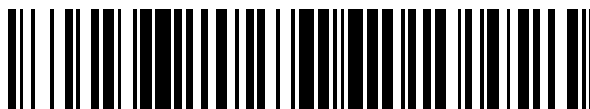


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 641 779**

51 Int. Cl.:

**A61K 31/56** (2006.01)

**A61K 31/58** (2006.01)

**C07J 1/00** (2006.01)

12

## TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **03.06.2009 PCT/US2009/046120**

87 Fecha y número de publicación internacional: **10.12.2009 WO09149176**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **03.06.2009 E 09759335 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **09.08.2017 EP 2300016**

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

30 Prioridad:

**04.06.2008 US 132857**

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

**13.11.2017**

73 Titular/es:

**ENDECE, LLC (100.0%)  
1001 West Glen Oaks Lane, Suite 15B  
Mequon, WI 53092, US**

72 Inventor/es:

**YARGER, JAMES**

74 Agente/Representante:

**VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro**

ES 2 641 779 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 6-sustituídos y métodos de uso

## 5 Campo de la invención

La presente invención se refiere a composiciones y a métodos de elaboración y uso de compuestos de estradiol 6-sustituídos incluyendo, pero sin limitación, compuestos de 6-alcoxialquil-estradiol. En particular, la presente invención se refiere a compuestos (*R* o *S*)-6-metiloxiamina o derivados de 6-aminoalquilo (8 *R* o *S*, 9*S*, 13 *R* o *S*, 14*S*, 17 *R* o *S*)-13-metil-7, 8, 9, 11, 12, 14, 15, 16, 17-decehidrociclopenta [a] fenanteren-3,17-diol y sus sales farmacéuticamente aceptables según lo expuesto y descrito en el presente documento. La presente invención también se refiere a composiciones farmacéuticas que comprenden dichos compuestos tanto para aplicaciones de diagnóstico como para el uso en el tratamiento de afecciones proliferativas tales como el cáncer.

## 15 Antecedentes de la invención

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

Con más de un millón de casos de cáncer diagnosticados al año, y cobrándose el cáncer más de medio millón de vidas en Estados Unidos al año, hay una creciente necesidad de nuevas modalidades terapéuticas contra dicha 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.

En los últimos años, ha habido un aumento significativo del tratamiento de estas afecciones. Al menos una de las historias de éxito en el tratamiento clínico 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 bien en sus sitios receptores como en un punto de su síntesis.

Como es evidente, la investigación de la función y de la 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 y 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 dichos receptores y generar una respuesta celular.

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

Aunque ambos tipos de receptores se unen al estrógeno, además de otros agonistas y antagonistas, los dos receptores tienen concentración de localización claramente diferente dentro del organismo. Aparte de algunas diferencias estructurales entre los tipos  $\alpha$  y  $\beta$ , cuando forman complejos con el estrógeno, los dos demostraron señalizar de forma opuesta, activando el estrógeno la transcripción en presencia del receptor de estrógeno  $\alpha$  (ER $\alpha$ ) e inhibiendo la transcripción en presencia del receptor de estrógeno  $\beta$  (ER $\beta$ ).

El tamoxifeno es principalmente uno de los primeros moduladores selectivos de los receptores de estrógeno que se ha convertido en terapia de primera línea para el tratamiento hormonal del cáncer de mama, tanto para el tratamiento adyuvante 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 en 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. Dicha deformación estructural del receptor podría explicar el profundo perfil de efectos secundarios asociado al uso del tamoxifeno.

Al menos otra desventaja del tamoxifeno es su ineficacia contra los tumores no dependientes de estrógenos y su eficacia inferior en mujeres pre-menopáusicas. Además, el tamoxifeno sufre la isomerización en condiciones fisiológicas de un compuesto antiestrogénico terapéuticamente útil a un isómero estrogénico que puede estimular el crecimiento de células tumorales dependientes de estrógenos, proporcionando un resultado clínico no deseado, en particular, entre pacientes que padecen tumores dependientes de estrógenos.

La patente de EE.UU. 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 en condiciones fisiológicas, estando, por tanto, los efectos secundarios estrogénicos observados para el tamoxifeno ausentes. Estos compuestos de hidrazona se han propuesto como tratamientos alternativos para los cánceres de mama dependientes de estrógenos. Entre ellos, se describen las benzofenona-nitrofenil-hidrazonas sustituidas tales como 4,4'-dihidroxibenzofenona-2,4-dinitrofenilhidrazona, por ser superiores.

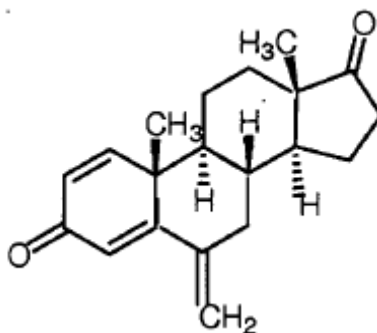
El complejo del receptor y el antiestrógeno tal como los compuestos a base de hidrazona o el tamoxifeno puede entonces unirse a la cromatina nuclear de una manera atípica durante un tiempo más prolongado que el complejo de receptor de hormona normal. Los antiestrógenos también pueden ser capaces de agotar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

También ha habido un interés creciente en el uso de inhibidores de la aromatasa para bloquear específicamente la producción local de estrógenos que puede contribuir sustancialmente a una enfermedad sensible a las hormonas, tal como el cáncer de mama. La aromatasa (CYP19) se describe como la principal enzima que convierte los andrógenos en estrógenos, en mujeres tanto pre- como post-menopáusicas. La privación de estrógenos a través de 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.

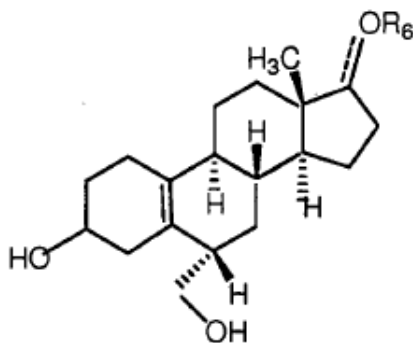
El exemestano (que se comercializa como Aromasin y se describe químicamente como 6-metilenandrosta-1,4-dieno-3,17-diona) actúa como un inactivador esteroideo irreversible de la aromatasa. Se cree que actúa como un falso sustrato para la enzima aromatasa, y se procesa en un producto intermedio que se 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-alkilidenandrosta-1,4-dieno-3,17-diona, tales como exemestano, y métodos de su preparación. La patente de EE.UU. 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 EE.UU. 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 la preparación del exemestano se desvela en la patente de EE.UU. 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 a través de 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:



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

En la patente de EE.UU. n.º 3.377.363, de Tadanier *et al.*, se desvela un derivado sustituido con tri-hidroxilo de estranos, y no se desvela el sustituyente de 3-hidroxi sobre el anillo aromático de los presentes compuestos.

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

Tanenbaum *et al.*, "Crystallographic comparison of the estrogen and progesterone receptor's ligand binding domains", *Proc. Natl. Acad. Sci. EE.UU., Biochemistry*, Vol. 95, pág. 5998-6003, desvela el mecanismo de receptores 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 del ER. Se desvela que un grupo aromático plano sin el sustituyente de 19-metilo se ve favorecido.

La patente de EE.UU. n.º 5.892.069, de D'Amato describe derivados de estradiol que inhiben la polimerización de la tubulina durante la mitosis celular. Dado lo anterior, sigue existiendo la necesidad de identificar agentes nuevos y eficaces para tratar el cáncer.

Otra preocupación en el campo es la eventual conversión de algunos cánceres dependientes de estrógenos, es decir, del cáncer de mama, en tipos independientes de los estrógenos. Esto puede representarse por una pérdida natural de la diferenciación por las células tumorales. Se ha observado que las células cancerosas dependientes de los estrógenos, con frecuencia, en última instancia pierden su capacidad para producir receptores de proteínas de unión a estrógenos, y degeneran en cánceres potencialmente mortales independientes de los 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 los estrógenos y, por tanto, puede potenciar la conversión de un cáncer dependiente de estrógenos en un cáncer no dependiente de estrógenos.

Los cánceres de otros órganos, tales como de pulmón y colon, pueden no afectar a los receptores de proteínas de unión a los estrógenos y, por tanto, se consideran independientes de los estrógenos para la replicación celular. Dichos tumores independientes de los estrógenos no son tan susceptibles a las propiedades antiestrogénicas de fármacos tales como el tamoxifeno, inhibidores de la aromatasa. Así pues, se deben usar otros agentes quimioterapéuticos para tratar dichos tumores. Se ha informado de muchos compuestos que son eficaces en grados variables contra los tumores independientes de estrógenos.

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

Por otra parte, los tumores de crecimiento lento con una pequeña fracción de crecimiento, por ejemplo, carcinomas de colon o pulmón, con frecuencia, son insensibles a fármacos citotóxicos. Aparte del tratamiento de tumores dependientes de estrógenos e independientes de estrógenos, muchos de los fármacos citotóxicos que se están

usando actualmente para otras enfermedades proliferativas con células que crecen rápidamente implicaron afecciones hiperproliferativas no cancerosas o no malignas.

También la creciente importancia del tratamiento terapéutico eficaz de enfermedades víricas tales como el SIDA, herpes, diversos tipos de hepatitis e infecciones bacterianas, en especial, entre pacientes inmunodeprimidos, exige modos alternativos de tratamiento con un perfil de efectos secundarios favorable.

Por consiguiente, no solo existe la necesidad de agentes quimioterapéuticos contra el cáncer nuevos y mejores que se puedan usar para tratar tanto los tumores dependientes de estrógenos como independientes de estrógenos con un riesgo mínimo de toxicidad sistémica desafiando la calidad de vida para dicha población frágil de pacientes, sino también de remedios terapéuticos que se dirijan a afecciones hiperproliferativas no cancerosas que puedan beneficiarse de dosis eficaces de derivados de estradiol. Las células hiperproliferativas pueden ser células normales o células anómalas que crecen rápidamente, y pueden incluir tejido que tenga células endógenas de rápido crecimiento o su subpoblación anómala, u otros tejidos, en general, exógenos para el paciente. El documento US 2008/0119447 también describe otros derivados de 6-alcóxialquil-estradiol y métodos de su uso. Ninguna de las enseñanzas ni la técnica anterior proporcionan un derivado de estradiol terapéutico con perfil de efectos secundarios favorable que se pueda usar para estos tipos de afecciones.

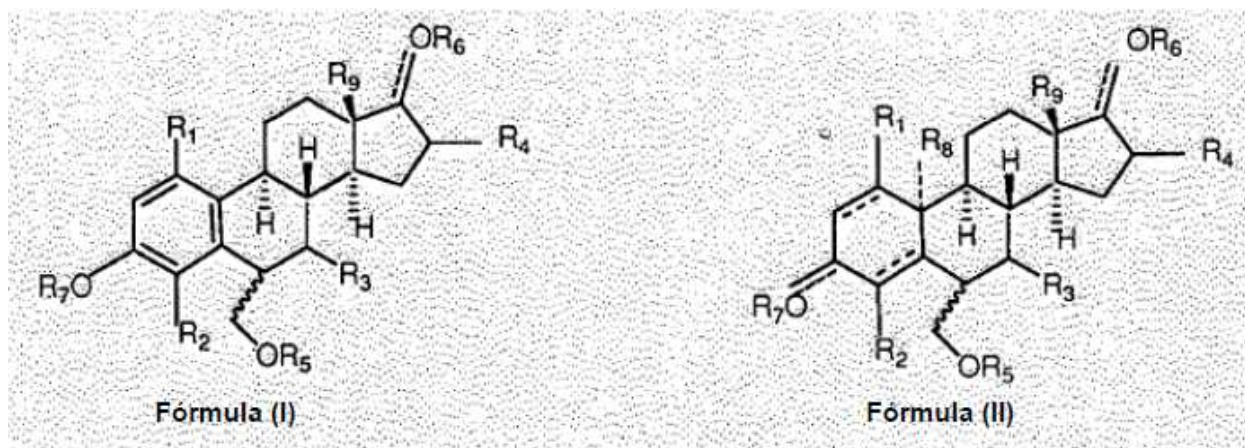
### Sumario de la invención

A la luz de lo anterior, la presente invención se dirige a compuestos quimioterapéuticos, a composiciones y a su uso y preparación, venciendo así diversas deficiencias y limitaciones del estado de la técnica, que incluyen aquellas las esbozadas 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.

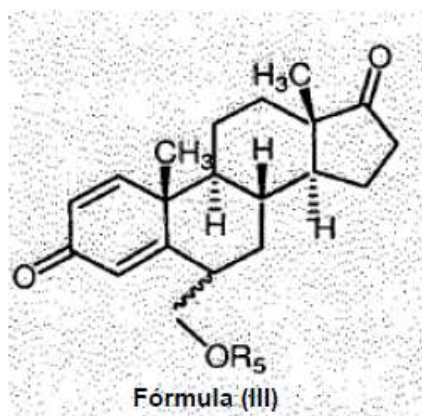
Otro objetivo de la presente invención es proporcionar compuestos para el tratamiento de tumores independientes de estrógenos con compuestos que tengan esencialmente menos efectos secundarios que aquellos actualmente disponibles para los pacientes.

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

La presente invención incluye uno cualquiera de los siguientes conjuntos de compuestos representados en la reivindicación 1. Se describen compuestos comparativos como un compuesto de Fórmula (I) y (II).

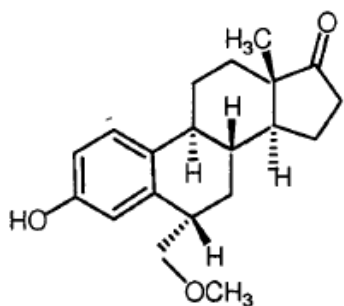


en las que R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub>, R<sub>4</sub>, R<sub>5</sub>, R<sub>6</sub>, R<sub>7</sub>, R<sub>8</sub> y R<sub>9</sub> se seleccionan independientemente del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo C<sub>1</sub> a C<sub>6</sub> o alquilo sustituido, halógeno, sulfato o fracciones de glucurónido; y el símbolo ---- representa bien un enlace simple o un doble enlace, y cuando el símbolo ---- es un doble enlace y forma un grupo ceto en la posición 3 o 17, entonces R<sub>7</sub> o R<sub>6</sub> no está presente, respectivamente; el símbolo --- representa la presencia o ausencia de un enlace en la posición 10; y el símbolo  representa cualquier tipo de enlace independientemente de la estereoquímica. Los compuestos también engloban los enantiómeros, otros isómeros estereoquímicos, hidratos, solvatos, tautómeros y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos. Otros compuestos comparativos incluyen compuestos que tienen la Fórmula (III) y (VIII), y su uso en métodos de inhibición del crecimiento de células cancerosas que comprenden proporcionar a un paciente un profármaco de Fórmula (III), en la que R<sub>5</sub> es un metilo o hidrógeno;

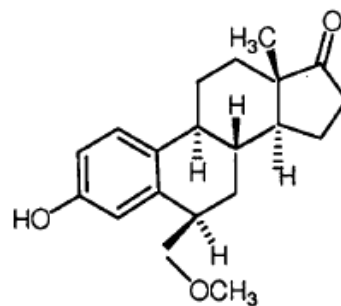


y formar metabolitos que tienen Fórmulas (IV), (V), (VI), (VII) y (VIII), en las que cualquiera de los  $R_3$ ,  $R_4$ ,  $R_5$ ,  $R_7$ ,  $R_8$  de sus homólogos de Fórmula II puede ser un metilo o un hidrógeno. Dichos metabolitos podrían incluir, por ejemplo,

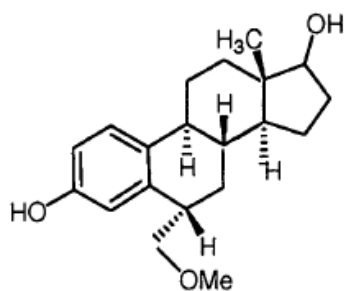
5



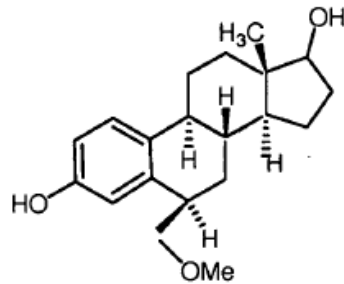
(IV) A - NDC-1088



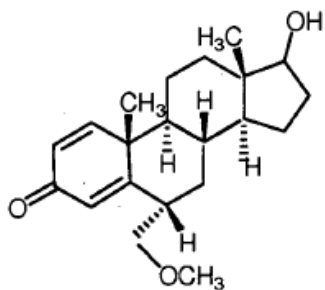
(IV) B - NDC-1099



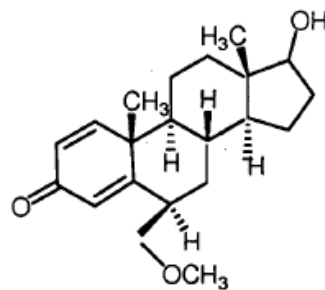
(V) A - NDC-1033



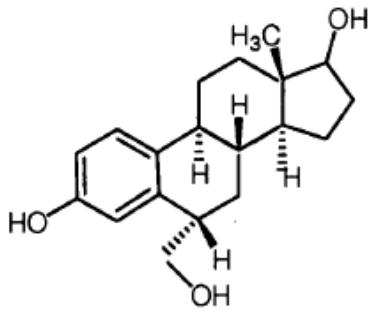
(V) B - NDC-1022



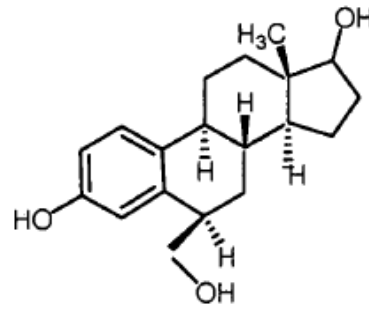
(VI) A - NDC-1110



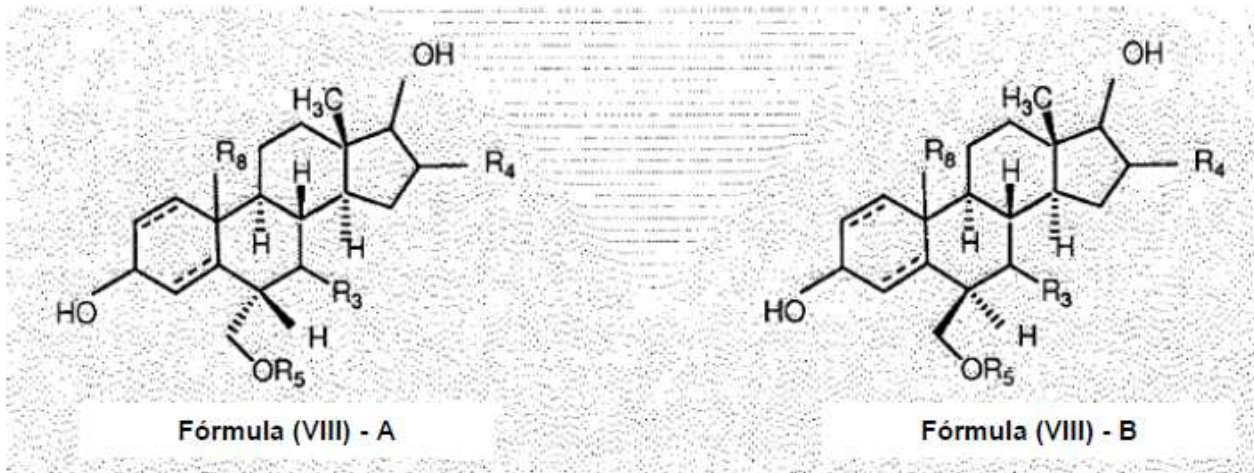
(VI) B - NDC-1044



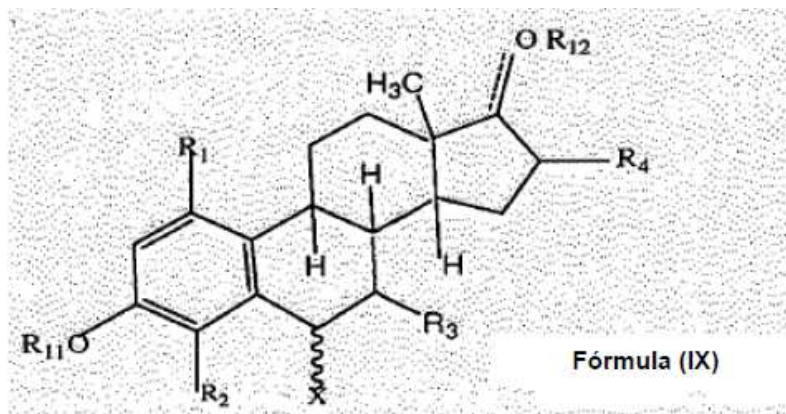
(VII) A - NDC-1066



(VII) B - NDC-1055



Un aspecto de la presente invención se refiere a derivados de amina según lo definido en la reivindicación 1. En al menos dicho aspecto de la invención, las fracciones de amina se colocan en posiciones adecuadas del núcleo molecular para mejorar las propiedades físicas y clínicas. La Fórmula (IX) representa una estructura de núcleo general para la presente invención. La Fórmula (IX) representa compuestos que tienen la estructura:



en la que R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub> y R<sub>4</sub> se seleccionan cada uno independientemente del grupo que consiste en H, alquilo C<sub>1-6</sub> o alquilo sustituido y halógeno;

