

OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



⑪ Número de publicación: **2 282 247**

⑮ Int. Cl.:

C07J 41/00 (2006.01)

C07J 71/00 (2006.01)

A61K 31/57 (2006.01)

A61K 31/58 (2006.01)

A61K 31/56 (2006.01)

A61P 11/06 (2006.01)

A61P 37/08 (2006.01)

⑫

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

⑯ Número de solicitud europea: **01925262 .6**

⑯ Fecha de presentación : **30.04.2001**

⑯ Número de publicación de la solicitud: **1278763**

⑯ Fecha de publicación de la solicitud: **29.01.2003**

⑭ Título: **Esteroides 3-nitrógeno-6,7-dioxigenados y usos relacionados con ellos.**

⑩ Prioridad: **28.04.2000 US 200617 P**

⑬ Titular/es: **Inflazyme Pharmaceuticals, Ltd.**
Suite 425, 5600 Parkwood Way
Richmond, British Columbia V6V 2M2, CA

⑮ Fecha de publicación de la mención BOPI:
16.10.2007

⑯ Inventor/es: **Raymond, Jeffery, R.;**
Kasserra, Claudia, E. y
Shen, Yaping

⑮ Fecha de la publicación del folleto de la patente:
16.10.2007

⑯ Agente: **Elzaburu Márquez, Alberto**

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

Esteroides 3-nitrógeno-6,7-dioxigenados y usos relacionados con ellos.

5 **Campo técnico**

Esta invención se refiere a esteroides 3-amino-6,7-dioxigenados, a composiciones que incluyen estos esteroides y a usos terapéuticos relacionados con los mismos.

10 **Antecedentes de la invención**

La respuesta Inflamatoria (Inflamación)

La inflamación es una respuesta localizada esencial del hospedador a microorganismos invasores o a lesiones de tejidos en la que están implicadas células del sistema inmune. Los signos clásicos de la inflamación incluyen enrojecimiento (eritema), hinchazón (edema), dolor y aumento de la producción de calor (hiperemia) en el sitio de la lesión. La respuesta inflamatoria permite que el cuerpo reconozca específicamente y elimine un organismo invasor y/o repare la lesión tisular. Muchos de los cambios agudos en el sitio de inflamación se pueden atribuir directa o indirectamente a la entrada masiva de leucocitos (por ejemplo, neutrófilos, eosinófilos, linfocitos, monocitos) que es intrínseca a esta respuesta. La infiltración de leucocitos y la acumulación en el tejido provoca su activación y la posterior liberación de mediadores inflamatorios tales como LTB₄, prostaglandinas, TNF- α , IL-1 β , IL-8, IL-5, IL-4, histamina, proteasas y especies de oxígeno reactivo, por ejemplo.

La inflamación normal es un proceso muy regulado que está bien controlado a varios niveles para cada uno de los tipos celulares implicados en la respuesta. Por ejemplo, la expresión de la citoquina proinflamatoria TNF- α está controlada a nivel de la expresión génica, traducción, modificación post-traduccional y liberación de la forma madura desde la membrana celular. Muchas de las proteínas reguladas positivamente durante la inflamación están controladas por el factor de transcripción NF- κ B. Las respuestas proinflamatorias se contrarrestan en algunos casos por mecanismos anti-inflamatorios endógenos tales como la generación de IL-10. Una característica de una respuesta inflamatoria normal es que es de naturaleza temporal y va seguida de una fase de resolución que pone el estado del tejido de nuevo en su estado anterior. Se cree que la fase de resolución implica la regulación positiva de mecanismos anti-inflamatorios, tales como IL-10, así como la regulación negativa de los procesos pro-inflamatorios.

Enfermedad Inflamatoria

35 Se produce una enfermedad inflamatoria cuando se inicia una respuesta inflamatoria que es inapropiada y/o no se resuelve del modo normal, sino que persiste y provoca un estado inflamatorio crónico. La enfermedad inflamatoria puede ser sistémica (por ejemplo, lupus) o localizada en tejidos u órganos particulares y ejerce una carga personal y económica enorme sobre la sociedad. Los ejemplos de algunas de las enfermedades inflamatorias más comunes y 40 problemáticas incluyen asma, alergia, artritis reumatoide, enfermedad inflamatoria del intestino, psoriasis, enfisema, colitis, enfermedad de injerto contra hospedador, dermatitis por contacto y lesión por isquemia-reperfusión. Ahora se sabe que otras patologías tales como enfermedades relacionadas con inmunodeficiencias están asociadas con una alteración de la regulación de la red de quimioquinas/citoquinas y sus receptores, que puede alterar la replicación viral y la patogénesis del SIDA.

