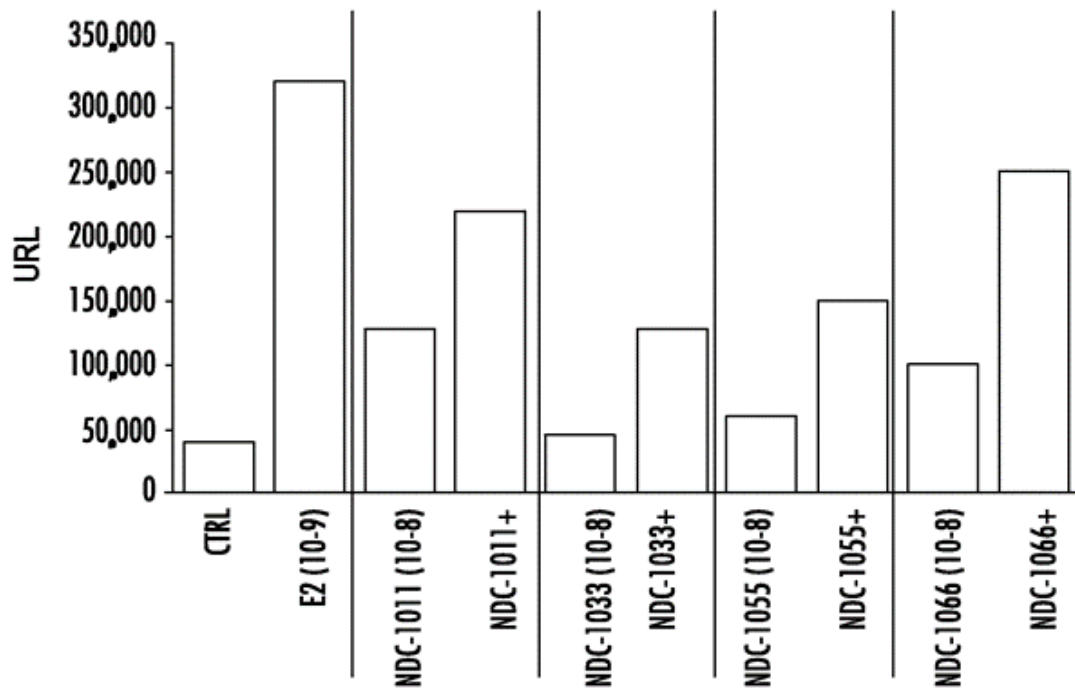


FIG. 4 ER ALPHA + ERE

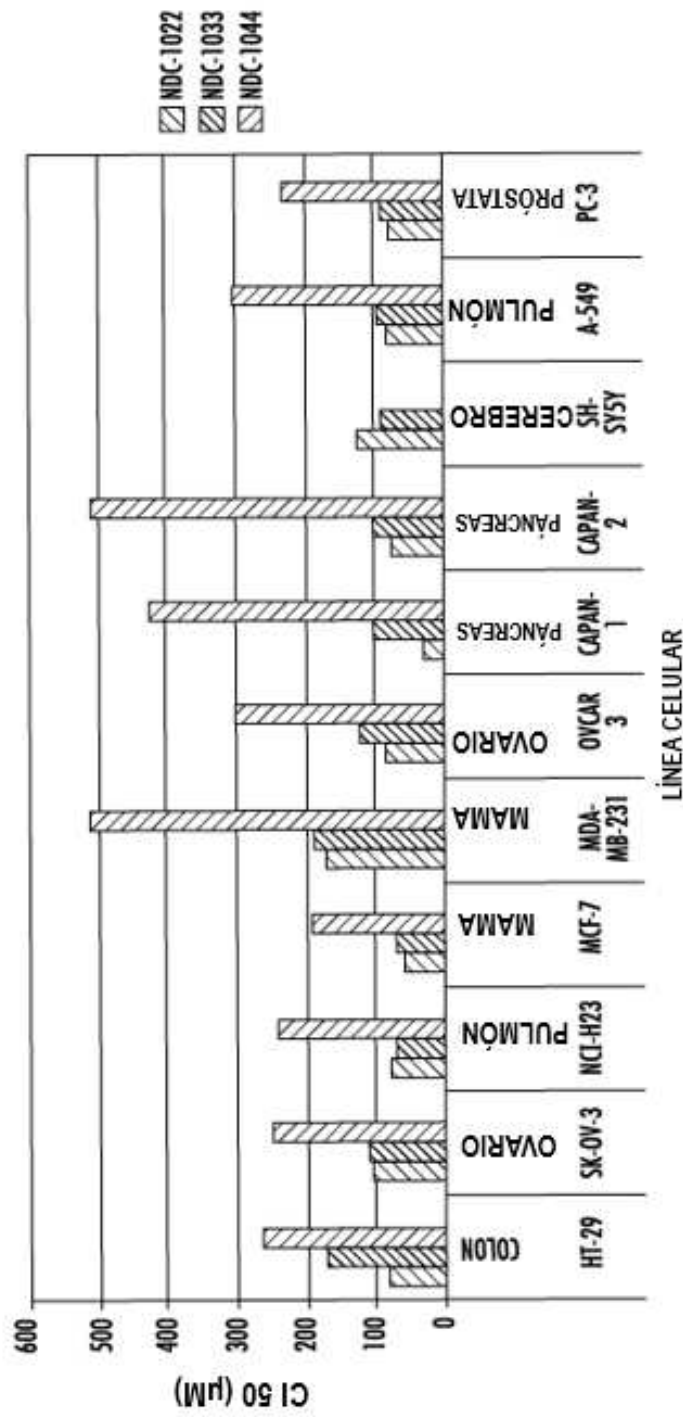


FIG. 5 RESUMEN DE DATOS DE CI 50 PARA NDC-1022, NDC-1033 Y NDC-1044

LÍNEA CELULAR	TIPO TUMOR	NDC-1022	NDC-1033	NDC-1044
HT-29	COLON	78,5	169,9	265,7
SK-OV-3	OVARIO	102,8	108,1	247,9
NCI-H23	PULMÓN	75,6	67,6	239,4
MCF-7	MAMA	53,5	68,5	190,1
MDA-MB-231	MAMA	167,8	184,8	512,2
OVCAR-3	OVARIO	85,8	117,4	298,8
CAPAN-1	PÁNCREAS	26,3	98,3	425,4
CAPAN-2	PÁNCREAS	71,2	103,9	509,5
SH-SY5Y	CEREBRO	122,3	86,9	ND
A-549	PULMÓN	81,3	92,0	304,7
PC-3	PRÓSTATA	77,2	86,0	233,8

FIG. 6

RESUMEN DE DATOS NUMÉRICOS DE CI50 PARA
NDC-1022, NDC-1033 Y NDC-1044 (μM)