R<sub>11</sub> es H;

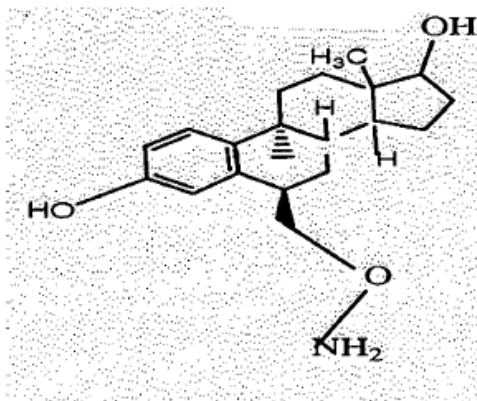
R<sub>12</sub> es H, y X se selecciona del grupo que consiste en: -(CH<sub>2</sub>)-O-NH<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>ONHCH<sub>3</sub>, -CH<sub>2</sub>ON(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, -CH<sub>2</sub>ONHC(=O)CH<sub>3</sub>, -CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>, -CH<sub>2</sub>NHCH<sub>3</sub>, -CH<sub>2</sub>N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, -CH<sub>2</sub>NHC(=O)CH<sub>3</sub>, -CH<sub>2</sub>NHOH, -CH<sub>2</sub>NHOCH<sub>3</sub>, -CH<sub>2</sub>NHNH<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>NHNHCH<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub>NHN(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, -CH<sub>2</sub>NHNHC(=O)CH<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub>N(CH<sub>3</sub>)NH<sub>2</sub>, -CH<sub>2</sub>N(CH<sub>3</sub>)NHCH<sub>3</sub>, -CH<sub>2</sub>N(CH<sub>3</sub>)NHC(=O)CH<sub>3</sub>, -OCH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>, -OCH<sub>2</sub>NHCH<sub>3</sub>, OCH<sub>2</sub>NHC(=O)CH<sub>3</sub>, -NHCH<sub>2</sub>OH, -NHCH<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub>, -NHCH<sub>2</sub>OC(=O)CH<sub>3</sub>, -NHCH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>, -NHCH<sub>2</sub>NHCH<sub>3</sub>, -NHCH<sub>2</sub>N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, -NHCH<sub>2</sub>NHC(=O)CH<sub>3</sub>, -N(CH<sub>3</sub>)CH<sub>2</sub>OH, -

$N(CH_3)CH_2OCH_3$ ,  $-N(CH_3)CH_2OC(=O)CH_3$ ,  $-N(CH_3)CH_2NH_2$ ,  $-N(CH_3)CH_2NHCH_3$ ,  $-N(CH_3)CH_2N(CH_3)_2$  y  $-N(CH_3)CH_2NHC(=O)CH_3$ ;

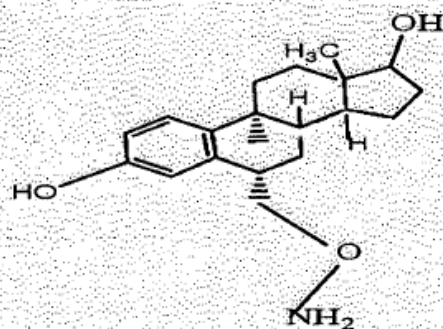
el símbolo  $----$  representa un enlace simple; y el símbolo  $\sim$  representa cualquier tipo de enlace independientemente de la estereoquímica; y los respectivos enantiómeros, otros isómeros estereoquímicos, hidratos, solvatos, tautómeros y sales farmacéuticamente aceptables de dichos compuestos.

5

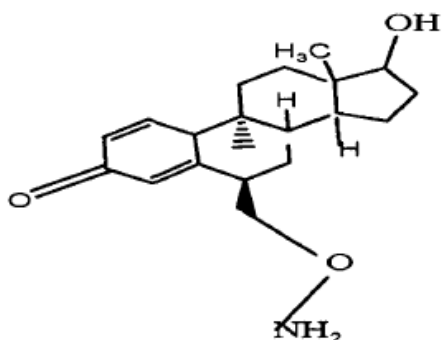
Otro aspecto de la presente divulgación se refiere a la fabricación y al uso de los siguientes compuestos representados por la Fórmula (X) [los compuestos (XI)-(XIII) son compuestos comparativos]



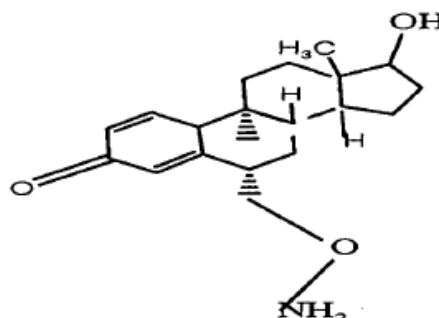
Fórmula (X) - A, NDC 1187



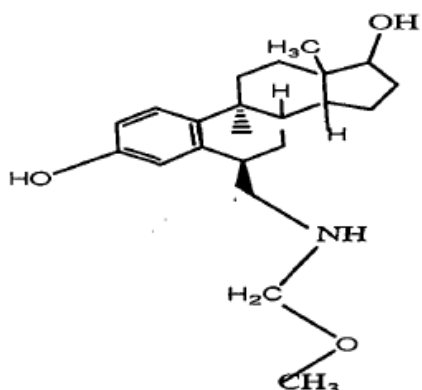
Fórmula (X) - B, NDC 1209



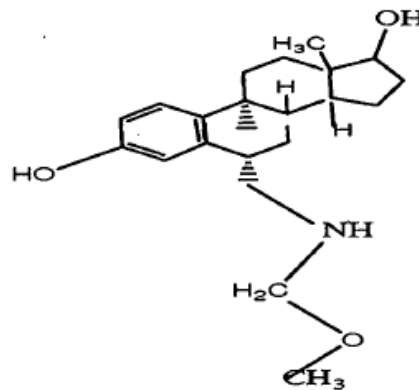
Fórmula (XI) - A, NDC 1220



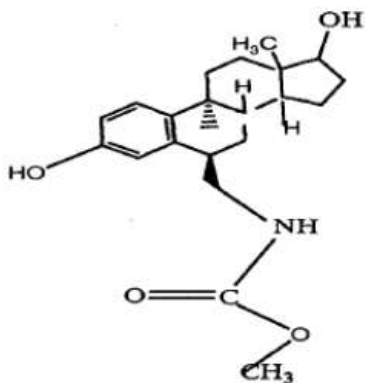
Fórmula (XI) - B, NDC 1231



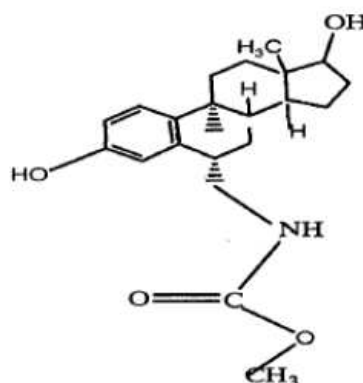
Fórmula (XII) - A, NDC 1242



Fórmula (XII) - B, NDC 1253



Fórmula (XIII) - A, NDC 1264



Fórmula (XIII) - B, NDC 1275

En dicho aspecto de las invenciones, los compuestos de la presente invención se pueden contemplar para su administración al sujeto mamífero en forma de un profármaco. Sin embargo, se prevé que dichos compuestos son los más eficaces cuando se incorporan en nanopartículas, liposomas o sistemas de matriz polimérica, u otros sistemas de administración que son capaces de administrarse directamente a una masa sólida o dirigirse a tejidos de interés a través de agentes de dirección adecuados.

También se describen sistemas de administración que permiten la conversión de análogos adecuados que se pueden convertir en un compuesto activo especificado *in vivo* tras su administración al paciente para ejercer su actividad terapéutica.

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

Los compuestos de la presente invención también se pueden usar en tratamientos para el cáncer terapéuticos basados en combinación en un sujeto mamífero.

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

#### Breve descripción de los dibujos

Figura 1 - muestra la vía biosintética del estradiol.

Figura 2 - muestra una vía metabólica prevista para algunos de los compuestos comparativos.

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

Figura 4 - muestra el efecto de NDC-1011, NDC-1033, NDC-1055 y NDC-1066 sobre la actividad del receptor de estrógenos alfa (ER- $\alpha$ ) medida por la expresión de luciferasa (URL = unidades relativas de luz). Las células CV-1 se transfectaron con dos construcciones plasmídicas, la construcción indicadora ERE-tk-luciferasa y una construcción CMV-ER- $\alpha$ . Las células CV-1 de control (Ctrl) transfectadas no recibieron tratamiento, mientras que el estradiol se añadió solo a  $10^{-9}$  M (1 nM). En el caso de los compuestos de NDC, cada compuesto se añadió respectivamente bien solo a  $10^{-8}$  M (10 nM) (como se hace evidente en la columna izquierda para cada compuesto de ensayo) o a  $10^{-8}$  M más  $10^{-9}$  M de estradiol (E2) (como se hace evidente en la columna de la derecha para cada compuesto de ensayo).

Figura 5 - muestra los datos de inhibición del crecimiento de  $Cl_{50}$  (en  $\mu M$ ) para NDC-1022 (columnas de la izquierda), NDC-1033 (columnas del medio) y NDC-1044 (columnas de la derecha) determinados en cada una de las estirpes celulares HT-29, SK-OV-3, NCI-H23, MCF-7, MDA-MB-231, OVCAR-3, CAPAN-1, CAPAN-2, SH-SY5Y, A-549 y PC-3.

Figura 6 - muestra los datos de inhibición del crecimiento de  $Cl_{50}$  numéricos (en  $\mu M$ ) para NDC-1022, NDC-1033 y NDC-1044 determinados en cada una de las estirpes celulares HT-29, SK-OV-3, NCI-H23, MCF-7, MDA-MB-231, OVCAR-3, CAPAN-1, CAPAN-2, SH-SY5Y, A-549 y PC-3. Figura 7 - muestra los datos de inhibición del crecimiento de  $Cl_{50}$  numéricos (en  $\mu M$ ) para el Compuesto 1 (NDC-1022), el Compuesto 2 (NDC-1165) y el Compuesto 3 (NDC-1187) determinados en cada una de las estirpes celulares HT-29, SK-OV-3, NCI-H23, MCF-7, MDA-MB-231, OVCAR-3, CAPAN-1, CAPAN-2, SH-SY5Y, A-549, PC-3, U-87-MG y U-118-MG.

Figura 8 - muestra los datos de inhibición del crecimiento de  $Cl_{50}$  (en  $\mu M$ ) para NDC-1022 (terceras columnas por la izquierda), NDC-1187 (cuartas columnas por la izquierda), NDC-1165 (quintas columnas por la izquierda) y controles de tamoxifeno (tres columnas por la derecha) determinados en cada una de las estirpes celulares HT-29, SK-OV-3, NCI-H23, MCF-7, MDA-MB-231, OVCAR-3, CAPAN-1, CAPAN-2, SH-SY5Y, A-549, PC-3, T98G, U-87-MG y U-118-MG.

### 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 comúnmente 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 en particular incluye la totalidad de dichas 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 en particular también incluye compuestos iónicos, sal, solvato (por ejemplo, hidrato), formas protegidas y otros estereoisómeros de los mismos, por ejemplo, como se describen en el presente documento.

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

Los compuestos antiproliferativos de la presente invención tienen aplicación en el tratamiento del cáncer, y así la presente invención proporciona además agentes antineoplásicos. La expresión "agente antineoplásico", como se usa en el presente documento, se refiere a un compuesto que trata, retarda la progresión, prolonga el período 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 antineoplásico puede surgir mediante uno o más mecanismos, que incluyen, pero sin limitación, la regulación de la proliferación celular, la inhibición de la angiogénesis (formación de nuevos vasos sanguíneos), la inhibición de la metástasis (la diseminación de un tumor desde su origen), la inhibición de la invasión (la diseminación de células tumorales en estructuras normales vecinas) o el fomento de la apoptosis (muerte celular programada), o la necrosis tumoral o la autofagia tumoral o cualquier combinaciones de los mismos.

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

El término "estrógeno", como se usa en el presente documento, engloba hormonas similares a los esteroides que se produce de manera natural y pueden atravesar la membrana celular para ejercer su actividad dentro de la célula uniéndose a los receptores de estrógeno. El ejemplo de dichos compuestos incluye, pero sin limitación, estradiol, estroles y esterenos.

El término "tratamiento" o "terapia", como se usa en el presente documento en el contexto del tratamiento de una afección, se refiere, en general, al tratamiento y a la terapia de un sujeto mamífero, bien de un ser humano o 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 velocidad de progreso, una detención en la velocidad de progreso, una mejora de la afección y/o una cura de la afección. También se incluye el 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, secuencial o simultáneamente. Los ejemplos de tratamientos y terapias incluyen, pero sin limitación, quimioterapia (la administración de agentes activos, incluyendo, por ejemplo, fármacos, anticuerpos (por ejemplo, como en inmunoterapia), profármacos (por ejemplo, empleando grupos protectores incluyendo derivados de ácido fosfórico y fosfinatos en posiciones adecuadas tales como la posición 3 o 17, otros compuestos usados para la terapia fotodinámica, GDEPT, ADEPT, etc.); cirugía; radioterapia; y terapia génica.

La expresión "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 importantes 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 dichos compuestos que se aislaron, resolvieron y están "sustancialmente exentos de otros isómeros".

La expresión "cantidad terapéuticamente eficaz", como se usa en el presente documento, se refiere a esa cantidad de un compuesto activo, o un material, una composición o una 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, incluyendo mamíferos, preferentemente seres humanos.

La expresión "región de un paciente" se refiere a una zona o parte en particular del paciente que padece un trastorno proliferativo, cáncer o tumor, y en algunos casos, a regiones de todo el paciente entero. Son ejemplos de dichas regiones la región pulmonar, la región gastrointestinal, la región mamaria, la región renal, además de otras regiones corporales, tejidos, linfocitos, receptores, órganos y similares, incluyendo la vasculatura y el aparato circulatorio, y el tejido canceroso. La "región de un paciente" incluye, por ejemplo, regiones que van a tratarse con los compuestos y las composiciones desvelados. La "región de un paciente" es preferentemente interna, aunque puede ser externa.

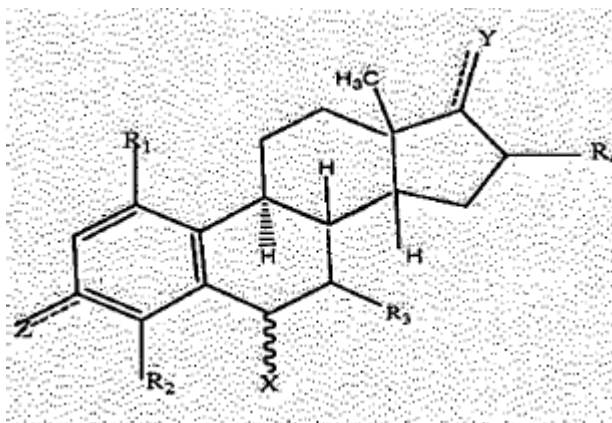
El término "tejido" se refiere, en general, a células especializadas que pueden realizar una determinada función. El término "tejido" puede referirse a una célula individual, o una pluralidad o un agregado de células, por ejemplo, membranas, sangre u órganos. El término "tejido" también incluye la referencia a una célula anómala o una pluralidad de células anómalas. Los tejidos ilustrativos incluyen tejido de mama, que incluye células mamarias, tejidos membranosos, que incluyen endotelio y epitelio, láminas, tejido conjuntivo, que incluye tejido intersticial, y tumores.

El término "aminoalquilo", como se usa en la presente memoria, se refiere a un grupo alquilo con un grupo amino en el mismo, por ejemplo,  $H_2NCH_2-$ ,  $H_2N-CH_2CH_2-$ ,  $Me_2NCH_2-$ , etc., en el que el punto de unión es un átomo de carbono del cadena alquilo; y el término "alquilamino", como se usa en la presente memoria, se refiere a un grupo amino con un grupo alquilo unido al átomo de nitrógeno, por ejemplo,  $CH_3NH-$ ,  $EtNH-$ ,  $iPr-NH-$ , etc., en el que el punto de unión es a través del átomo de nitrógeno del grupo amino.

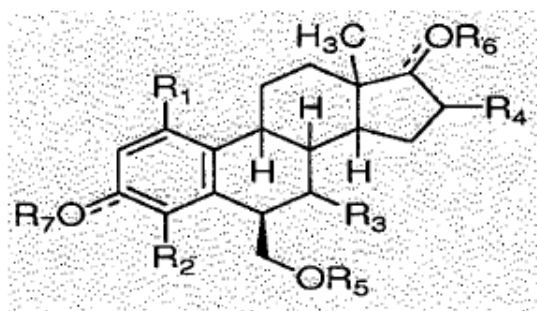
La expresión "trastornos de células proliferativas", como se usa en la presente memoria, se refiere a trastornos tales como tumores, tumores malignos primarios y otras afecciones hiperproliferativas. Las expresiones "tumor/es maligno/s primario/s" y "cáncer/es" se usan indistintamente.

#### Compuestos

Entre otras cosas, la presente invención se refiere a derivados de estradiol con modificaciones específicas en la posición 6 del anillo B del estradiol. Al menos un aspecto de la presente invención se dirige a dichos compuestos que tienen la estructura general expuesta en la reivindicación 1.