45 Se han esclarecido muchos de los procesos tisulares, celulares y bioquímicos que están perturbados en una enfermedad inflamatoria y esto ha permitido el desarrollo de modelos experimentales o ensayos para imitar la patología. Estos ensayos *in-vitro* e *in-vivo* permiten la selección y exploración de compuestos con una alta probabilidad de eficacia terapéutica en la enfermedad inflamatoria relevante. Por ejemplo, la capacidad de un compuesto de inhibir la acumulación inducida por alérgenos de células inflamatorias tales como eosinófilos y linfocitos en el fluido de lavado obtenido a partir de animales sensibilizados es indicativa de la actividad anti-asmática. En particular, este sistema modelo es útil en la evaluación de los efectos de compuestos en el tratamiento de la respuesta de fase tardía e hiper-sensibilidad que es característica del asma, cuando es evidente una inflamación pulmonar.

55 **Asma y Alergia**

El asma y la alergia están estrechamente relacionados con buenas pruebas procedentes de estudios clínicos que demuestran una fuerte correlación entre la gravedad del asma y el grado de atopía (alergia). Se cree que la sensibilización a alérgenos es el factor de riesgo más importante para el asma tanto en niños como en adultos, presentando atopía aproximadamente 90% de los casos de asma.

60 La alergia está caracterizada por un nivel elevado de IgE (anticuerpo) en el suero sanguíneo. Normalmente se requiere la exposición repetida a alérgenos, en un proceso denominado sensibilización, para desencadenar atopía y la respuesta asmática o alérgica posterior. Una vez que las células B se han expuesto a los alérgenos, producen anticuerpos que se unen a la superficie de los mastocitos. El entrecruzamiento de dos anticuerpos por el antígeno causa una serie de reacciones que provocan la desgranulación y la liberación de varios mediadores que modulan la respuesta inflamatoria. Los mediadores que se liberan o generan durante la respuesta asmática y alérgica incluyen histamina, leucotrienos, prostaglandinas, citoquinas y triptasa.

El asma se caracteriza por una hipersensibilidad de las vías aéreas, períodos episódicos de broncoespasmos e inflamación crónica de los pulmones. La obstrucción de las vías respiratorias es reversible con el tiempo o en respuesta a terapias con fármacos. Los pacientes que muestran un flujo de aire normal pueden presentar hiperreactividad a una diversidad de estímulos naturales, por ejemplo, aire frío, ejercicio, compuestos químicos y alérgenos. El acontecimiento más común que inicia una respuesta asmática es una hipersensibilidad inmediata a alérgenos comunes incluyendo polen de ambrosía, polen del césped, diversos hongos, ácaros del polvo, cucarachas y animales domésticos. Los síntomas de la enfermedad incluyen opresión en el pecho, sibilancias, falta de aliento y tos. La incidencia del asma y la mortalidad han sido crecientes en todo el mundo, duplicándose en los últimos 20 años a pesar de las terapias modernas.

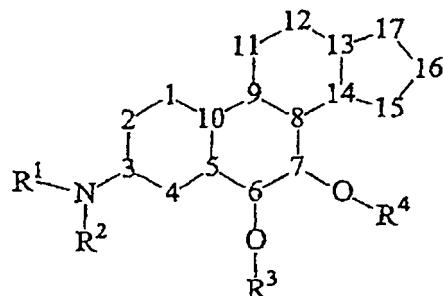
La respuesta de las vías respiratorias al alérgeno es compleja y consiste en una respuesta asmática temprana (EAR) que alcanza su máximo a los 20-30 minutos después de la exposición a los estímulos, se caracteriza por broncoconstricción y normalmente se resuelve después de 1,5 a 2 horas. La respuesta asmática tardía (LAR) generalmente se produce 3-8 horas después de la exposición inicial, e implica tanto broncoconstricción como el desarrollo de inflamación y edema en el tejido pulmonar. Esta inflamación a menudo se convierte en crónica, produciéndose daño epitelial y infiltración de los pulmones con células inflamatorias tales como eosinófilos y neutrófilos.