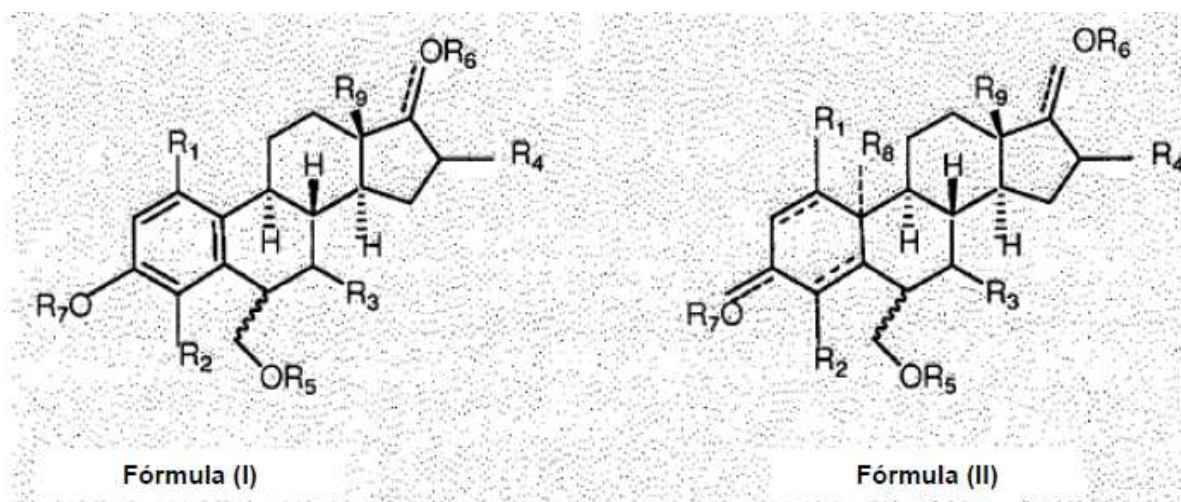
Se describen compuestos comparativos adicionales que tienen la estructura general mostrada en la siguiente Fórmula (XIX):



en la que:

- 5       $R_1$ ,  $R_2$ ,  $R_3$  y  $R_4$  se seleccionan independientemente del grupo que consiste en H, alquilo  $C_1$ - $C_6$ , alquilo sustituido y halógeno;
- 10       $R_5$  se selecciona del grupo que consiste en H, alquilo  $C_1$ - $C_6$ , un alquilo sustituido, un sulfato, un glucurónido,  $-CH_2OH$ ,  $-CH_2OCH_3$ ,  $-NH(CH_2)_nOH$ ,  $-NH(CH_2)_n$ -sal de  $COO$ ,  $-N(CH_3)_n$ ,  $-CH_2ONH_2$ ,  $-(NH)CH_2OHCH_3$ ,  $(CH_2)_nNHCOOH$ ,  $-(CH_2)_nNH$ -sal de  $COO$ ,  $-NHCH_2OH$ ,  $-NHCOOH$  y  $-NH_2$ ;
- 15       $R_6$  se selecciona de un grupo que consiste en H, un alquilo  $C_1$ - $C_6$ , un alquilo sustituido, un sulfato, un glucurónido, un grupo voluminoso, un fenilo o un grupo fenilo sustituido, un grupo ciclo o heterociclo; y
- 20       $R_7$  se selecciona del grupo que consiste en H, un alquilo  $C_1$ - $C_6$ , un alquilo sustituido, un halógeno, un alquilo halogenado, un sulfato, un glucurónido,  $-SO_2NH_2$ ,  $-COOH$ ,  $-CN$ ,  $-CH_2CN$ ,  $-NHCN$ ,  $-CHO$ , sal  $-COO$  y  $-NH_2$ . En otra opción, la estereoquímica en el carbono C6 comprende un enantiómero S o R, o diastereómeros.
- en la que el símbolo  $\text{---}$  representa bien un enlace simple o un doble enlace, con la condición de que cuando el símbolo  $\text{---}$  es un doble enlace y forma un grupo ceto en la posición 3 o 17, entonces no están presentes  $R_7$  o  $R_6$  respectivamente.

Aspectos comparativos se dirigen a un compuesto quimioterapéutico de Fórmulas (I)-(II):

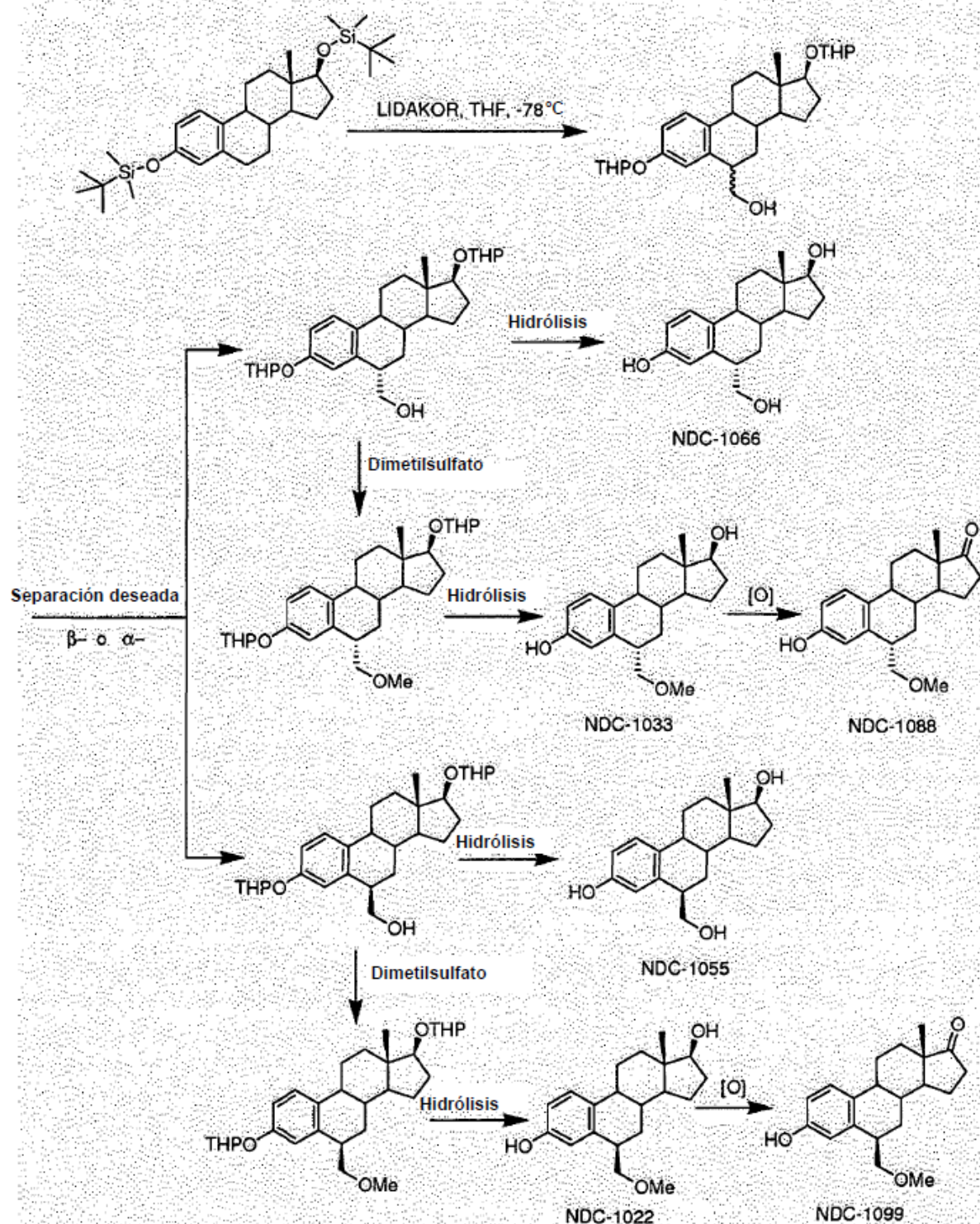


- 25      en las que  $R_1$ ,  $R_2$ ,  $R_3$ ,  $R_4$ ,  $R_5$ ,  $R_6$ ,  $R_7$ ,  $R_8$  y  $R_9$  son independientemente hidrógeno, alquilo  $C_1$  a  $C_6$  o alquilo sustituido, halógeno, sulfato o fracciones de glucurónido; y el símbolo  $\text{---}$  representa bien un enlace simple o un doble enlace, y cuando el símbolo  $\text{---}$  es un doble enlace y forma un grupo ceto en la posición 3 o 17, entonces  $R_7$  o  $R_6$  no está presente, respectivamente; el símbolo  $\text{---}$  representa la presencia o ausencia de un enlace en la posición 10; y el símbolo  $\text{~~~~~}$  representa cualquier tipo de enlace independientemente de la estereoquímica. Los compuestos también engloban los enantiómeros, otros isómeros estereoquímicos, hidratos, solvatos, tautómeros y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.
- 30      En una opción de la Fórmula I,  $R_5$ ,  $R_6$ ,  $R_7$ ,  $R_9$  son átomos de hidrógeno, metilo o Cl;  $R_1$ ,  $R_2$  es hidrógeno o metilo;  $R_3$ ,  $R_4$  es alquilo  $C_1$  a aproximadamente  $C_6$  o alquilo sustituido, halógeno y  $\text{---}$  es un enlace sencillo correspondiente al grupo alcohol. En otra opción, la estereoquímica en el carbono C6 comprende un enantiómero S o R, o diastereómeros.

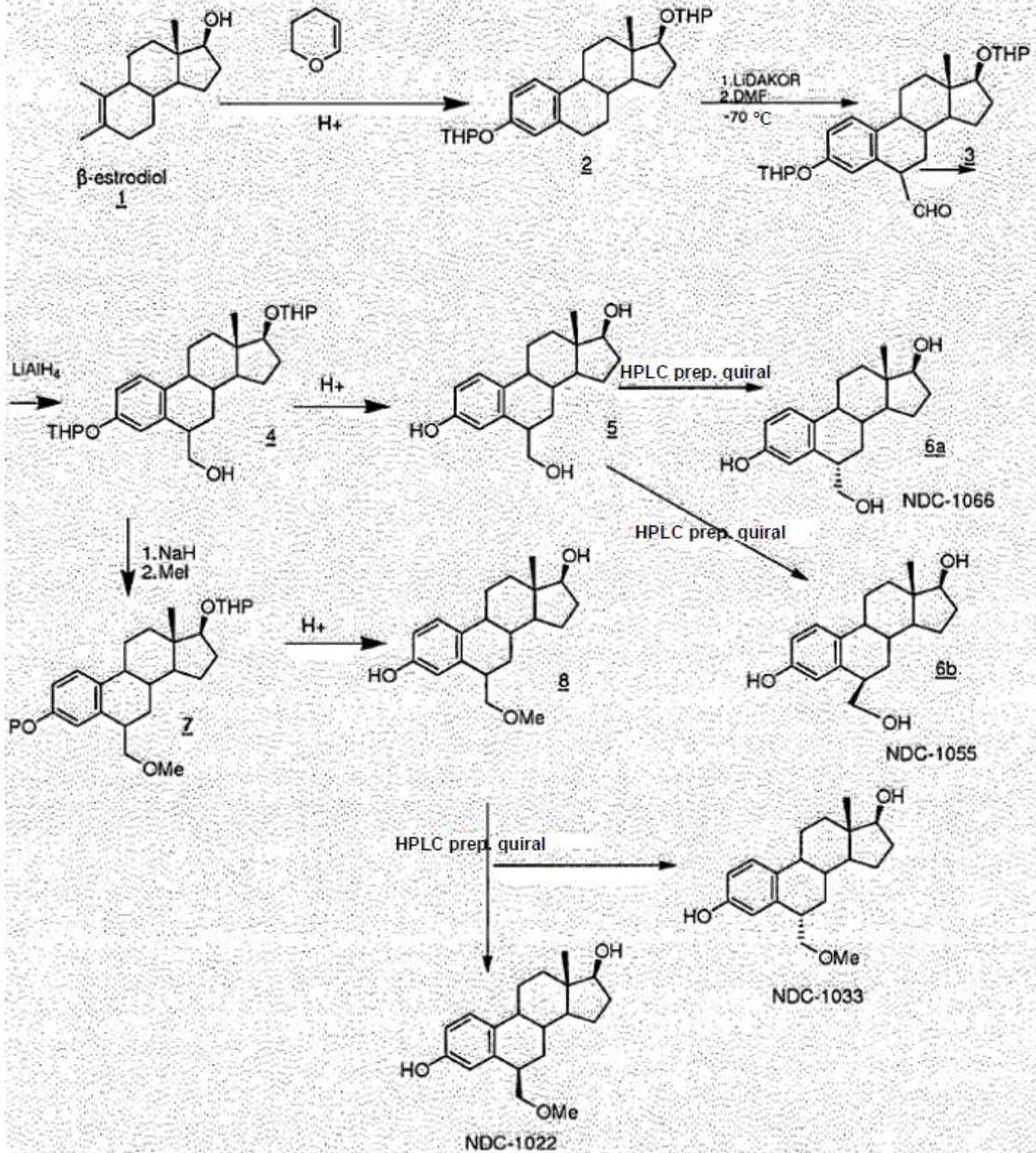
Los compuestos de las realizaciones de la presente invención se pueden usar en una composición farmacéutica. Dicha composición puede comprender uno o más compuestos seleccionados entre los descritos anteriormente, ilustrados a continuación o inferidos de otro modo en el presente documento, y combinaciones de los mismos. En ciertas realizaciones, dicha composición puede comprender un componente vehículo farmacéuticamente aceptable.

- 5 Sin limitación, dicha composición puede comprender una mezcla racémica de compuestos. En ciertas realizaciones, dicho compuesto puede estar presente como el enantiómero *S* y *R*, preferentemente su forma aislada y purificada que está esencialmente exenta de otros isómeros, y  $R_5$  o  $R_7$  se pueden seleccionar entre H, alquilo  $C_1$  a  $C_6$  o alquilo sustituido, y un halógeno.
- 10 Los compuestos de la presente invención pueden tener centros asimétricos y pueden presentarse en forma de racemato, mezcla racémica o como diastereoisómeros y enantiómeros individuales y purificados tales como (6*R*, 8*R*, 9*S*, 13*S*, 14*S*)-6-(aminooximetil)-13-metil-7,8,9,11,12,13,14,15,16,17-decahidro-6*H*-ciclopenta[*a*]fenantreno-3,17-diol (NDC-1187).
- 15 Una realización de la presente divulgación se refiere a la preparación de los enantiómeros *R* o *S*, diastereómeros *R* o *S* de 6 estradiolos sustituidos. Los métodos de preparación (por ejemplo, síntesis asimétrica) y separación (por ejemplo, cristalización fraccionada y medios cromatográficos) de dichas formas isoméricas bien, se conocen, en general, en la técnica o se obtienen fácilmente adaptando los métodos enseñados en el presente documento. Una de dichas metodologías se describe en la solicitud de patente de EE.UU. en trámite SN 11/541.987.
- 20 También se describen métodos de preparación de derivados de estradiol de 6-hidroximetilo, 6-metiloximetilo, 6-aminometoxi, 6-metilaminometoxi o 6-metoxiamina. A continuación, se da un esquema de reacción para la preparación de derivados de estradiol, Esquemas 1-3. Dichos métodos pueden comprender la reacción de derivado de *t*-butildimetilsililo de estradiol con LIDA-KOR/THE/formaldehído, obteniéndose un compuesto 6-hidroxilado
- 25 seguido de etapas tales como: (i) hidrólisis para obtener derivado de estradiol de 6-hidroximetilo, NDC-1066; y/o (ii) tratamiento con dimetilsulfato seguido de la hidrólisis, obteniéndose derivado de estradiol de 6-metiloximetilo, NDC-1033. El NDC-1088 se puede obtener mediante la oxidación adicional de NDC-1033 en la posición hidroxilo del C17.
- 30 En una metodología alternativa, los compuestos también se pueden preparar mediante un método que comprende etapas tales como: (i) proteger un compuesto de estradiol; (ii) acilar el compuesto de estradiol protegido en la posición bencílica 6 con LIDAKOR/butil-litio/Diisopropilamina/*terc*-amilato de potasio; (iii) reducir el aldehído de la posición 6 con hidruro de litio y aluminio; (iv) desproteger las regiones protegidas del compuesto de estradiol. En el Esquema 2 que figura a continuación, se da un esquema de reacción para la preparación de derivados de estradiol. Los compuestos de la presente invención y los compuestos comparativos se pueden sintetizar mediante los
- 35 siguientes métodos representados en los siguientes esquemas:

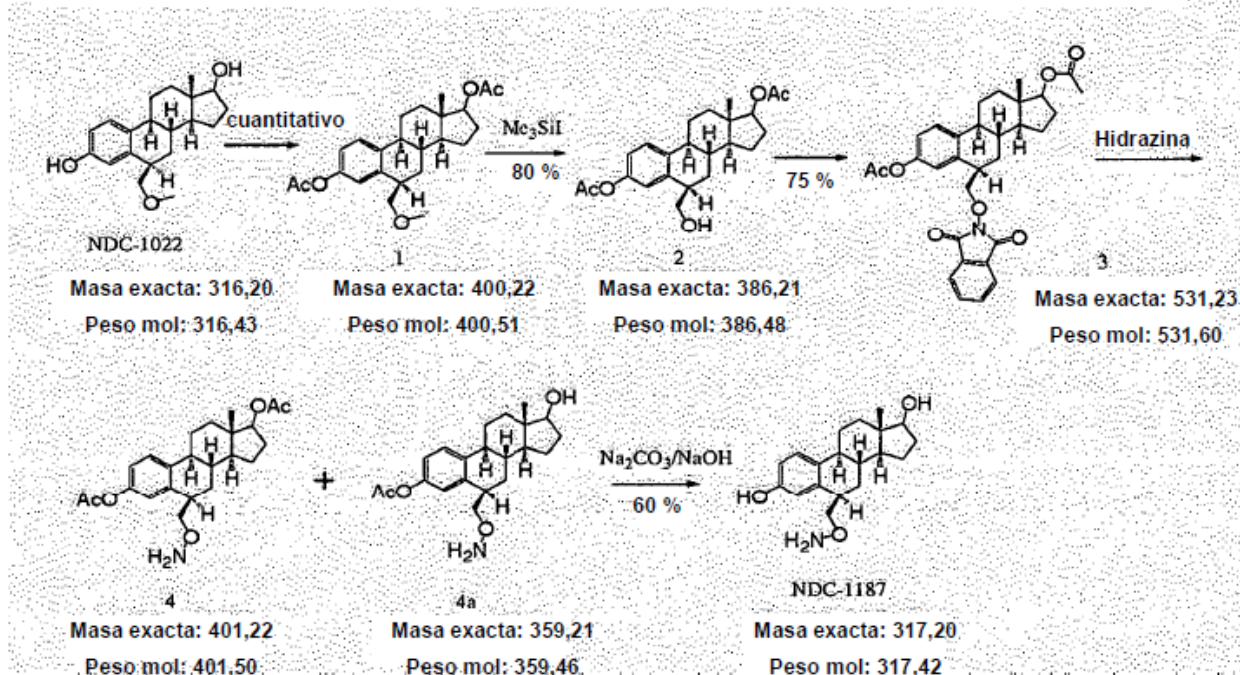
Esquema 1 – Preparación de compuestos comparativos



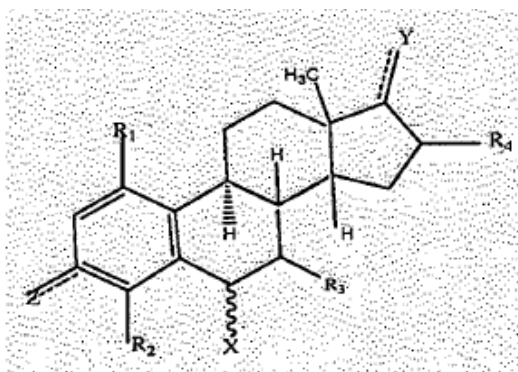
Esquema 2 – Métodos alternativos de preparación de los compuestos comparativos



Diversos derivados de metiloxialquilo, de acuerdo con la presente invención, implican la selección de agente alquilantes. Dichos derivados serían conocidos por los expertos en la materia de la presente invención, y se encuentran disponibles a través de procedimientos sintéticos de la clase descrita en el presente documento. Por consiguiente, sin limitación, se pueden usar diversos reactivos de alquilo  $C_1$  a  $C_6$  y de alquilo sustituido (por ejemplo, alquilo  $C_1$  a  $C_6$  lineal, lineal sustituido, ramificado y ramificado sustituido, sustituyentes tales como los conocidos en la técnica) según lo descrito en el presente documento para preparar los correspondientes derivados de metiloxialquilo. En los siguientes esquemas de reacción, se desvelan métodos de fabricación de derivados de estradiol de 6-amino. Por consiguiente, los estradiol 6-metoxilados descritos en los Esquemas 1-2 se emplean y se convierten en sus respectivos derivados de amino.

**Esquema 3 – Métodos de fabricación de derivados 6-amino de estradiol:****Métodos de uso**

- 5 La presente invención incluye compuestos de uso en el tratamiento del cáncer en un sujeto mamífero (por ejemplo, un paciente humano). En este aspecto de la invención, los compuestos se proporcionan para la inhibición del crecimiento de células tumorales o cancerosas. En dicho uso, las células se exponen o se ponen en contacto con un compuesto de la invención, o sales o hidratos farmacéuticamente aceptables del mismo, que son un subconjunto de la siguiente Fórmula (IX):



en la que  $\text{R}_1$ ,  $\text{R}_2$ ,  $\text{R}_3$ ,  $\text{R}_4$ ,  $\text{Y}$ ,  $\text{X}$  y  $\text{Z}$  son como se han descrito anteriormente, y en la que además  $n$  y  $m$  son números enteros independientes, y pueden ser cualquier número entre 0-7; el símbolo  $\text{---}$  representa bien un enlace simple o un doble enlace capaz de formar un grupo ceto en la posición 3 o 17; y el símbolo  $\text{~~~~~}$  representa cualquier tipo de enlace independientemente de la estereoquímica; y los respectivos enantiómeros, otros isómeros estereoquímicos, hidratos, solvatos, tautómeros y sales farmacéuticamente aceptables de dichos compuestos.

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

anemia resistente al tratamiento.

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

Se cree que los compuestos desvelados en la presente invención son capaces de unirse a una serie de receptores que incluyen los receptores de estrógeno, testosterona y andrógeno. El inventor ha observado inesperadamente que, tras su unión, los compuestos de la presente invención son capaces de modular las vías de señalización del primer o segundo mensajero celular y, además, 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 que participan en la inactivación de un gen dependiente de estrógenos.

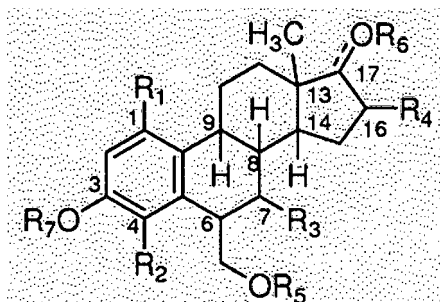
Sin embargo, en la presente invención, el inventor ha encontrado que, inesperadamente, los compuestos de la invención reivindicada son capaces de modular la actividad celular a un nivel independiente de los mecanismos regulados por genes tradicionales. En este aspecto de la invención, los compuestos de la presente invención son capaces de unirse directamente a múltiples receptores de esteroides en la membrana plasmática y generar mecanismos de estrés mediados por células internos que implican la respuesta a proteínas desplegadas ("UPR") en el retículo endoplasmático. La respuesta al estrés UPR posteriormente conduce a la inhibición del crecimiento y a la 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 de la presente invención para el tratamiento de diversos estados de cáncer puede comprender la administración de un compuesto de la invención en combinación con otras terapias del cáncer adyuvantes, tales como quimioterapia, radioterapia, terapia génica, terapia hormonal y otras terapias para el cáncer conocidas en la técnica. Las combinaciones de los compuestos desvelados en la presente invención con otros agentes anticancerígenos o quimioterapéuticos están dentro del alcance de la invención. En "Cancer Principles and Practice of Oncology" de V. T. Devita y S. Hellman (editores), 6ª edición (15 de Febrero de 2001), Lippincott. Williams & Wilkins Publishers, se pueden encontrar ejemplos de dichos agentes. Un médico, veterinario o profesional clínico experto 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. Dichos 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 ilustrados

En la siguiente Tabla I, se proporcionan compuestos comparativos:

Tabla I



R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub>, R<sub>4</sub>: independientemente H, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, alquilo sustituido o halógeno; R<sub>5</sub>, R<sub>7</sub>: H, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, alquilo sustituido, sulfato o glucurónido;

R<sub>6</sub>: H, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> o alquilo sustituido, sulfato o glucurónido, cuando ---- es un enlace simple; no presente, cuando == es un doble enlace.

| Entrada | Sustituyentes  |                |                | Configuración espacial |     |     |      |      |      |
|---------|----------------|----------------|----------------|------------------------|-----|-----|------|------|------|
|         | R <sub>5</sub> | R <sub>6</sub> | R <sub>7</sub> | 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 <sub>3</sub> H | S | S | S | S | S | S   |
| 26   | H  | H | SO <sub>3</sub> H | S | R | R | R | R | R   |
| 27   | H  | H | SO <sub>3</sub> H | S | S | S | S | S | R   |
| 28   | H  | H | SO <sub>3</sub> H | S | R | R | R | R | S   |
| 29   | H  | - | SO <sub>3</sub> H | S | S | S | S | S | C=O |
| 30   | H  | - | SO <sub>3</sub> H | S | R | R | R | R | C=O |
| 31   | H  | H | SO <sub>3</sub> H | R | R | R | R | R | R   |
| 32   | H  | H | SO <sub>3</sub> H | R | S | S | S | S | S   |
| 33   | H  | H | SO <sub>3</sub> H | R | S | S | S | S | R   |
| 34   | H  | H | SO <sub>3</sub> H | R | R | R | R | R | S   |
| 35   | H  | - | SO <sub>3</sub> H | R | S | S | S | S | C=O |
| 36   | H  | - | SO <sub>3</sub> H | R | R | R | R | R | C=O |
| 37   | Me | H | SO <sub>3</sub> H | S | S | S | S | S | S   |
| 38   | Me | H | SO <sub>3</sub> H | S | R | R | R | R | R   |
| 39   | Me | H | SO <sub>3</sub> H | S | S | S | S | S | R   |
| 40   | Me | H | SO <sub>3</sub> H | S | R | R | R | R | S   |

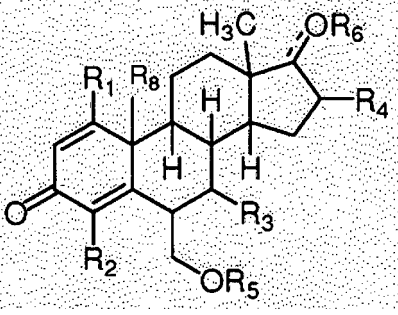
|    |    |   |                   |   |   |   |   |   |     |
|----|----|---|-------------------|---|---|---|---|---|-----|
| 41 | Me | - | SO <sub>3</sub> H | S | S | S | S | S | C=O |
| 42 | Me | - | SO <sub>3</sub> H | S | R | R | R | R | C=O |
| 43 | Me | H | SO <sub>3</sub> H | R | R | R | R | R | R   |
| 44 | Me | H | SO <sub>3</sub> H | R | S | S | S | S | S   |
| 45 | Me | H | SO <sub>3</sub> H | R | S | S | S | S | R   |
| 46 | Me | H | SO <sub>3</sub> H | R | R | R | R | R | S   |
| 47 | Me | - | SO <sub>3</sub> H | R | S | S | S | S | C=O |
| 48 | Me | - | SO <sub>3</sub> H | R | R | R | R | R | C=O |
| 49 | H  | H | glucurónico       | S | S | S | S | S | S   |
| 50 | H  | H | glucurónico       | S | R | R | R | R | R   |
| 51 | H  | H | glucurónico       | S | S | S | S | S | R   |
| 52 | H  | H | glucurónico       | S | R | R | R | R | S   |
| 53 | H  | - | glucurónico       | S | S | S | S | S | C=O |
| 54 | H  | - | glucurónico       | S | R | R | R | R | C=O |
| 55 | H  | H | glucurónico       | R | R | R | R | R | R   |
| 56 | H  | H | glucurónico       | R | S | S | S | S | S   |
| 57 | H  | H | glucurónico       | R | S | S | S | S | R   |
| 58 | H  | H | glucurónico       | R | R | R | R | R | S   |
| 59 | H  | - | glucurónico       | R | S | S | S | S | C=O |
| 60 | H  | - | glucurónico       | R | R | R | R | R | C=O |
| 61 | Me | H | glucurónico       | S | S | S | S | S | S   |
| 62 | Me | H | glucurónico       | S | R | R | R | R | R   |
| 63 | Me | H | glucurónico       | S | S | S | S | S | S R |
| 64 | Me | H | glucurónico       | S | R | R | R | R | S   |
| 65 | Me | - | glucurónico       | S | S | S | S | S | C=O |
| 66 | Me | - | glucurónico       | S | R | R | R | R | C=O |
| 67 | Me | H | glucurónico       | R | R | R | R | R | R   |
| 68 | Me | H | glucurónico       | R | S | S | S | S | S   |
| 69 | Me | H | glucurónico       | R | S | S | S | S | R   |
| 70 | Me | H | glucurónico       | R | R | R | R | R | S   |
| 71 | Me | - | glucu-            | R | S | S | S | S | C=O |

|                         |    |   |                  |   |   |   |   |   |     |
|-------------------------|----|---|------------------|---|---|---|---|---|-----|
|                         |    |   | rónido           |   |   |   |   |   |     |
| 72                      | Me | - | glucu-<br>rónido | R | R | R | R | R | C=O |
| * NDC-1033; ** NDC-1022 |    |   |                  |   |   |   |   |   |     |

Los compuestos preferidos de la Tabla I incluyen los compuestos 15 y 20.

En al menos otro aspecto de la invención, los inventores proporcionan compuestos comparativos adicionales en la siguiente Tabla II:

Tabla II:

|  <p>R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub>, R<sub>4</sub>: independientemente H, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, alquilo sustituido o halógeno; R<sub>5</sub>: H, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, alquilo sustituido, sulfato o glucurónido; R<sub>6</sub>: H, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> o alquilo sustituido, sulfato o glucurónido; R<sub>8</sub>: H, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, alquilo sustituido, cuando ---- es un enlace simple; no presente, cuando ---- es un doble enlace.</p> |                |                |                        |     |     |      |      |      |      |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------|----------------|------------------------|-----|-----|------|------|------|------|
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | Sustituyente   |                | Configuración espacial |     |     |      |      |      |      |
| Entrada                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       | R <sub>5</sub> | R <sub>6</sub> | 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  |

ES 2 641 779 T3

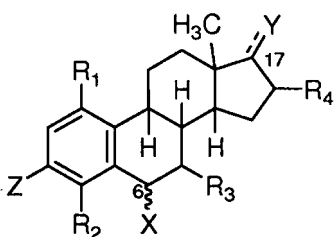
|       |     |   |   |   |   |   |   |   |     |
|-------|-----|---|---|---|---|---|---|---|-----|
| 90**  | Me  | - | R | R | S | R | R | S | C=O |
| 91    | Me  | H | R | R | R | R | R | R | R   |
| 92    | Me  | H | S | S | S | R | S | S | S   |
| 93    | Me  | H | S | R | R | R | R | R | R   |
| 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 | R | 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 | <i>R</i> | <i>R</i> | <i>R</i> | <i>S</i> | <i>R</i> | <i>R</i> | <i>S</i> |
| 126                                                                                                                                                                                                   | Me | - | <i>R</i> | <i>S</i> | <i>S</i> | <i>R</i> | <i>S</i> | <i>S</i> | C=O      |
| 127                                                                                                                                                                                                   | Me | - | <i>R</i> | <i>R</i> | <i>R</i> | <i>R</i> | <i>R</i> | <i>R</i> | C=O      |
| 128****                                                                                                                                                                                               | Me | H | <i>R</i> | <i>R</i> | <i>S</i> | <i>R</i> | <i>R</i> | <i>S</i> | <i>R</i> |
| * NDC-1077, cuando R <sub>8</sub> es un metilo; ** NDC-1011, cuando R <sub>8</sub> es un metilo; *** NDC-1110, cuando R <sub>8</sub> es un metilo; **** NDC-1044, cuando R <sub>8</sub> es un metilo. |    |   |          |          |          |          |          |          |          |

Los compuestos preferidos de la Tabla II incluyen los compuestos 89, 90, 98 y 128.

En un aspecto de la invención, los inventores ilustran los compuestos de la presente invención en la siguiente Tabla III:

Tabla III

|  <p>R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub>, R<sub>4</sub>: independientemente H, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, alquilo sustituido o halógeno, y es un enlace sencillo o un doble enlace; no presente.</p> |                                   |    |    |          |          |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------|----|----|----------|----------|
| Entrada                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | X                                 | Z  | Y  | C-6      | C-17     |
| 129                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | CH <sub>2</sub> OH                | OH | OH | <i>S</i> | <i>S</i> |
| 130                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | CH <sub>2</sub> OH                | OH | OH | <i>S</i> | <i>R</i> |
| 131                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | CH <sub>2</sub> OH                | OH | OH | <i>R</i> | <i>R</i> |
| 132                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | CH <sub>2</sub> OH                | OH | OH | <i>R</i> | <i>S</i> |
| 133                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | CH <sub>2</sub> ONH <sub>2</sub>  | OH | OH | <i>S</i> | <i>S</i> |
| 134                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | CH <sub>2</sub> ONH <sub>2</sub>  | OH | OH | <i>S</i> | <i>R</i> |
| 135                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | CH <sub>2</sub> ONH <sub>2</sub>  | OH | OH | <i>R</i> | <i>R</i> |
| 136                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | CH <sub>2</sub> ONH <sub>2</sub>  | OH | OH | <i>R</i> | <i>S</i> |
| 137                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | CH <sub>2</sub> ONHMe             | OH | OH | <i>S</i> | <i>S</i> |
| 138                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | CH <sub>2</sub> ONHMe             | OH | OH | <i>S</i> | <i>R</i> |
| 139                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | CH <sub>2</sub> ONHMe             | OH | OH | <i>R</i> | <i>R</i> |
| 140                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | CH <sub>2</sub> ONHMe             | OH | OH | <i>R</i> | <i>S</i> |
| 141                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | CH <sub>2</sub> ONMe <sub>2</sub> | OH | OH | <i>S</i> | <i>S</i> |
| 142                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | CH <sub>2</sub> ONMe <sub>2</sub> | OH | OH | <i>S</i> | <i>R</i> |
| 143                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | CH <sub>2</sub> ONMe <sub>2</sub> | OH | OH | <i>R</i> | <i>R</i> |
| 144                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | CH <sub>2</sub> ONMe <sub>2</sub> | OH | OH | <i>R</i> | <i>S</i> |
| 145                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | CH <sub>2</sub> ONHAc             | OH | OH | <i>S</i> | <i>S</i> |
| 146                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | CH <sub>2</sub> ONHAc             | OH | OH | <i>S</i> | <i>R</i> |
| 147                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | CH <sub>2</sub> ONHAc             | OH | OH | <i>R</i> | <i>R</i> |
| 148                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | CH <sub>2</sub> ONHAc             | OH | OH | <i>R</i> | <i>S</i> |
| 149                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | CH <sub>2</sub> NH <sub>2</sub>   | OH | OH | <i>S</i> | <i>S</i> |

|     |                                      |    |    |   |   |
|-----|--------------------------------------|----|----|---|---|
| 150 | CH <sub>2</sub> NH <sub>2</sub>      | OH | OH | S | R |
| 151 | CH <sub>2</sub> NH <sub>2</sub>      | OH | OH | R | R |
| 152 | CH <sub>2</sub> NH <sub>2</sub>      | OH | OH | R | S |
| 153 | CH <sub>2</sub> NHMe                 | OH | OH | S | S |
| 154 | CH <sub>2</sub> NHMe                 | OH | OH | S | R |
| 155 | CH <sub>2</sub> NHMe                 | OH | OH | R | R |
| 156 | CH <sub>2</sub> NHMe                 | OH | OH | R | S |
| 157 | CH <sub>2</sub> NMe <sub>2</sub>     | OH | OH | S | S |
| 158 | CH <sub>2</sub> NMe <sub>2</sub>     | OH | OH | S | R |
| 159 | CH <sub>2</sub> NMe <sub>2</sub>     | OH | OH | R | R |
| 160 | CH <sub>2</sub> NMe <sub>2</sub>     | OH | OH | R | S |
| 161 | CH <sub>2</sub> NHAc                 | OH | OH | S | S |
| 162 | CH <sub>2</sub> NHAc                 | OH | OH | S | R |
| 163 | CH <sub>2</sub> NHAc                 | OH | OH | R | R |
| 164 | CH <sub>2</sub> NHAc                 | OH | OH | R | S |
| 165 | CH <sub>2</sub> NHOH                 | OH | OH | S | S |
| 166 | CH <sub>2</sub> NHOH                 | OH | OH | S | R |
| 167 | CH <sub>2</sub> NHOH                 | OH | OH | R | R |
| 168 | CH <sub>2</sub> NHOH                 | OH | OH | R | S |
| 169 | CH <sub>2</sub> NHOMe                | OH | OH | S | S |
| 170 | CH <sub>2</sub> NHOMe                | OH | OH | S | R |
| 171 | CH <sub>2</sub> NHOMe                | OH | OH | R | R |
| 172 | CH <sub>2</sub> NHOMe                | OH | OH | R | S |
| 173 | CH <sub>2</sub> NHNNH <sub>2</sub>   | OH | OH | S | S |
| 174 | CH <sub>2</sub> NHNNH <sub>2</sub>   | OH | OH | S | R |
| 175 | CH <sub>2</sub> NHNNH <sub>2</sub>   | OH | OH | R | R |
| 176 | CH <sub>2</sub> NHNNH <sub>2</sub>   | OH | OH | R | S |
| 177 | CH <sub>2</sub> NHNNHMe              | OH | OH | S | S |
| 178 | CH <sub>2</sub> NHNNHMe              | OH | OH | S | R |
| 179 | CH <sub>2</sub> NHNNHMe              | OH | OH | R | R |
| 180 | CH <sub>2</sub> NHNNHMe              | OH | OH | R | S |
| 181 | CH <sub>2</sub> NHNNMe <sub>2</sub>  | OH | OH | S | S |
| 182 | CH <sub>2</sub> NHNNMe <sub>2</sub>  | OH | OH | S | R |
| 183 | CH <sub>2</sub> NHNNMe <sub>2</sub>  | OH | OH | R | R |
| 184 | CH <sub>2</sub> NHNNMe <sub>2</sub>  | OH | OH | R | S |
| 185 | CH <sub>2</sub> NHNNHAc              | OH | OH | S | S |
| 186 | CH <sub>2</sub> NHNNHAc              | OH | OH | S | R |
| 187 | CH <sub>2</sub> NHNNHAc              | OH | OH | R | R |
| 188 | CH <sub>2</sub> NHNNHAc              | OH | OH | R | S |
| 189 | CH <sub>2</sub> N(Me)NH <sub>2</sub> | OH | OH | S | S |