Tratamientos Actuales para el Asma

La terapia más eficaz a largo plazo para el tratamiento del asma consiste en glucocorticoides (esteroides). Por ejemplo, debido a la presencia de inflamación en las vías respiratorias incluso en casos de asma leve, se usan esteroides inhalados incluso en las primeras fases de la terapia con fármacos. Aunque los esteroides son antiinflamatorios eficaces, no son muy útiles para el control de los ataques de asma aguda. Los esteroides administrados por vía oral están asociados con efectos secundarios significativos y, por consiguiente, su uso crónico en el control del asma es mínimo. A menudo se emplea una terapia combinada para los esteroides administrados por vía oral, pudiendo dividirse la terapia combinada en las siguientes áreas: fármacos antiinflamatorios (por ejemplo, esteroides inhalados y orales), broncodilatadores (por ejemplo, agonistas β_2 , xantinas, anticolinérgicos) e inhibidores de mediadores (por ejemplo, cromolín y antagonistas de leucotrienos). En general, los pacientes con un asma de moderada a severa obtienen pocos beneficios del presente armamentario de fármacos. Los fármacos que son seguros sólo son ligeramente eficaces, mientras que los fármacos eficaces tienen efectos secundarios inaceptables, por lo que se necesita un control exhaustivo de los pacientes. Los productos en desarrollo continúan enfrentándose a los desafíos relacionados con los efectos secundarios (por ejemplo, los efectos secundarios de emesis característicos de ciertos inhibidores de la fosfodiesterasa 4) y a los malos parámetros farmacocinéticos y metabólicos. Existe una necesidad significativa de agentes terapéuticos que consigan un tratamiento seguro y eficaz de enfermedades inflamatorias tales como el asma y la alergia. La presente invención proporciona estos y otros beneficios relacionados como se describe en este documento. Los documentos WO-A-98/02450 y WO-A-94/14451 constituyen el estado de la técnica más próximo y describen compuestos de esterol 6,7-dioxigenados con la misma actividad biológica, pero que no tienen ningún átomo de nitrógeno unido a la posición 3 del esqueleto del esteroide.

Compendio de la invención

En un aspecto, la presente invención proporciona compuestos de acuerdo con la fórmula (1) y sales farmacéuticamente aceptables, solvatos y estereoisómeros de los mismos, en forma aislada o en mezclas,



60 donde, independientemente en cada caso:

R¹ y R² se seleccionan entre hidrógeno u oxígeno para formar de esta manera nitro u oxima, amino, -SO₃-R, y grupos orgánicos que tienen 1-30 carbonos y que contienen opcionalmente 1-6 heteroátomos seleccionados entre nitrógeno, oxígeno, fósforo, silicio y azufre, donde R² puede ser un enlace directo al número 3, o R¹ y R² pueden formar, junto con el N al que están unidos, una estructura heterocíclica que puede ser parte de un grupo orgánico que tiene 1-30 carbonos y que contiene opcionalmente 1-6 heteroátomos seleccionados entre nitrógeno, oxígeno y silicio; y donde R¹ puede ser una cadena de 2 ó 3 átomos unida al número 2 de manera que -N-R¹- forme parte de una estructura bicíclica condensada con el anillo A;

ES 2 282 247 T3

R³ y R⁴ se seleccionan entre enlaces directos a 6 y 7 respectivamente de manera que formen grupos carbonilo, hidrógeno, o un grupo protector de tal forma que R³ y/o R⁴ sea parte del grupo protector de hidroxilo o carbonilo;

5 cada uno de los números 1 a 17 representa un carbono, donde los carbonos de los números 1, 2, 4, 11, 12, 15, 16 y 17 pueden estar sustituidos independientemente con

(a) uno de: =O, =C(R⁵)(R⁵), =C=C(R⁵)(R⁵), -C(R⁵)(R⁵)(C(R⁵)(R⁵))_n- y -(O(C(R⁵)(R⁵))_nO)- donde n varía de 1 a 6; o

10 (b) dos de los siguientes, que se seleccionan independientemente: -X, -N(R¹)(R²), -R⁵ y -OR⁶;

y donde los carbonos de los números 5, 8, 9, 10, 13 y 14 pueden estar sustituidos independientemente con uno de -X, -R⁵, -N(R¹)(R²) u -OR⁶;