|     |                                      |    |    |   |   |
|-----|--------------------------------------|----|----|---|---|
| 190 | CH <sub>2</sub> N(Me)NH <sub>2</sub> | OH | OH | S | R |
| 191 | CH <sub>2</sub> N(Me)NH <sub>2</sub> | OH | OH | R | R |
| 192 | CH <sub>2</sub> N(Me)NH <sub>2</sub> | OH | OH | R | S |
| 193 | CH <sub>2</sub> N(Me)NHMe            | OH | OH | S | S |
| 194 | CH <sub>2</sub> N(Me)NHMe            | OH | OH | S | R |
| 195 | CH <sub>2</sub> N(Me)NHMe            | OH | OH | R | R |
| 196 | CH <sub>2</sub> N(Me)NHMe            | OH | OH | R | S |
| 197 | CH <sub>2</sub> N(Me)NHAc            | OH | OH | S | S |
| 198 | CH <sub>2</sub> N(Me)NHAc            | OH | OH | S | R |
| 199 | CH <sub>2</sub> N(Me)NHAc            | OH | OH | R | R |
| 200 | CH <sub>2</sub> N(Me)NHAc            | OH | OH | R | S |
| 201 | OCH <sub>2</sub> NH <sub>2</sub>     | OH | OH | S | S |
| 202 | OCH <sub>2</sub> NH <sub>2</sub>     | OH | OH | S | R |
| 203 | OCH <sub>2</sub> NH <sub>2</sub>     | OH | OH | R | R |
| 204 | OCH <sub>2</sub> NH <sub>2</sub>     | OH | OH | R | S |
| 205 | OCH <sub>2</sub> NHMe                | OH | OH | S | S |
| 206 | OCH <sub>2</sub> NHMe                | OH | OH | S | R |
| 207 | OCH <sub>2</sub> NHMe                | OH | OH | R | R |
| 208 | OCH <sub>2</sub> NHMe                | OH | OH | R | S |
| 209 | OCH <sub>2</sub> NHAc                | OH | OH | S | S |
| 210 | OCH <sub>2</sub> NHAc                | OH | OH | S | R |
| 211 | OCH <sub>2</sub> NHAc                | OH | OH | R | R |
| 212 | OCH <sub>2</sub> NHAc                | OH | OH | R | S |
| 213 | NHCH <sub>2</sub> OH                 | OH | OH | S | S |
| 214 | NHCH <sub>2</sub> OH                 | OH | OH | S | R |
| 215 | NHCH <sub>2</sub> OH                 | OH | OH | R | R |
| 216 | NHCH <sub>2</sub> OH                 | OH | OH | R | S |
| 217 | NHCH <sub>2</sub> OMe                | OH | OH | S | S |
| 218 | NHCH <sub>2</sub> OMe                | OH | OH | S | R |
| 219 | NHCH <sub>2</sub> OMe                | OH | OH | R | R |
| 220 | NHCH <sub>2</sub> OMe                | OH | OH | R | S |
| 221 | NHCH <sub>2</sub> OAc                | OH | OH | S | S |
| 222 | NHCH <sub>2</sub> OAc                | OH | OH | S | R |
| 223 | NHCH <sub>2</sub> OAc                | OH | OH | R | R |
| 224 | NHCH <sub>2</sub> OAc                | OH | OH | R | S |
| 225 | NHCH <sub>2</sub> NH <sub>2</sub>    | OH | OH | S | S |
| 226 | NHCH <sub>2</sub> NH <sub>2</sub>    | OH | OH | S | R |
| 227 | NHCH <sub>2</sub> NH <sub>2</sub>    | OH | OH | R | R |
| 228 | NHCH <sub>2</sub> NH <sub>2</sub>    | OH | OH | R | S |
| 229 | NHCH <sub>2</sub> NHMe               | OH | OH | S | S |

|     |                                       |    |    |   |   |
|-----|---------------------------------------|----|----|---|---|
| 230 | NHCH <sub>2</sub> NHMe                | OH | OH | S | R |
| 231 | NHCH <sub>2</sub> NHMe                | OH | OH | R | R |
| 232 | NHCH <sub>2</sub> NHMe                | OH | OH | R | S |
| 233 | NHCH <sub>2</sub> NMe <sub>2</sub>    | OH | OH | S | S |
| 234 | NHCH <sub>2</sub> NMe <sub>2</sub>    | OH | OH | S | R |
| 235 | NHCH <sub>2</sub> NMe <sub>2</sub>    | OH | OH | R | R |
| 236 | NHCH <sub>2</sub> NMe <sub>2</sub>    | OH | OH | R | S |
| 237 | NHCH <sub>2</sub> NHAc                | OH | OH | S | S |
| 238 | NHCH <sub>2</sub> NHAc                | OH | OH | S | R |
| 239 | NHCH <sub>2</sub> NHAc                | OH | OH | R | R |
| 240 | NHCH <sub>2</sub> NHAc                | OH | OH | R | S |
| 241 | N(Me)CH <sub>2</sub> OH               | OH | OH | S | S |
| 242 | N(Me)CH <sub>2</sub> OH               | OH | OH | S | R |
| 243 | N(Me)CH <sub>2</sub> OH               | OH | OH | R | R |
| 244 | N(Me)CH <sub>2</sub> OH               | OH | OH | R | S |
| 245 | N(Me)CH <sub>2</sub> OMe              | OH | OH | S | S |
| 246 | N(Me)CH <sub>2</sub> OMe              | OH | OH | S | R |
| 247 | N(Me)CH <sub>2</sub> OMe              | OH | OH | R | R |
| 248 | N(Me)CH <sub>2</sub> OMe              | OH | OH | R | S |
| 249 | N(Me)CH <sub>2</sub> OAc              | OH | OH | S | S |
| 250 | N(Me)CH <sub>2</sub> OAc              | OH | OH | S | R |
| 251 | N(Me)CH <sub>2</sub> OAc              | OH | OH | R | R |
| 252 | N(Me)CH <sub>2</sub> OAc              | OH | OH | R | S |
| 253 | N(Me)CH <sub>2</sub> NH <sub>2</sub>  | OH | OH | S | S |
| 254 | N(Me)CH <sub>2</sub> NH <sub>2</sub>  | OH | OH | S | R |
| 255 | N(Me)CH <sub>2</sub> NH <sub>2</sub>  | OH | OH | R | R |
| 256 | N(Me)CH <sub>2</sub> NH <sub>2</sub>  | OH | OH | R | S |
| 257 | N(Me)CH <sub>2</sub> NHMe             | OH | OH | S | S |
| 258 | N(Me)CH <sub>2</sub> NHMe             | OH | OH | S | R |
| 259 | N(Me)CH <sub>2</sub> NHMe             | OH | OH | R | R |
| 260 | N(Me)CH <sub>2</sub> NHMe             | OH | OH | R | S |
| 261 | N(Me)CH <sub>2</sub> NMe <sub>2</sub> | OH | OH | S | S |
| 262 | N(Me)CH <sub>2</sub> NMe <sub>2</sub> | OH | OH | S | R |
| 263 | N(Me)CH <sub>2</sub> NMe <sub>2</sub> | OH | OH | R | R |
| 264 | N(Me)CH <sub>2</sub> NMe <sub>2</sub> | OH | OH | R | S |
| 265 | N(Me)CH <sub>2</sub> NHAc             | OH | OH | S | S |
| 266 | N(Me)CH <sub>2</sub> NHAc             | OH | OH | S | R |
| 267 | N(Me)CH <sub>2</sub> NHAc             | OH | OH | R | R |
| 268 | N(Me)CH <sub>2</sub> NHAc             | OH | OH | R | S |

Los compuestos activos anteriores también se pueden usar como parte de un ensayo *in vitro*, por ejemplo, con el fin

de determinar si es probable que un hospedador candidato se beneficie de tratamiento con el compuesto en cuestión. Cualquier compuesto activo de la presente invención también se puede usar como patrón, por ejemplo, en un ensayo, con el fin de identificar otros compuestos activos, otros agentes antiproliferativos, otros agentes antiinflamatorios, etc. Los compuestos candidatos se evaluaron para determinar su actividad antagonista de receptores de estrógeno. La evaluación sobre si un compuesto es un antagonista de receptores de estrógeno se puede llevar a cabo mediante diversas metodologías conocidas en la técnica. En la presente solicitud, dicha capacidad se determinó realizando el ensayo de unión a luciferasa de acuerdo con los métodos de rastreo descritos en el presente documento.

Como alternativa, la capacidad de unión del receptor de estrógeno se evaluó transfectando transitoriamente células CV-1 con construcciones de expresión para bien ER ( $\alpha$ ) o ER ( $\beta$ ) 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 solo con estradiol (1 nM) y los grupos de candidatos recibieron estradiol más un compuesto de Endece a concentraciones variables. Tras 16-24 horas, las células se recogieron y se ensayaron para determinar la actividad de luciferasa usando un kit de ensayo disponible en el mercado.

También se determinaron la  $CI_{50}$  o la concentración de inhibición máxima a la mitad de los compuestos candidatos para evaluar la potencia del fármaco y las posibles pautas posológicas para su uso *in vivo*. Un experto habitual en la materia es muy capaz de determinar dicha información usando metodologías comúnmente conocidas. Como se ha descrito bien en la técnica, la  $CI_{50}$  representa y mide cuánto se necesita de una determinada sustancia/molécula para inhibir algún proceso biológico en un 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 ha indicado 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 de acuerdo con la invención o de sus sales farmacéuticamente aceptables. Cuando los compuestos de la presente invención contienen un grupo básico, las sales englobadas dentro de la expresión "sales farmacéuticamente aceptables" se refiere a sales no tóxicas que, en general, se preparan haciendo reaccionar la base libre con un ácido orgánico o inorgánico adecuado. Las sales representativas incluyen cualquiera de dichas sales conocidas en la técnica. Si los compuestos de la presente invención portan una fracción ácida, 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, 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, se administra una cantidad eficaz de uno o más compuestos de la presente invención, o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, al sujeto mamífero para potenciar la exposición a o el contacto de las células cancerosas o el crecimiento tumoral diana. Se pueden determinar formas de dosificación eficaces, modos de administración y cantidades de dosificación empíricamente, y la realización de dichas determinaciones pertenece a la técnica. Se entiende por el médico, veterinario o profesional clínico experto habitual en la materia que la cantidad de la dosis variará con la actividad del compuesto empleado en particular, el transcurso y/o la progresión del estado patológico, la vía de administración, la tasa de eliminación del compuesto, la función renal y hepática del paciente, la duración del tratamiento, la identidad de cualquier otro fármaco que se administre al sujeto, la edad, el tamaño y factores similares muy conocidos en las ciencias médicas. Como se ha tratado en el presente documento, los compuestos de la presente invención se pueden administrar en formas de dosificación orales 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 se pueden administrar 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 los expertos en las ciencias farmacéuticas. De nuevo, el médico, veterinario o profesional clínico habitual en la materia puede determinar fácilmente y recetar la cantidad eficaz del fármaco necesaria para prevenir, contrarrestar o detener el progreso de la afección.

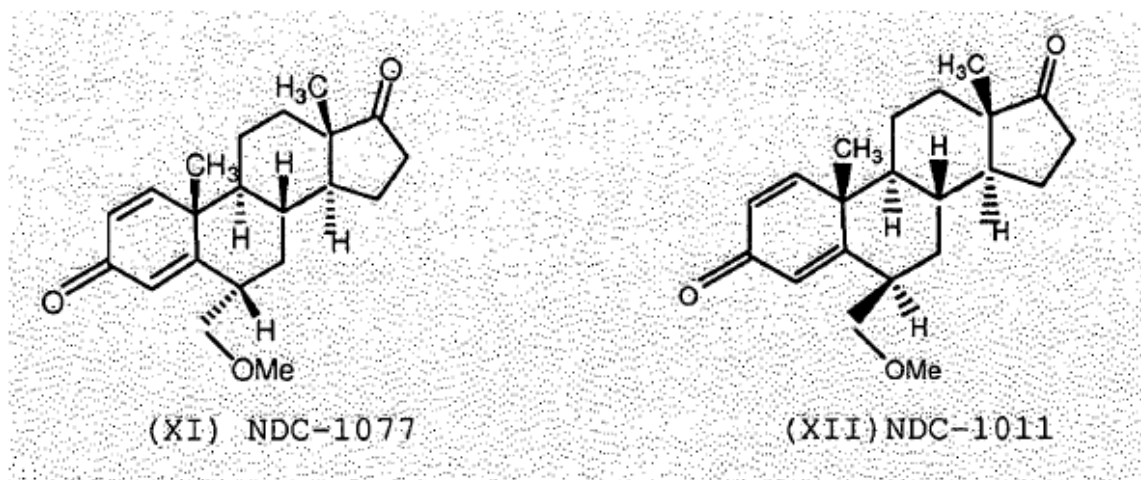
Las dosis orales de la presente invención, cuando se usan para los efectos indicados, variarán entre aproximadamente 0,01 mg por kg de peso corporal al día (mg/kg/día) y aproximadamente 100 mg/kg/día, preferentemente de 0,01 a 10 mg/kg/día, y lo más preferentemente de 0,1 a 5,0 mg/kg/día. Para la administración 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 dosis al paciente que se va a tratar. Un medicamento contiene normalmente de aproximadamente 0,01 mg a aproximadamente 500 mg de principio activo, preferentemente de aproximadamente 1 mg a aproximadamente 100 mg de principio activo. Por vía intravenosa, la dosis más preferida variará de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 10 mg/kg/minuto durante una infusión de velocidad constante. Los compuestos de la presente invención se pueden administrar en una sola dosis diaria, o la dosis diaria total puede administrarse en dosis divididas de dos, tres o cuatro veces al día.

Como se ha indicado en el presente documento, los compuestos de la presente invención se pueden usar en combinación con otros agentes antineoplásicos u otros agentes que potenciarán la pauta de tratamiento para el

sujeto mamífero. Los componentes individuales de dichas combinaciones se pueden administrar por separado en momentos diferentes en el transcurso de la terapia o simultáneamente en formas de combinación divididas o individuales a pacientes o regiones de dichos pacientes en necesidad de dicha terapia. Se ha de entender, por tanto, que la presente invención engloba la totalidad de dichas 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 diana incluye, en principio, cualquier combinación con cualquier composición farmacéutica útil para tratar trastornos relacionados con el funcionamiento de los estrógenos.

Puede ser conveniente o deseable preparar, purificar y/o manipular el compuesto activo en forma de un profármaco. El término "profármaco", como se usa en el presente documento, se refiere a un compuesto que, cuando se metaboliza, produce el compuesto activo deseado o es en sí mismo el compuesto activo. Esto incluye, por ejemplo, la adición de una fracción de éster de ácido fosfórico en posiciones adecuadas tales como las posiciones 3, 6, 10 o 17. Por lo general, el profármaco es inactivo, o menos activo que el compuesto activo, pero puede proporcionar una manipulación ventajosa, administración o propiedades metabólicas. Por ejemplo, algunos profármacos son éteres del compuesto activo; durante el metabolismo, el grupo éter se escinde para producir el fármaco activo. También, algunos profármacos se activan enzimáticamente para producir el compuesto activo, o un compuesto que, tras una reacción química adicional, produce el compuesto activo. Los metabolitos de estos compuestos incluyen especies activas producidas tras la introducción de los compuestos de la presente invención en el sujeto mamífero.

Los compuestos de la presente invención pueden ser profármacos para potentes agentes antiproliferativos. Los compuestos que presentan una actividad intrínseca baja o moderada pueden actuar como profármacos y ser metabólicamente activados (por ejemplo, *in vivo*) para generar compuestos más potentes. Esto es especialmente útil en el tratamiento del cáncer, donde la activación metabólica se puede lograr mediante una enzima que se exprese en tumores. Los profármacos, actuando como sustrato, pueden ser metabolizados por CYP19, 17 $\beta$ -HSD, HS-desmetilasa u otra enzima unida a esteroides 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. Se observó actividad para inhibir el crecimiento de células tumorales en estirpes celulares derivadas de cánceres de mama, pulmón, colon, próstata, endometrio y ovario para el enantiómero NDC-1011. Por ejemplo, los estudios *in vitro* de crecimiento de células tumorales son los más elevados en las estirpes celulares que son CYP19 positivas (MDA-MB-213 y SK-OV-3), y se reduce en las estirpes celulares que son CYP19 negativas (MCF-7 y NIH:OVCA-3) indica que NDC-1011 puede actuar como un profármaco. Véanse las siguientes Fórmulas (XI) y (XII) para la estructura de NDC-1077 y NDC-1011.



Aunque no está unido a ninguna teoría, por ejemplo, si NDC-1011 es un profármaco, entonces cualquier número de enzimas esteroideogénicas normales del organismo debería ser activo hacia el compuesto NDC-1011, convirtiendo de este modo a NDC-1011 en el/los metabolito/s activo/s. Esto se puede aplicar de la misma manera tanto a los diastereoisómeros S como a los R.

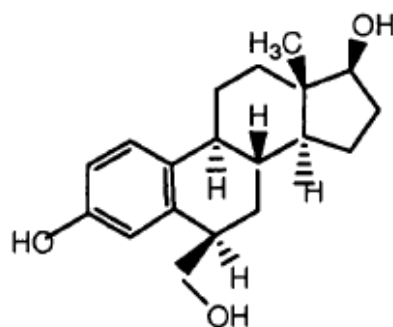
Los compuestos profármacos de la presente invención actúan de manera análoga a la observada para la androstenediona endógena, el NDC-1011 se convierte en un anillo aromático por hidroxilación en el carbono C-3 de NDC-1011 a través de CYP19, dando lugar al metabolito NDC-1099. Véase la Figura 1 en la vía de biosíntesis del estradiol, en la que la androstendiona se convierte en la estrona a través de CYP19. NDC-1099 podría sufrir una hidroxilación adicional en el carbono C-17 mediante la acción reversible de la 17 $\beta$ -hidroxiesteroide deshidrogenasa (17 $\beta$ -HSD) dando lugar al compuesto de diol NDC-1022.

Como con el estradiol, el compuesto de diol NDC-1022 tiene un anillo aromático, pero difiere del estradiol en el

sustituyente metiloxialquilo en el carbono C-6. El metabolismo de NDC-1011 en el compuesto de diol NDC-1022 podría ocurrir en cualquier orden como se muestra en la Figura 2. Por ejemplo, el NDC-1044 formado por 17 $\beta$ -HSD se convierte en el diol NDC-1022 mediante la actividad de aromatización CYP19.

Sin quedar ligados a ninguna teoría, se ha informado de que el estradiol se une al bolsillo de ligandos receptor de los receptores de estrógenos (tanto ER $\alpha$  como ER $\beta$ ), a través de C17-OH (a través de His 524); y C3-OH (a través de Arg 394 y Glu 353). Al igual que con el estradiol, se puede producir la unión del diol NDC-1022 en el mismo bolsillo de ligandos de ER $\alpha$  y ER $\beta$  a través de enlaces de aminoácidos similares. Además, la presencia del sustituyente metiloxialquilo en el carbono C-6 del compuesto NDC-1022 puede alterar la configuración del receptor ligado al ligando normal, resultando en una actividad modificada que representa la actividad antitumoral observada.

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



(VII) B -NDC-1055

## Composiciones

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

Las formulaciones farmacéuticas de la presente invención incluyen aquellas adecuadas para la 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 mediante métodos convencionales conocidos para los 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 hospedador que se esté tratando, del modo particular de administración y de 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, en general, será aquella cantidad del/de los principio/s activo/s que sea la dosis eficaz más baja para producir un efecto terapéutico.

Los métodos de preparación de 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 componentes accesorios. En general, las formulaciones se preparan poniendo uniforme 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 la administración oral pueden estar en forma de cápsulas, obleas, píldoras, comprimidos, pastillas para chupar (usando una base aromatizada, normalmente sacarosa y goma arábica o tragacanto), polvos, gránulos, o como una solución o una suspensión en un líquido acuoso o no acuoso, o como una emulsión líquida de aceite en agua o de 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 arábica) 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 se puede/n administrar como un bolo, un electuario o una pasta.

En las formas de dosificación sólidas de la invención para la administración oral (cápsulas, comprimidos, píldoras, grageas, polvos, gránulos y similares), el/los profármaco/s, principio/s activo/s (en su forma micronizada) se mezcla/n 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 diluyentes, 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 de calcio, almidón de patata o tapioca, ácido alginico, 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 las cápsulas, los comprimidos y las píldoras, las composiciones farmacéuticas también pueden comprender agentes de tamponamiento. Como cargas pueden emplearse composiciones sólidas de tipo similar en cápsulas de gelatina rellenas blandas y duras, usando excipientes tales como lactosa o azúcares de la leche, así como polietilenglicoles de alto peso molecular y similares.

Se puede preparar un comprimido por compresión o moldeo, opcionalmente, con uno o más componentes auxiliares. Los comprimidos fabricados por compresión 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 moldeados 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 grageas, cápsulas, píldoras y gránulos, opcionalmente, se pueden ranurar o prepararse con recubrimientos y cubiertas tales como recubrimientos entéricos y otros recubrimientos muy conocidos en la técnica de la formulación farmacéutica. También pueden formularse de manera que proporcionen una 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 de manera que liberen el/los principio/s activo/s solo/s, o preferentemente, en una cierta parte del tubo gastrointestinal, opcionalmente, de manera retardada. Los ejemplos de composiciones de inclusión que se pueden usar incluyen sustancias poliméricas y ceras. El/los principio/s activo/s también puede/n estar en forma microencapsulada.

Las formas de dosificación líquidas para la administración oral del/de los principio/s activo/s incluyen emulsiones, microemulsiones, soluciones, 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 tetrahidrofúrilico, 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 la 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 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 también incluyen pesarios, tampones, cremas, geles, pastas, espumas o formulaciones de pulverización que contienen vehículos tales que los 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, pulverizados, pomadas, pastas, cremas, lociones, geles, soluciones, 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 ser necesario.

Las pomadas, las pastas, las cremas y los 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 pulverizados 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

pulverizados pueden contener además propulsores habituales tales como clorofluorohidrocarburos e hidrocarburos volátiles no sustituidos, tales como butano y propano.

5 Los compuestos de la presente invención se pueden administrar en forma intranasal mediante uso tópico de vehículos intranasales adecuados, o por vías transdérmicas, usando aquellas formas de parches cutáneos transdérmicos muy conocidos para los expertos habituales en la materia. Un sistema de administración transdérmica proporciona la administración continua mediante la pauta posológica. Los parches transdérmicos tienen la ventaja añadida de proporcionar la liberación controlada del/de los principio/s activo/s al organismo. Dichas 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 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 tanto proporcionando una membrana de control de la velocidad como dispersando el/los principio/s activo/s en una matriz polimérica o gel.

15 Los compuestos de la presente invención también se pueden administrar 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 varios fosfolípidos, tales como colesterol, estearilamina o fosfatidilcolinas.

20 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 de dirección. Dichos polímeros pueden incluir polivinilpirrolidona, copolímero de pirano, polihidroxipropilmetacrilamida-fenol, polihidroxi-etilaspártamida-fenol o poli(óxido de etilo)-polilisina sustituido con restos 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 bloques reticulados o anfipáticos de hidrogeles.

30 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, o polvos estériles farmacéuticamente aceptables, que pueden reconstituirse en soluciones o dispersiones inyectables estériles justo antes de su uso, que pueden contener antioxidantes, tampones, solutos que vuelvan a la formulación isotónica con la sangre del receptor previsto o agentes de suspensión o espesantes.

40 Los ejemplos de vehículos 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 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.

45 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.

50 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 se puede realizar mediante el uso de una suspensión líquida de material cristalino o amorfo que tenga poca hidrosolubilidad. 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, la absorción retardada del/de los principio(s) activo(s) administrado(s) por vía parenteral se realiza disolviendo o suspendiendo el/los principio/s activo/s en un vehículo de aceite.

60 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 proporción del/de los principio/s activo/s con respecto al polímero y la naturaleza del polímero empleado en particular, puede controlarse la velocidad de liberación del/de los principio/s activo/s. Los 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.

65

Preferentemente, la composición administrada en forma de una forma de dosificación inyectable comprende un polímero biocompatible, una forma compatible de los compuestos desvelados en el presente documento y un disolvente biocompatible que solubiliza el polímero biocompatible, en el que los porcentajes en peso del polímero biocompatible, el presente disolvente y el disolvente biocompatible se basan en el peso total de toda la composición; además, en el que se emplean cantidades suficientes de dicho polímero 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.

Otro aspecto más de la presente realización observaría la viscosidad apropiada de dicha composición, preferentemente en el intervalo de aproximadamente 0,00001 a 0,0002 m<sup>2</sup>/s (10 a 200 cSt) a 40 °C.

Más preferentemente, la composición administrada localmente en el tumor sólido comprende un polímero biocompatible a una concentración del aproximadamente el 1 al 95 por ciento en peso de compuesto activo a una concentración del aproximadamente 5 al aproximadamente 75 por ciento en peso, y un disolvente biocompatible del aproximadamente 5 al aproximadamente 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 además en el que la composición tiene una viscosidad de al menos 0,00001 a aproximadamente 0,0002 m<sup>2</sup>/s (10 a aproximadamente 200 cSt) y más preferentemente de al menos aproximadamente 0,0002 m<sup>2</sup>/s (200 cSt) a 40 °C.

En la técnica, se desvelan polímeros biodegradables. Por ejemplo, Dunn *et al.* en la patente de EE.UU. n.º 4.938.663 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, polihidroxibutiratos, polihidrovaleratos, oxalatos de polialqueno, succinatos de polialqueno, 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.

Los 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. Dichos polímeros están tanto disponibles en el mercado como pueden prepararse mediante procedimientos reconocidos en la técnica. En una realización preferida, el peso molecular medio en número, como se ha determinado por la composición mediante 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.

Se describe además el empleo de un agente de contraste biocompatible dentro de la composición para observar y controlar el progreso clínico del sitio local de interés. Estos agentes de contraste incluyen agentes de contraste hidrosolubles 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 otra realización preferida más, el disolvente biocompatible es agua, sulfóxido de dimetilo (DMSO), etanol, lactato de etilo o acetona.

Las formulaciones pueden presentarse en envases sellados monodosis o multidosis, por ejemplo, ampollas y viales, y pueden almacenarse en un estado liofilizado que requiere solo la adición del vehículo líquido estéril, por ejemplo, agua para inyección, inmediatamente antes de uso. Pueden prepararse soluciones 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 se pueden usar en forma de formulaciones veterinarias, que incluyen aquellas adaptadas para lo siguiente: (1) administración oral, por ejemplo, rociados (soluciones o suspensiones acuosas o no acuosas), comprimidos, bolos, polvos, gránulos o microgránulos para la mezcla con piensos, pastas para la aplicación en la lengua; (2) administración parenteral, para "ampolla, por inyección subcutánea, intramuscular o intravenosa como, por ejemplo, una solución o suspensión estéril o, cuando convenga, por inyección intramamaria en la que una suspensión o solución se introduce en la ubre del animal a través del pezón; (3) administración tópica, por ejemplo, como una crema, pomada o pulverizado aplicado en la piel; o (4) por vía intravaginal, por ejemplo, como un pesario, una crema o una espuma, o cualquier otro métodos adecuado para los expertos habituales en la materia para la administración a una región de interés.

Aunque la presente invención se ha descrito con referencia a ciertas realizaciones, el experto en la materia apreciará que la presente invención se puede poner en práctica mediante otras realizaciones además de las realizaciones descritas, que se han presentado a modo de ilustración y no de limitación. Por lo tanto, el alcance de las reivindicaciones anexas no se ha de limitar a la descripción de las realizaciones contenidas en el presente

documento.

Los métodos generales dados en los Esquemas 1, 2 y 3 para la preparación de los compuestos de la Tabla I, II y III anteriores se ilustran además mediante los siguientes ejemplos. En concreto, los métodos dados en el Esquemas 1 y 2 para la preparación de compuestos de 6-alcoxilalquil-estradiol se ilustran mediante los siguientes Ejemplos 1-5 mostrados a continuación, y el Esquema 3 es para mostrar la preparación de derivados 6-amino de estradiol. Un ejemplo de evaluación de la capacidad de unión del receptor de estrógeno se expresa en el Ejemplo 4, y finalmente de evaluación de la  $Cl_{50}$  de los compuestos preferidos de la presente invención y su eficacia comparativa se da en el Ejemplo 5. A menos que se especifique de otro modo, todos los materiales de partida y reactivos son de calidad comercial convencional, y se usan sin más purificación, o se preparan fácilmente a partir de dichos materiales mediante métodos rutinarios. Los expertos en la materia de la síntesis orgánica reconocerán que los materiales de partida y las condiciones de reacción pueden variarse para lograr 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 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 tetrahidrofurano al 6-7 % a una temperatura de 30 a 40 °C durante un mínimo de 16 horas para formar 1,3-dipirrolidinoandrosta-3,5-dien-17-ona. Una vez que el contenido de ADD alcanza menos del 3 % por superficie de HPLC, o se vuelve estático o el dipirrolidinoandrostadieno resultante empieza a revertir a ADD, la mezcla de reacción se enfría hasta  $5 \pm 5$  °C. A continuación, se recoge el compuesto resultante y se lava con etanol desnaturalizado frío. Los rendimientos son normalmente del 70-80 % en una base seca con purezas normalmente del 90-95 % en porcentaje de superficie de HPLC.

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 solución de ácido sulfúrico al 2 %. Por consiguiente, se forma una capa orgánica, que se lava con ácido sulfúrico al 2 % y agua/salmuera (1:1). 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-hidroximetil-androsta-1,4-dieno-3,17-diona. Un experto habitual en la materia puede modificar además la estereoquímica en la posición 6, si así se desea, empleando técnicas conocidas en la materia.

### Ejemplo 2 (Comparativo)

Métodos de preparación del compuesto NDC-1022 y NDG-1033

Como se ha expuesto brevemente en el Esquema 2, los derivados de estradiol NDC-1022, NDC-1033 se sintetizaron del siguiente modo. El compuesto 2 de estradiol protegido se prepara mediante la reacción del compuesto 1 con dihidropirano en THF, usando ácido toluenosulfónico o ácido canforsulfónico como catalizador. Como puede apreciar un experto habitual en la materia, dicha reacción es una reacción de equilibrio y no se completaría en dichas condiciones. Así pues, ambos estradiolos mono-protectados pueden encontrarse en la mezcla de reacción. Dicha mezcla de reacción en bruto se sometería a una etapa de trituración con acetonitrilo causando que el bis-THP estradiol deseado cristalice en aproximadamente el 70 % de rendimiento.

Como se muestra en el Esquema 2, el compuesto intermedio 3 clave 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. En dichas condiciones a -70 °C, un experto habitual en la materia puede apreciar la eliminación de un protón en una posición bencílica. El compuesto intermedio 3 se purifica entonces mediante cromatografía en columna para dar un jarabe con aproximadamente el 50 % de rendimiento que sigue conteniendo impurezas menores y disolventes de columna. La reducción del aldehído con un exceso de hidruro de litio y aluminio produce altos rendimientos del compuesto 4 de hidroximetil-estradiol racémico en forma de una espuma cristalina.

Para los fines de la preparación de NDC-1022 y NDG 1033, el compuesto intermedio 7 de metoximetilo se preparó por metilación del compuesto 4 con hidruro de sodio y yoduro de metilo. El compuesto 7 se purificó mediante cromatografía en columna dando una espuma cristalina. La desprotección de los grupos protectores daría 6-metoximetil-estradiol racémico, el compuesto 8. La separación de los enantiómeros se realizó usando HPLC preparativa quiral dando los compuestos NDC-1022 y NDC-1033. Para el compuesto NDC-1022, se realizó una pureza quiral de > 95:5 de *R*:*S*. Para el compuesto NDC-1033, se realizó una pureza quiral de 86:14 de *S*:*R*. Es competencia de un experto habitual en la materia emplear la RMN para la determinación de la estereoquímica absoluta de la posición 6, en la que los protones 4 y 6 son de diagnóstico.

### Ejemplo 3 (Comparativo)

## Métodos de preparación de NDC-1055 y NDC-1066

Usando las mismas metodologías descritas en el Ejemplo 2, se sintetiza el compuesto 4. A continuación, se realizó la desprotección del compuesto 4 con cloruro de hidrógeno catalítico en etanol, y se separó el compuesto racémico 5 se HPLC preparativa quiral, dando dos fracciones, una enriquecida en NDC-1055 y otra enriquecida en NDC-1066. Para cada compuesto, se realizó una pureza quiral > 95:5 de *R*:*S* y *S*:*R*, respectivamente. La estereoquímica absoluta de la posición 6 se estableció mediante RMN, en la que los protones 4 y 6 son de diagnóstico.

**Ejemplo 4**

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

Se mantuvieron células de riñón CV-1 negativas para el receptor de estrógeno en medio de Eagle modificado por Dulbecco con 4,5 g/l de glucosa complementada con suero bovino fetal al 10 % y 100 unidades/ml de penicilina-estreptomicina a 37 °C en una atmósfera humidificada con CO<sub>2</sub> al 5 %. A continuación, se sembraron las células en placas de 6 pocillos a una densidad de 2 x 10<sup>5</sup> células por pocillo en medio de Eagle modificado por Dulbecco libre de rojo de fenol que contenía suero bovino fetal tratado con carbón vegetal-dextrano al 10 %. Las células CV-1 se transfectaron usando 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 cadena arriba del promotor de timidina quinasa y el gen de luciferasa) y 0,5 ug de bien el vector de expresión ERα o ERβ (que contenía la secuencia codificante de longitud completa de CMV-ERα o CMV-ERβ, respectivamente). Al día siguiente, las células no recibieron tratamiento (controles) o se trataron con estradiol solo (1 nM) o estradiol más un compuesto Endece (a concentraciones variables). Después de 16-24 horas, se recogieron las células y se ensayaron para determinar la actividad de la luciferasa.

Al comienzo, se lavaron monocapas de células dos veces con solución salina tamponada con fosfato fría en hielo y se incubaron durante 15 minutos en 250 ul de 1 x reactivo de lisis de cultivo celular (Promega, Madison, WI). Se transfirieron los extractos de células a un tubo nuevo y se ensayaron usando el sistema de ensayo de luciferasa (Promega). Para cada ensayo, se diluyen 10 pl de extracto con 90 ul de 1 x 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 mediante 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. En concreto, es un compuesto o una sal del mismo que se prevé que produzca la estasis de la proliferación celular y, por consiguiente, ejerza su actividad farmacológica. Como se indica en la Figura 3 y 4, los compuestos principales NDC-1022, NDC-1033 presentan un fuerte comportamiento competitivo contra el estradiol en la unión a cualquiera de los receptores de estrógeno, causando así la estasis de la actividad de proliferación celular.

**Ejemplo 5**

Método de determinación de los valores de CI<sub>50</sub> de los compuestos candidatos. Se mantuvieron las estirpes celulares enumeradas en CO<sub>2</sub> al aproximadamente 5 %, 37 °C, humedad relativa del 95 % en los medios apropiados para esa estirpe celular. Las células se subcultivaron cada de dos a tres días y se sembraron en placas de 96 pocillos de fondo claro a una densidad de 1 x 10<sup>4</sup> células/pocillo y se incubaron en CO<sub>2</sub> al aprox. 5 %, 37 °C, durante la noche antes de iniciarse el ensayo. Para empezar los ensayos de viabilidad celular, se reemplaza el medio en la placa de células (100 μl) por medio nuevo (100 μl). Los artículos de ensayo se diluyeron en serie a 1:2 en medio nuevo por duplicado y se añadieron a las células (100 μl) a concentraciones de muestra final de 0,46, 1,37, 4,12, 12,35, 37,04, 111,1, 333,3 y 1000 μM (≤ 1 % de DMSO) en un volumen total de 200 μl. Se usaron pocillos que no contenían células y pocillos que contenían células lisadas con Triton-X al 0,1 % para los controles de referencia. Se usó tamoxifeno como control conocido para cada ensayo y el DMSO solo se procesó como control de vehículo. Las muestras se incubaron a aprox. 37 °C en atmósfera humidificada de CO<sub>2</sub> al 5 % durante 72 horas. La placa se controló una vez al día durante el período de incubación, prestando especial atención al nivel de confluencia. Cuando las células se aproximaron a la confluencia antes del final del período de incubación de 72 horas, el experimento se terminó y se midió la viabilidad celular como se describe a continuación.

La viabilidad celular se determinó usando un kit disponible en el mercado para determinar los niveles de ATP por luminiscencia. En resumen, se retiraron los medios de la placa de células y se reemplazaron por 100 μl de medio nuevo, y se equilibraron el tampón y el sustrato liofilizado a temperatura ambiente. El tampón se usó para reconstituir el sustrato justo antes de la adición a los pocillos de la placa de células (100 μl por pocillo). Se dispuso la placa en el lector de placas Infinite M200, se dejó con agitación durante 10 minutos, seguido de un período de espera de 10 minutos, se leyó la placa entonces usando un tiempo de integración de 0,5 s sin atenuación.

Se restan los controles de referencia medios (pocillos con Tritón X-100 o sin células) de la luminiscencia total para dar la luminiscencia neta para ese pocillo. Se comparó este total con el control de DMSO solo. Se calculó una CI<sub>50</sub> como la concentración que condujo a una respuesta del 50 % en comparación con las células de control de vehículo.

Las Figuras 5 y 6 representan los resultados de los ensayos. Por consiguiente, los expertos habituales en la materia pueden apreciar que la configuración *R* de la composición reivindicada en la presente memoria es superior a la de otros estereoisómeros.

## 5 Ejemplo 6

Métodos de preparación de NDC-1187

10 Usando las mismas metodologías que en los Ejemplos 1-2, se prepara NDC 1022. A una solución de NDC-1022 (0,32 g, 1 mmol) en DCM (30 ml), se añadieron anhídrido acético (0,6 ml, 6 mmol, 3 eq), TEA (0,5 ml, 3,6 mmol, 1,8 eq) y DMAP (50 mg). Se agitó la solución de reacción a temperatura ambiente durante 3 h. La cromatografía de capa fina ("TLC") siguió la reacción.

15 Se lavó la solución de reacción con HCl 1 M (20 ml), NaHCO<sub>3</sub> saturado (20 ml) y salmuera (20 ml), respectivamente. Se secó la fase de DCM sobre MgSO<sub>4</sub> y se filtró. Se evaporó el filtrado y se secó a alto vacío a 60 °C durante 3 horas y a temperatura ambiente durante la noche, proporcionando el compuesto 1 deseado puro del Esquema 3 (0,4 g, blanco, cuantitativo).

## 20 Ejemplo 7

A una solución del Compuesto 2 del Esquema 3 (0,35 g, 0,87 mmol) en DCM, se añadió yodotrimetilsilano (6 ml, 44 mmol, 50 eq.) a temperatura ambiente. Se agitó la solución amarilla a 38 °C durante una noche bajo argón.

25 Se enfrió la solución de reacción en un baño de hielo. A ello, se añadió el exceso de NaHCO<sub>3</sub> sat. (10 ml) lentamente para inactivar la reacción. Después de la separación de la mezcla, se lavó la fase orgánica con salmuera y se concentró para la purificación en gel de sílice usando MeOH al 3 % en DCM como fase móvil. Se obtuvieron 270 mg del Compuesto 2 puro del Esquema 3 (80 %).

30 Se enfrió en una solución del Compuesto 2 del Esquema 3 (250 mg, 0,65 mmol), trifenilfosfina (222 mg, 0,85 mmol, 1,3 eq.), *N*-hidroxifitalimida (140 mg, 0,85 mmol, 1,3 eq.) en THF (20 ml) en un baño de hielo. A la solución enfriada, se añadió azodicarboxilato de dietilo (0,6 ml, 1 mmol, 1,5 eq). La mezcla de reacción se trató a temperatura ambiente y se agitó durante la noche.