15 además de los grupos -OR³ y -OR⁴ que se muestran, cada uno de los carbonos 6 y 7 puede estar sustituido independientemente con uno de -X, -N(R¹)(R²), -R⁵ u -OR⁶;

cada uno de los anillos A, B, C y D está independientemente totalmente saturado, parcialmente saturado o totalmente insaturado;

20 R⁵ en cada caso se selecciona independientemente entre H, X y un resto orgánico C₁₋₃₀ que puede contener opcionalmente al menos un heteroátomo seleccionado entre el grupo que consiste en boro, halógeno, nitrógeno, oxígeno, silicio y azufre; donde dos grupos geminales R⁵ pueden formar un anillo junto con el átomo de carbono al que están unidos;

25 R⁶ es H o un grupo protector de tal forma que -OR⁶ sea un grupo hidroxilo protegido, donde los grupos -OR⁶ próximos entre sí pueden formar juntos una estructura cíclica que protege a los grupos hidroxilo próximos entre sí, y donde los grupos geminales -OR⁶ pueden formar juntos una estructura cíclica que protege a un grupo carbonilo; y

30 X representa fluoruro, cloruro, bromuro y yoduro pero sin incluir pregnan-6,7-diol-3-ona, 3-oxima, 6,7-diacetato (6 α ,7 β); ácido 3-semicarbazónil helvólico; 2,4-dinitrofenilhidrazone de helvonato de metilo; 2,4-dinitro-fenilhidrazone del ácido helvólico; 2,4-dinitrofenilhidrazone de helvolinato de metilo. Estos compuestos no reivindicados se describen en el documento WO-A-98/02450 ejemplo 26, producto intermedio 357 y en J. Am. Chem. Soc. vol 78, 5275-5284 (1956).

35 En otro aspecto, la presente invención proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto esteroideo como se ha indicado anteriormente, y un vehículo, excipiente o diluyente farmacéuticamente aceptable.

40 En otro aspecto, la presente invención proporciona un método para tratar la inflamación que comprende administrar a un sujeto en necesidad del mismo una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto esteroideo como se ha indicado anteriormente.

45 En otro aspecto, la presente invención proporciona un método para tratar la inflamación profilácticamente que comprende administrar a un sujeto en necesidad del mismo una cantidad profilácticamente eficaz de un compuesto esteroideo como se ha indicado anteriormente.

50 En otro aspecto, la presente invención proporciona un método para tratar el asma que comprende administrar a un sujeto en necesidad del mismo una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto esteroideo como se ha indicado anteriormente.

55 En otro aspecto, la presente invención proporciona un método para tratar una enfermedad alérgica incluyendo, pero sin limitación, indicaciones dérmicas y oculares que comprende administrar a un sujeto en necesidad del mismo una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto esteroideo como se ha indicado anteriormente.

60 En otro aspecto, la presente invención proporciona un método para tratar una enfermedad pulmonar obstructiva crónica que comprende administrar a un sujeto en necesidad del mismo una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto esteroideo como se ha indicado anteriormente.

65 En otro aspecto, la presente invención proporciona un método para tratar la dermatitis atópica que comprende administrar a un sujeto en necesidad del mismo una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto esteroideo como se ha indicado anteriormente.

En otro aspecto, la presente invención proporciona un método para tratar tumores sólidos que comprende administrar a un sujeto en necesidad del mismo una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto esteroideo como se ha indicado anteriormente.

En otro aspecto, la presente invención proporciona un método para tratar el SIDA que comprende administrar a un sujeto en necesidad del mismo una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto esteroideo como se ha indicado anteriormente.

5 En otro aspecto, la presente invención proporciona un método para tratar una lesión por isquemia-reperfusión que comprende administrar a un sujeto en necesidad del mismo una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto esteroideo como se ha indicado anteriormente.

10 En otro aspecto, la presente invención proporciona un método para tratar arritmias cardíacas que comprende administrar a un sujeto en necesidad del mismo una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto esteroideo como se ha indicado anteriormente.

Estos y otros aspectos relacionados de la presente invención se describen con más detalle a continuación.

15 **Breve descripción de los dibujos**

La Figura 1A y 1B representan resúmenes de transformaciones sintéticas que pueden usarse para convertir un 3-amino esteroide en un 3-nitrógeno esteroide de la presente invención.

20 Las Figuras 2A, 2B y 2C son un conjunto de gráficos de barras que muestran el efecto del compuesto 89 (respuesta a la dosis, 4 dosis q.d., p.o.) sobre la acumulación inducida por ovalbúmina de células inflamatorias en el fluido de lavado pulmonar obtenido de ratas Brown Norway sensibilizadas. La Figura 2A muestra la acumulación de eosinófilos, la Figura 2B muestra la acumulación de neutrófilos y la Figura 2C muestra la acumulación de linfocitos.

25 Las Figuras 3A, 3B y 3C son un conjunto de gráficos de barras que muestran el efecto del compuesto 28 (respuesta a la dosis, 4 dosis q.d., p.o.) sobre la acumulación inducida por ovalbúmina de células inflamatorias en el fluido de lavado pulmonar obtenido de ratas Brown Norway sensibilizadas. La Figura 3A muestra la acumulación de eosinófilos, la Figura 3B muestra la acumulación de neutrófilos y la Figura 3C muestra la acumulación de linfocitos.

30 La Figura 4 es un gráfico que muestra el efecto de los compuestos de ensayo 28 y 89, administrados por vía oral una vez al día durante 4 días antes de la exposición, sobre los cambios inducidos por alérgenos en la resistencia pulmonar en cobayas sensibilizadas.

35 La Figura 5 es un gráfico que muestra el efecto de los compuestos de ensayo 28 y 89, administrados por vía oral una vez al día durante 4 días antes de la exposición, sobre los cambios inducidos por alérgenos en la elasticidad pulmonar en cobayas sensibilizadas.

40 La Figura 6 es un gráfico que muestra la duración de la actividad anti-broncoespástica del compuesto de ensayo 89, administrado por vía oral a 1 mg/kg una vez al día durante 4 días antes de la exposición, sobre los cambios inducidos por alérgenos en la resistencia pulmonar en cobayas sensibilizadas.

45 La Figura 7 es un gráfico que muestra la duración de la actividad anti-broncoespástica del compuesto de ensayo 89, administrado por vía oral a 1 mg/kg una vez al día durante 4 días antes de la exposición, sobre los cambios inducidos por alérgenos en la elasticidad pulmonar en cobayas sensibilizadas.

45 Descripción detallada de la invención

La presente invención proporciona compuestos y composiciones útiles en el tratamiento y/o prevención de diversas patologías. La presente memoria descriptiva describe un método para tratar y/o prevenir una enfermedad inflamatoria.

50 El método incluye administrar a un sujeto que lo necesita una cantidad eficaz de un compuesto de fórmula (1) o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato, estereoisómero o profármaco del mismo, o una cantidad eficaz de una composición que contiene un compuesto de fórmula (1) o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato, estereoisómero o profármaco del mismo.

55 Antes de describir la invención con más detalle, con las siguientes definiciones se proporcionan ciertas definiciones que se usan en este documento, y también se indican ciertas convenciones usadas en este documento.

A. Definición de términos

60 Como se usan en este documento, los siguientes términos tienen el significado indicado, a menos que se indique claramente otra cosa.

65 El término "alquilo" es un grupo hidrocarburo alifático (es decir, no aromático), lineal o ramificado, saturado, monovalente. En diversas realizaciones, el grupo alquilo tiene 1-20 átomos de carbono, es decir, es un grupo C1-C20 (o C₁-C₂₀), o es un grupo C1-C18, un grupo C1-C12, un grupo C1-C6 o un grupo C1-C4. Independientemente, en diversas realizaciones, el grupo alquilo tiene cero ramificaciones (es decir, es una cadena lineal), una ramificación, dos ramificaciones o más de dos ramificaciones; está saturado; está insaturado (donde un grupo alquilo insaturado puede tener un doble enlace, dos dobles enlaces, más de dos dobles enlaces y/o un triple enlace, dos triples enlaces o más de

ES 2 282 247 T3

dos triples enlaces); es, o incluye, una estructura cíclica; es acíclico. Los grupos alquilo ejemplares incluyen alquilo C₁ (es decir, -CH₃ (metilo)), alquilo C₂ (es decir, -CH₂CH₃ (etilo), -CH=CH₂ (etenilo) y -C≡CH (etinilo)) y alquilo C₃ (es decir, -CH₂CH₂CH₃ (*n*-propilo), -CH(CH₃)₂ (*i*-propilo), -CH=CH-CH₃ (1-propenilo), -OC≡CH₃ (1-propinilo), -CH₂CH=CH₂ (2-propenilo), -CH₂C≡CH (2-propinilo), -C(CH₃)=CH₂ (1-metiletenilo) y -CH(CH₂)₂ (ciclopropilo)).