35 Se evaporó la mezcla de reacción y se diluyó el residuo resultante con DCM (50 ml). Se lavó con salmuera y se concentró para la purificación en gel de sílice usando MeOH al 3%/DCM como fase móvil, proporcionando 260 mg del Compuesto 3 blanco deseado del Esquema 3 (75 %). Las síntesis de la etapa 1 a la etapa 3 pueden repetirse para preparar otro lote del Compuesto 3 del Esquema 3 (580 mg).

## 40 Ejemplo 8

Se enfrió una solución del Compuesto 3 del Esquema 3 (580 mg, 1,1 mmol) en DCM anhidro (30 ml) en un lote de hielo. Se añadió metilhidrazina (0,22 ml, 2,2 mmol, 4 eq). La mezcla se trató a temperatura ambiente y se agitó durante 3 h. La LC-MS siguió la reacción.

45 Se lavó la solución de reacción con una solución de salmuera y NaHCO<sub>3</sub> sat. (1:1, 10 ml). Se lavó la fase acuosa con DCM (10 ml). Se evaporaron las fases de DCM combinadas a sequedad bajo alto vacío. La LC-MS confirmó que el producto en bruto contenía dos productos principales del Compuesto 4 y Compuesto 4a del Esquema 3. La mezcla en bruto se usó directamente para la siguiente reacción sin purificación adicional.

## 50 Ejemplo 9

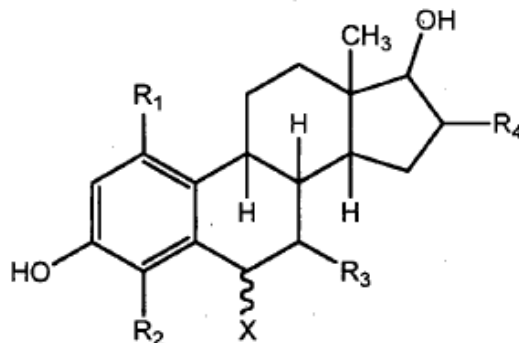
Se enfrió la mezcla en bruto (~0,7 mmol) de los Compuestos 4 y 4a del Esquema 3 en MeOH (60 ml) en un baño de hielo. A esto, se añadió una solución de carbonato de sodio (0,5 g, 4,7 mmol) en agua (10 ml), y a continuación se añadió otra solución de NaOH (0,8 g, 20 mmol) en agua (10 ml). Se trató a temperatura ambiente y se agitó durante la noche.

60 El pH de la solución de reacción final fue de aproximadamente 14. Se añadió una solución saturada de bicarbonato de sodio (~10 ml) para ajustar el pH a 10. Se evaporó la mezcla para eliminar la mayor parte del metanol. A la mezcla resultante, se añadieron DCM (100 ml) y bicarbonato de sodio sat. (30 ml) para la extracción. La fase acuosa se lavó con DCM (2 x 50 ml). Se evaporaron las fases de DCM combinadas a sequedad, dando 400 mg de la mezcla en bruto.

65 Se purificó la mezcla en bruto mediante columna de gel de sílice usando MeOH al 5 %/DCM como fase móvil para producir el producto final deseado NDC-1187 (135 mg, blanquecino, rendimiento del 60 %, pureza de HPLC al 98 %, RMN y LC-MS confirmadas).

## REIVINDICACIONES

1. Un compuesto que tiene la fórmula:



5

en la que:

10

$R_1$ ,  $R_2$ ,  $R_3$  y  $R_4$  se seleccionan cada uno independientemente del grupo que consiste en H, alquilo  $C_{1-6}$  o alquilo sustituido y halógeno; y

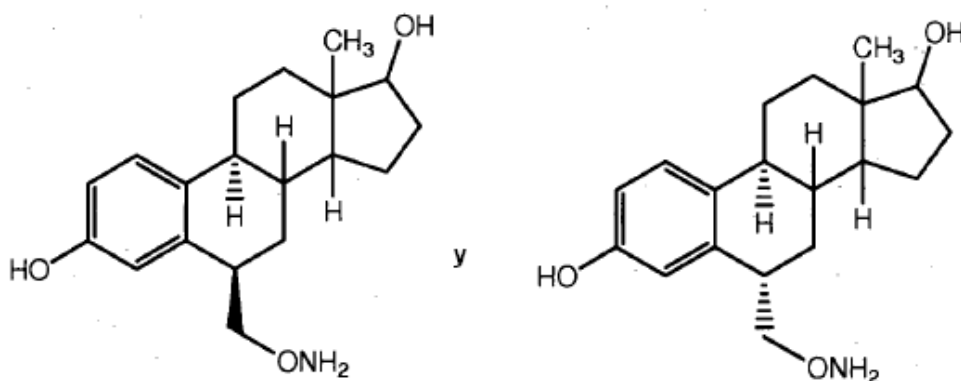
X se selecciona del grupo que consiste en  $-(CH_2)-O-NH_2$ ,  $-CH_2ONHCH_3$ ,  $-CH_2ON(CH_3)_2$ ,  $-CH_2ONHC(=O)CH_3$ ;  $-CH_2NH_2$ ,  $-CH_2NHCH_3$ ,  $-CH_2N(CH_3)_2$ ,  $-CH_2NHC(=O)CH_3$ ,  $-CH_2NHOH$ ,  $-CH_2NHOCH_3$ ,  $-CH_2NHNH_2$ ,  $-CH_2NHNHCH_3$ ,  $-CH_2NHN(CH_3)_2$ ,  $-CH_2NHNHC(=O)CH_3$ ,  $-CH_2N(CH_3)NH_2$ ,  $-CH_2N(CH_3)NHCH_3$ ,  $-CH_2N(CH_3)NHC(=O)CH_3$ ,  $-OCH_2NH_2$ ,  $-OCH_2NHCH_3$ ,  $-OCH_2NHC(=O)CH_3$ ,  $-NHCH_2OH$ ,  $-NHCH_2OCH_3$ ,  $-NHCH_2OC(=O)CH_3$ ,  $-NHCH_2NH_2$ ,  $-NHCH_2NHCH_3$ ,  $-NHCH_2N(CH_3)_2$ ,  $-NHCH_2NHC(=O)CH_3$ ,  $-N(CH_3)CH_2OH$ ,  $-N(CH_3)CH_2OCH_3$ ,  $-N(CH_3)CH_2OC(=O)CH_3$ ,  $-N(CH_3)CH_2NH_2$ ,  $-N(CH_3)CH_2NHCH_3$ ,  $-N(CH_3)CH_2N(CH_3)_2$  y  $-N(CH_3)CH_2NHC(=O)CH_3$ ;

15

~~~~~ representa cualquier tipo de enlace independientemente de la estereoquímica y los respectivos enantiómeros, otros isómeros estereoquímicos, hidratos, solvatos, tautómeros y sales farmacéuticamente aceptables de dichos compuestos.

20

2. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, seleccionado del grupo que consiste en:

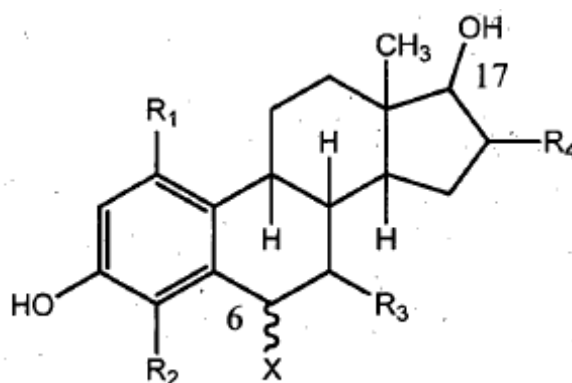


25

3. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 o 2, en el que los centros estereoquímicos de las posiciones 6 y 17 de los compuestos están independientemente en la configuración  $-S$  o  $-R$ .

4. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, que tiene la fórmula:

30



| Entrada | X                                    | C-6 | C-17 |
|---------|--------------------------------------|-----|------|
| 133     | CH <sub>2</sub> ONH <sub>2</sub>     | S   | S    |
| 134     | CH <sub>2</sub> ONH <sub>2</sub>     | S   | R    |
| 135     | CH <sub>2</sub> ONH <sub>2</sub>     | R   | R    |
| 136     | CH <sub>2</sub> ONH <sub>2</sub>     | R   | S    |
| 137     | CH <sub>2</sub> ONHMe                | S   | S    |
| 138     | CH <sub>2</sub> ONHMe                | S   | R    |
| 139     | CH <sub>2</sub> ONHMe                | R   | R    |
| 140     | CH <sub>2</sub> ONHMe                | R   | S    |
| 141     | CH <sub>2</sub> ONMe <sub>2</sub>    | S   | S    |
| 142     | CH <sub>2</sub> ONMe <sub>2</sub>    | S   | R    |
| 143     | CH <sub>2</sub> ONMe <sub>2</sub>    | R   | R    |
| 144     | CH <sub>2</sub> ONMe                 | R   | S    |
| 145     | CH <sub>2</sub> ONHA                 | S   | S    |
| 146     | CH <sub>2</sub> ONHAc                | S   | R    |
| 147     | CH <sub>2</sub> ONHAc                | R   | R    |
| 148     | CH <sub>2</sub> ONHAc                | R   | S    |
| 149     | CH <sub>2</sub> NH <sub>2</sub>      | S   | S    |
| 150     | CH <sub>2</sub> NH <sub>2</sub>      | S   | R    |
| 151     | CH <sub>2</sub> NH <sub>2</sub>      | R   | R    |
| 174     | CH <sub>2</sub> NHNNH <sub>2</sub>   | S   | R    |
| 175     | CH <sub>2</sub> NHNNH <sub>2</sub>   | R   | R    |
| 176     | CH <sub>2</sub> NHNNH <sub>2</sub>   | R   | S    |
| 177     | CH <sub>2</sub> NHNNHMe              | S   | S    |
| 178     | CH <sub>2</sub> NHNNHMe              | S   | R    |
| 179     | CH <sub>2</sub> NHNNHMe              | R   | R    |
| 180     | CH <sub>2</sub> NHNNHMe              | R   | S    |
| 181     | CH <sub>2</sub> NHNMe <sub>2</sub>   | S   | S    |
| 182     | CH <sub>2</sub> NHNMe <sub>2</sub>   | S   | R    |
| 183     | CH <sub>2</sub> NHNMe <sub>2</sub>   | R   | R    |
| 184     | CH <sub>2</sub> NHNMe <sub>2</sub>   | R   | S    |
| 185     | CH <sub>2</sub> NHNNHAc              | S   | S    |
| 186     | CH <sub>2</sub> NHNNHAc              | S   | R    |
| 187     | CH <sub>2</sub> NHNNHAc              | R   | R    |
| 188     | CH <sub>2</sub> NHNNHAc              | R   | S    |
| 189     | CH <sub>2</sub> N(Me)NH <sub>2</sub> | S   | S    |
| 190     | CH <sub>2</sub> N(Me)NH <sub>2</sub> | S   | R    |
| 191     | CH <sub>2</sub> N(Me)NH <sub>2</sub> | R   | R    |
| 192     | CH <sub>2</sub> N(Me)NH <sub>2</sub> | R   | S    |
| 193     | CH <sub>2</sub> N(Me)NHMe            | S   | S    |

# ES 2 641 779 T3

|     |                                    |          |          |
|-----|------------------------------------|----------|----------|
| 194 | CH <sub>2</sub> N(Me)NHMe          | <i>S</i> | <i>R</i> |
| 195 | CH <sub>2</sub> N(Me)NHMe          | <i>R</i> | <i>R</i> |
| 196 | CH <sub>2</sub> N(Me)NHMe          | <i>R</i> | <i>S</i> |
| 197 | CH <sub>2</sub> N(Me)NHAc          | <i>S</i> | <i>S</i> |
| 198 | CH <sub>2</sub> N(Me)NHAc          | <i>S</i> | <i>R</i> |
| 199 | CH <sub>2</sub> N(Me)NHAc          | <i>R</i> | <i>R</i> |
| 200 | CH <sub>2</sub> N(Me)NHAc          | <i>R</i> | <i>S</i> |
| 201 | OCH <sub>2</sub> NH <sub>2</sub>   | <i>S</i> | <i>S</i> |
| 202 | OCH <sub>2</sub> NH <sub>2</sub>   | <i>S</i> | <i>R</i> |
| 203 | OCH <sub>2</sub> NH <sub>2</sub>   | <i>R</i> | <i>R</i> |
| 204 | OCH <sub>2</sub> NH <sub>2</sub>   | <i>R</i> | <i>S</i> |
| 205 | OCH <sub>2</sub> NHMe              | <i>S</i> | <i>S</i> |
| 206 | OCH <sub>2</sub> NHMe              | <i>S</i> | <i>R</i> |
| 207 | OCH <sub>2</sub> NHMe              | <i>R</i> | <i>R</i> |
| 208 | OCH <sub>2</sub> NHMe              | <i>R</i> | <i>S</i> |
| 209 | OCH <sub>2</sub> NHAc              | <i>S</i> | <i>S</i> |
| 210 | OCH <sub>2</sub> NHAc              | <i>S</i> | <i>R</i> |
| 211 | OCH <sub>2</sub> NHAc              | <i>R</i> | <i>R</i> |
| 212 | OCH <sub>2</sub> NHAc              | <i>R</i> | <i>S</i> |
| 213 | NHCH <sub>2</sub> OH               | <i>S</i> | <i>S</i> |
| 214 | NHCH <sub>2</sub> OH               | <i>S</i> | <i>R</i> |
| 215 | NHCH <sub>2</sub> OH               | <i>R</i> | <i>R</i> |
| 216 | NHCH <sub>2</sub> OH               | <i>R</i> | <i>S</i> |
| 217 | NHCH <sub>2</sub> OMe              | <i>S</i> | <i>S</i> |
| 218 | NHCH <sub>2</sub> OMe              | <i>S</i> | <i>R</i> |
| 219 | NHCH <sub>2</sub> OMe              | <i>R</i> | <i>R</i> |
| 220 | NHCH <sub>2</sub> OMe              | <i>R</i> | <i>S</i> |
| 221 | NHCH <sub>2</sub> OAc              | <i>S</i> | <i>S</i> |
| 222 | NHCH <sub>2</sub> OAc              | <i>S</i> | <i>R</i> |
| 223 | NHCH <sub>2</sub> OAc              | <i>R</i> | <i>R</i> |
| 224 | NHCH <sub>2</sub> OAc              | <i>R</i> | <i>S</i> |
| 225 | NHCH <sub>2</sub> NH <sub>2</sub>  | <i>S</i> | <i>S</i> |
| 226 | NHCH <sub>2</sub> NH <sub>2</sub>  | <i>S</i> | <i>R</i> |
| 227 | NHCH <sub>2</sub> NH <sub>2</sub>  | <i>R</i> | <i>R</i> |
| 228 | NHCH <sub>2</sub> NH <sub>2</sub>  | <i>R</i> | <i>S</i> |
| 229 | NHCH <sub>2</sub> NHMe             | <i>S</i> | <i>S</i> |
| 230 | NHCH <sub>2</sub> NHMe             | <i>S</i> | <i>R</i> |
| 231 | NHCH <sub>2</sub> NHMe             | <i>R</i> | <i>R</i> |
| 232 | NHCH <sub>2</sub> NHMe             | <i>R</i> | <i>S</i> |
| 233 | NHCH <sub>2</sub> NMe <sub>2</sub> | <i>S</i> | <i>S</i> |
| 234 | NHCH <sub>2</sub> NMe <sub>2</sub> | <i>S</i> | <i>R</i> |
| 235 | NHCH <sub>2</sub> NMe <sub>2</sub> | <i>R</i> | <i>R</i> |
| 236 | NHCH <sub>2</sub> NMe <sub>2</sub> | <i>R</i> | <i>S</i> |
| 237 | NHCH <sub>2</sub> NHAc             | <i>S</i> | <i>S</i> |
| 238 | NHCH <sub>2</sub> NHAc             | <i>S</i> | <i>R</i> |
| 239 | NHCH <sub>2</sub> NHAc             | <i>R</i> | <i>R</i> |
| 240 | NHCH <sub>2</sub> NHAc             | <i>R</i> | <i>S</i> |
| 241 | N(Me)CH <sub>2</sub> OH            | <i>S</i> | <i>S</i> |
| 242 | N(Me)CH <sub>2</sub> OH            | <i>S</i> | <i>R</i> |
| 243 | N(Me)CH <sub>2</sub> OH            | <i>R</i> | <i>R</i> |
| 244 | N(Me)CH <sub>2</sub> OH            | <i>R</i> | <i>S</i> |
| 245 | N(Me)CH <sub>2</sub> OMe           | <i>S</i> | <i>S</i> |

|     |                                        |   |   |
|-----|----------------------------------------|---|---|
| 246 | N(Me)CH <sub>2</sub> OMe               | S | R |
| 247 | N(Me)CH <sub>2</sub> OMe               | R | R |
| 248 | N(Me)CH <sub>2</sub> OMe               | R | S |
| 249 | N(Me)CH <sub>2</sub> OAc               | S | S |
| 250 | N(Me)CH <sub>2</sub> OAc               | S | R |
| 251 | N(Me)CH <sub>2</sub> OAc               | R | R |
| 252 | N(Me)CH <sub>2</sub> OAc               | R | S |
| 253 | N(Me)CH <sub>2</sub> NH <sub>2</sub>   | S | S |
| 254 | N(Me)CH <sub>2</sub> NH <sub>2</sub>   | S | R |
| 255 | N(Me)CH <sub>2</sub> NH <sub>2</sub>   | R | R |
| 256 | N(Me)CH <sub>2</sub> NH <sub>2</sub>   | R | S |
| 257 | N(Me)CH <sub>2</sub> NHMe              | S | S |
| 258 | N(Me)CH <sub>2</sub> NHMe              | S | R |
| 259 | N(Me)CH <sub>2</sub> NHMe              | R | R |
| 260 | N(Me)CH <sub>2</sub> NHMe              | R | S |
| 261 | N(Me)CH <sub>2</sub> NHMe <sub>2</sub> | S | S |
| 262 | N(Me)CH <sub>2</sub> NHMe <sub>2</sub> | S | R |
| 263 | N(Me)CH <sub>2</sub> NHMe <sub>2</sub> | R | R |
| 264 | N(Me)CH <sub>2</sub> NHMe <sub>2</sub> | R | S |
| 265 | N(Me)CH <sub>2</sub> NHAc              | S | S |
| 266 | N(Me)CH <sub>2</sub> NHAc              | S | R |
| 267 | N(Me)CH <sub>2</sub> NHAc              | R | R |
| 268 | N(Me)CH <sub>2</sub> NHAc              | R | S |

en la que

R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub> y R<sub>4</sub> se seleccionan cada uno independientemente del grupo que consiste en H, alquilo C<sub>1-6</sub> o alquilo sustituido y halógeno.

5

5. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, para su uso en la inhibición del crecimiento de células cancerosas.

10

6. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

7. Una composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 6, para su uso en el tratamiento del crecimiento de un tumor sólido en un hospedador mamífero.

15

8. Una composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 7, en donde el hospedador mamífero es un ser humano.

20

9. Una composición farmacéutica de acuerdo con las reivindicaciones 7 u 8, en donde el crecimiento del tumor sólido es un tumor sólido asociado a un cáncer seleccionado entre cáncer de mama, pancreático, de pulmón, de colon, de próstata, de ovario, de cerebro, de hígado, de bazo, de riñón, de nódulos linfáticos, de intestino delgado, de células sanguíneas, de hueso, de estómago, de endometrio, testicular, de ovario, del sistema nervioso central, de piel, de cabeza y cuello, de esófago y de médula ósea.

25

10. Una composición farmacéutica de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 7 a 9, en donde el crecimiento del tumor sólido es un tumor independiente de estrógenos.

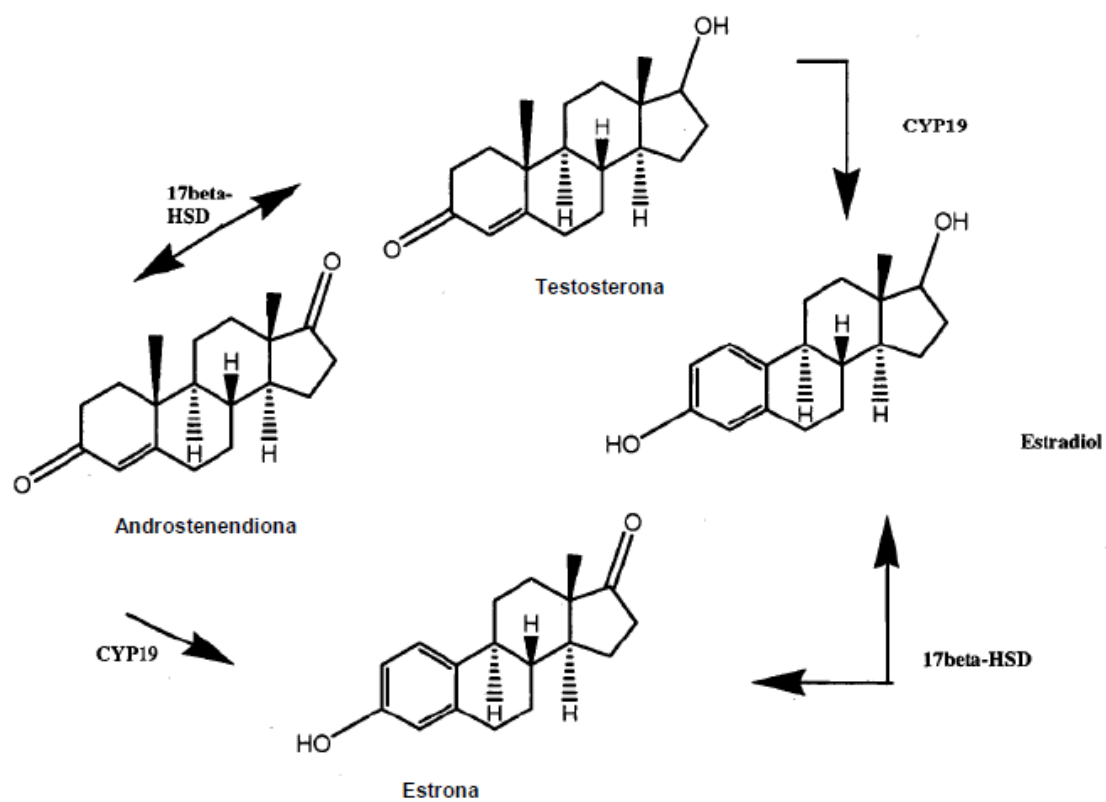


FIG. 1

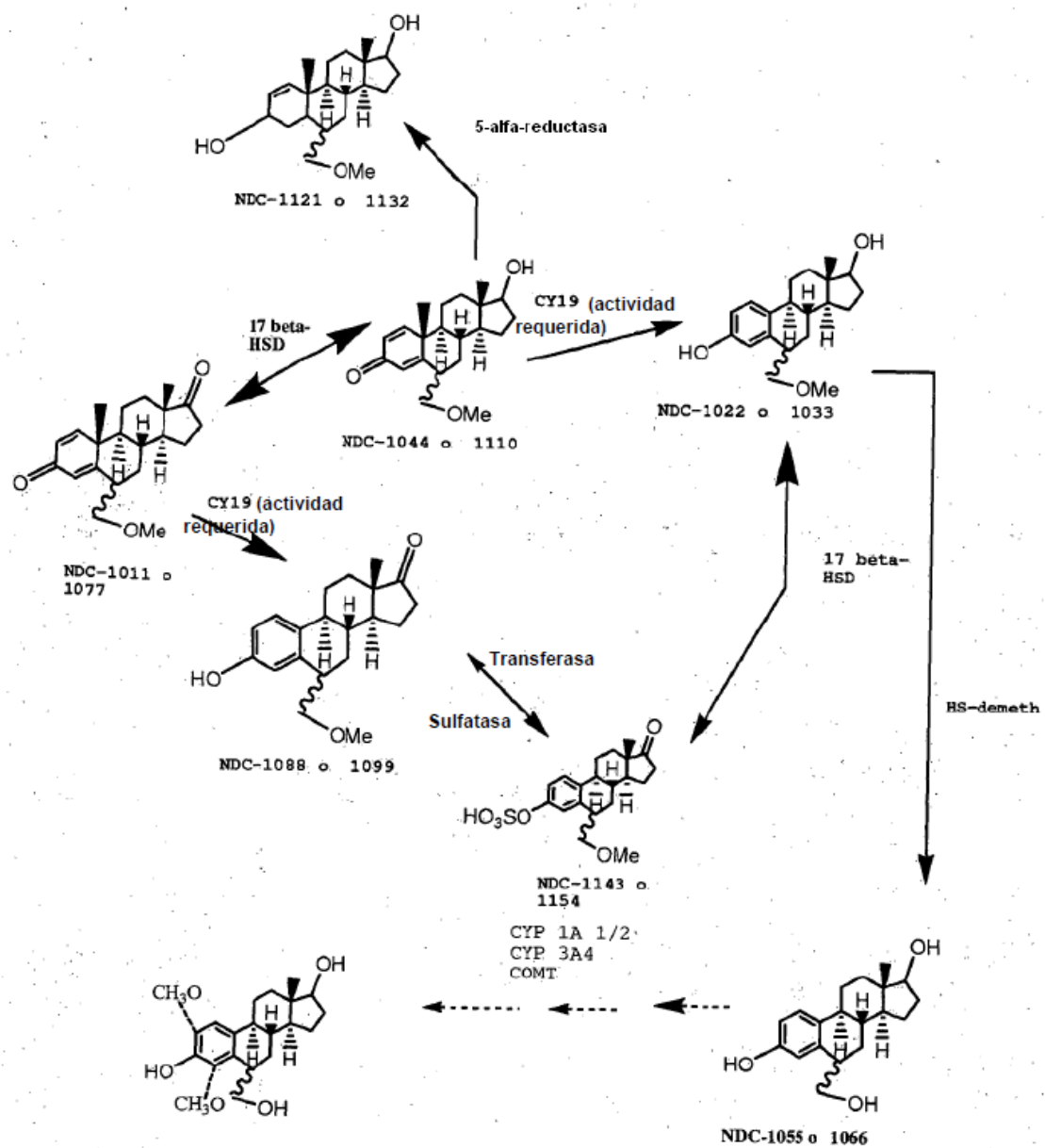


FIG. 2

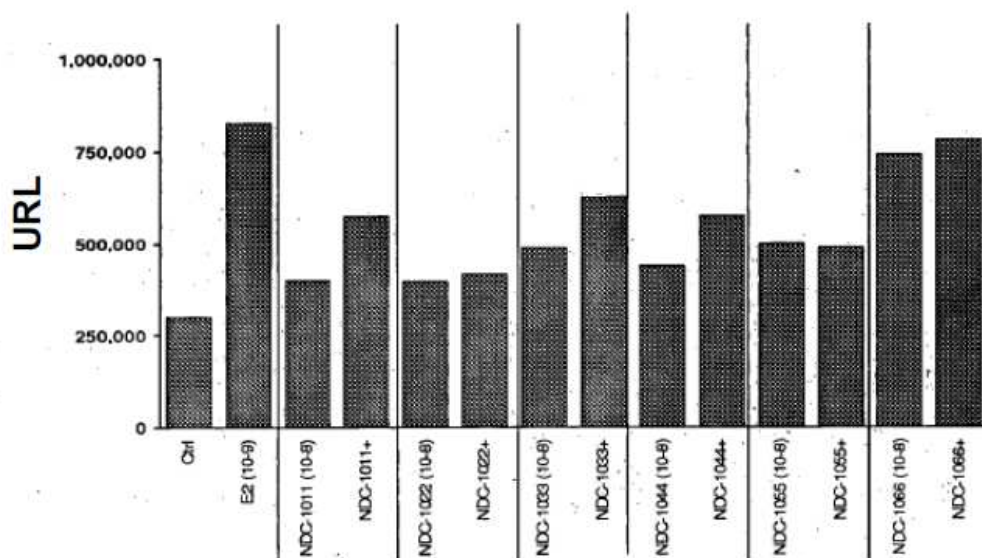


FIG. 3

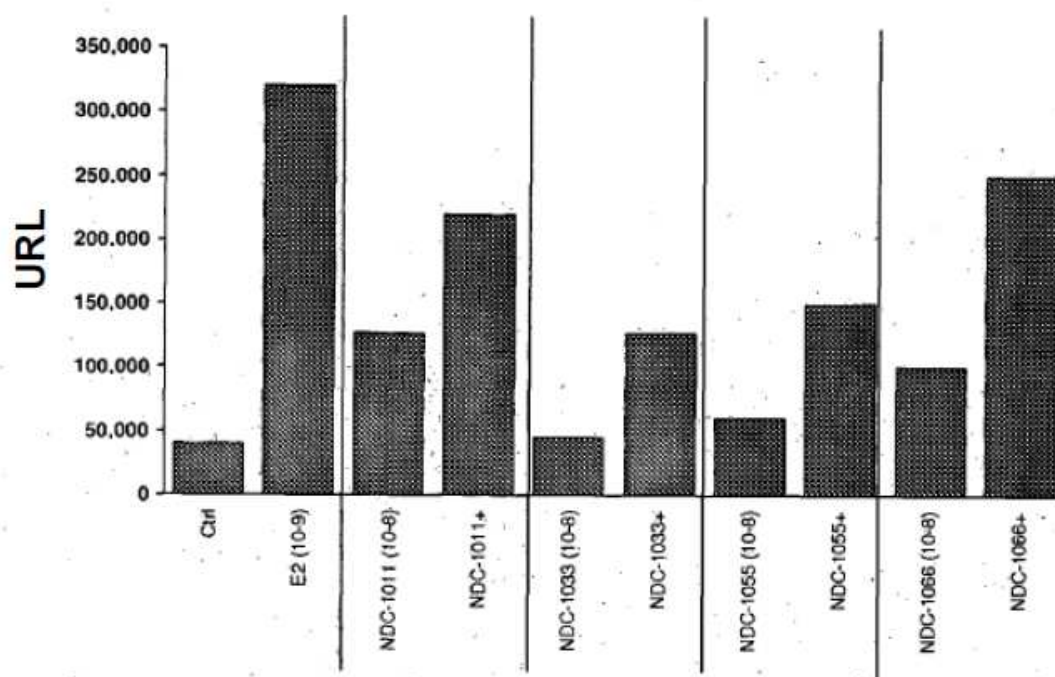


FIG. 4

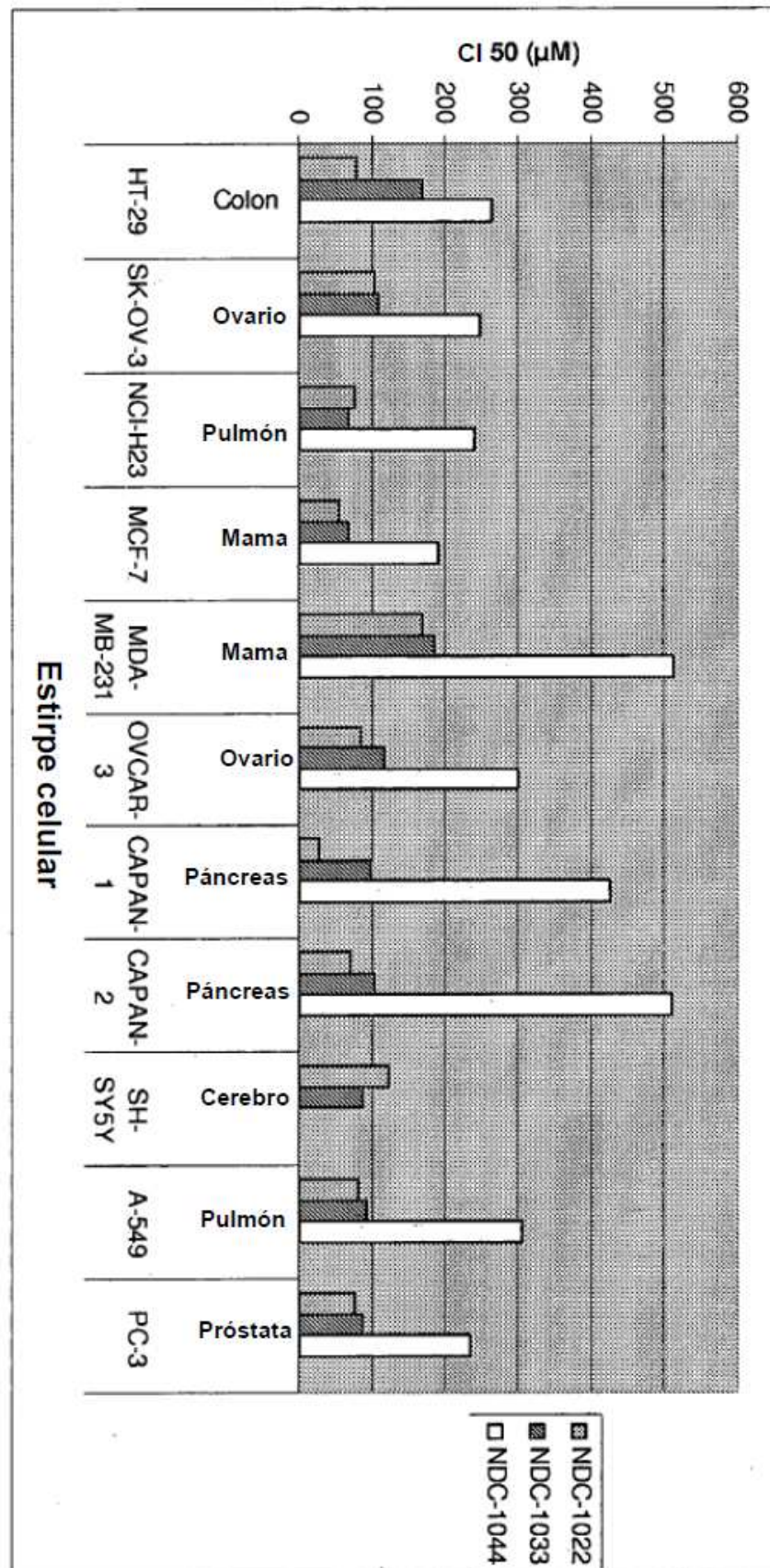


FIG. 5

| Estirpe celular | Tipo de 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

| Estirpes celulares | Tipo     | Compuesto de ensayo 1 | Compuesto de ensayo 2 | Compuesto de ensayo 3 |
|--------------------|----------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
| HT-29              | Colon    | 72                    | > 1000                | 220                   |
| NCI-H23            | Pulmón   | 86                    | 121                   | 166                   |
| MCF-7              | Mama     | 55                    | 550                   | 67                    |
| MDA-MB-231         | Mama     | 122                   | 750                   | 222                   |
| SKOV-3             | Ovario   | 178                   | > 1000                | 260                   |
| PC-3               | Próstata | 79                    | 820                   | 182                   |
| SH-SY5Y            | Cerebro  | 75                    | 237                   | 487                   |

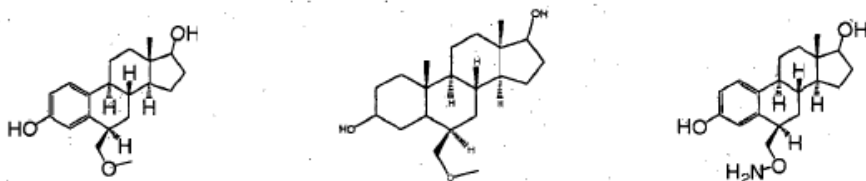


FIG. 7

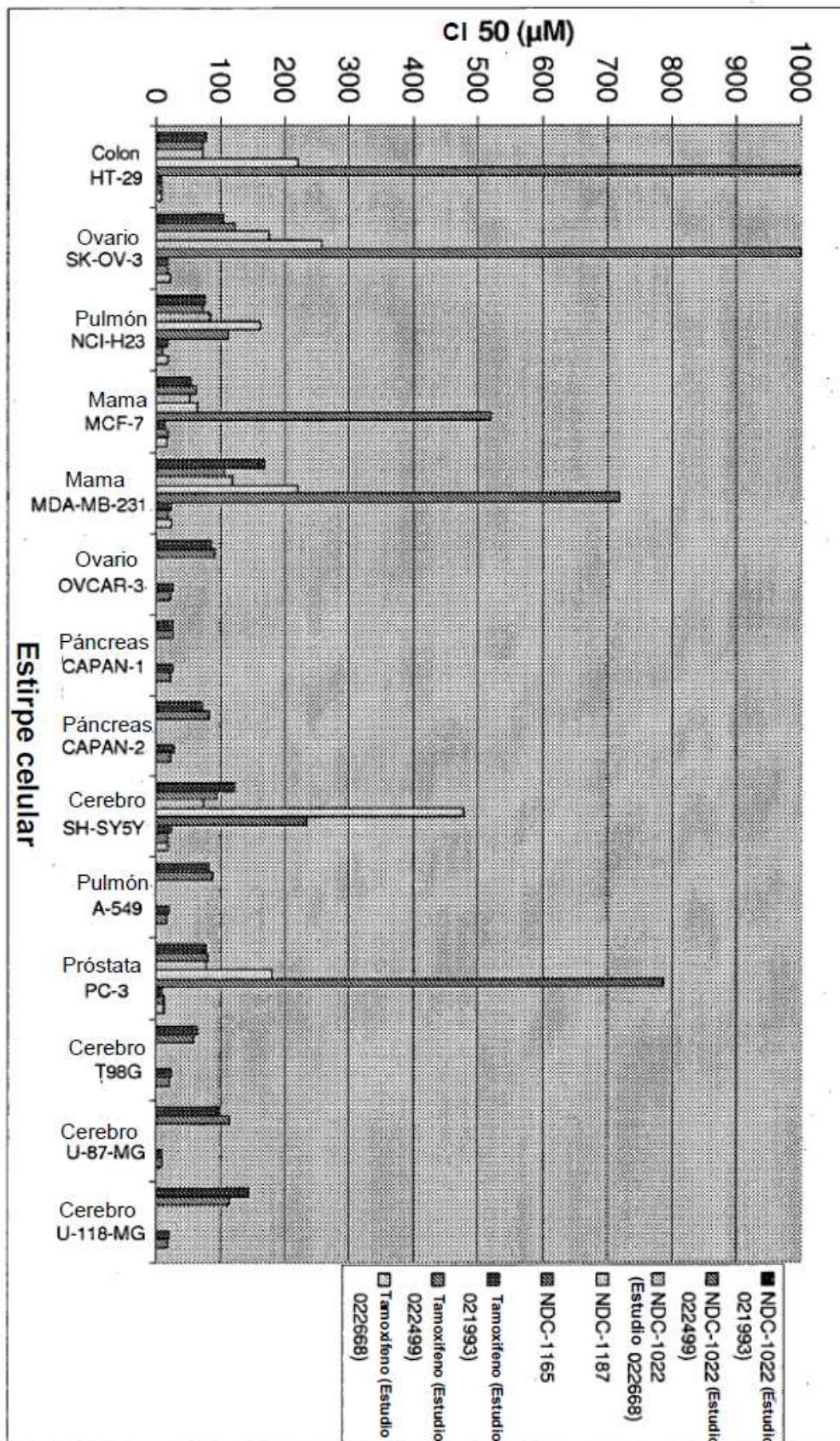


FIG. 8