5 El término “arilo” es un sistema de anillos hidrocarburo, monovalentes, aromáticos. El sistema de anillos puede ser monocíclico o policíclico condensado (por ejemplo, bicíclico, trícíclico, etc.). En diversas realizaciones, el anillo arilo monocíclico es C5-C10, C5-C7 o C5-C6, donde estos números de carbonos se refieren al número de átomos de carbono que forman el sistema de anillos. Un sistema de anillos C6, es decir, un anillo fenilo, es un grupo arilo preferido. En diversas realizaciones, el anillo policíclico es un anillo arilo bicíclico, donde los grupos arilo bicíclicos preferidos son C8-C12 o C9-C10. Un anillo naftilo, que tiene 10 átomos de carbono, es un grupo arilo policíclico preferido.

10 15 El término “heteroalquilo” es un grupo alquilo (como se ha definido en este documento) en el que al menos uno de los átomos de carbono está reemplazado por un heteroátomo. Son heteroátomos preferidos nitrógeno, oxígeno, azufre y halógeno. Un heteroátomo puede tener, aunque típicamente no lo tiene, el mismo número de sitios de valencia que el carbono. Por consiguiente, cuando un carbono se reemplaza por un heteroátomo, puede ser necesario aumentar o disminuir el número de hidrógenos unidos al heteroátomo para hacer que coincida con el número de sitios de valencia del heteroátomo. Por ejemplo, si el carbono (valencia de cuatro) se reemplaza por nitrógeno (valencia de tres), entonces 20 debe eliminarse uno de los hidrógenos unido anteriormente al carbono reemplazado. Análogamente, si el carbono se reemplaza por halógeno (valencia de uno), entonces deben eliminarse tres (es decir, todos) de los hidrógenos unidos anteriormente al carbono reemplazado.

25 30 El término “heteroarilo” es un sistema de anillos aromáticos monovalentes que contiene carbono y al menos un heteroátomo en el anillo. El grupo heteroarilo puede tener, en diversas realizaciones, un heteroátomo, 1-2 heteroátomos, 1-3 heteroátomos o 1-4 heteroátomos en el anillo. Los anillos heteroarilo pueden ser monocíclicos o policíclicos, donde el anillo policíclico puede contener uniones de anillos condensados, espiro o enlazados. En una realización, el grupo heteroarilo se selecciona entre monocíclico y bicíclico. Los anillos heteroarilo monocíclicos pueden contener de aproximadamente 5 a aproximadamente 10 átomos miembros (carbono y heteroátomos), preferiblemente 5-7 y más preferiblemente 5-6 átomos miembros en el anillo. Los anillos heteroarilo bicíclicos pueden contener aproximadamente 8-12 átomos miembros o 9-10 átomos miembros en el anillo. El anillo heteroarilo puede estar sin sustituir o sustituido. En una realización, el anillo heteroarilo está sin sustituir. En otra realización, el anillo heteroarilo está sustituido. Los grupos heteroarilo ejemplares incluyen benzofurano, benzotifeno, furano, imidazol, indol, isotiazol, oxazol, piperazina, pirazina, pirazol, piridazina, piridina, pirimidina, pirrol, quinolina, tiazol y tifeno.

35 El término “heteroátomo” es un átomo de halógeno, nitrógeno, oxígeno, fósforo, silicio o azufre. Los grupos que contienen más de un heteroátomo pueden contener diferentes heteroátomos.

40 El término “hidrocarburos” se refiere a grupos químicos formados exclusivamente por hidrógeno y carbono; el término “halocarburos” se refiere a grupos químicos formados exclusivamente por halógeno y carbono; y el término “hidrohalocarburos” se refiere a grupos químicos formados exclusivamente por hidrógeno, halógeno y carbono.

45 Las expresiones “grupos orgánicos” y “restos orgánicos” se usan como sinónimos, y se refieren a estructuras estables que tienen el número y tipo indicado de átomos.

50 Las expresiones “sales farmacéuticamente aceptables” y “sales de los mismos” en los compuestos de la presente invención se refieren a sales de adición de ácidos y a sales de adición de bases.

55 Las sales de adición de ácidos se refieren a las sales formadas a partir de compuestos de la presente invención y ácidos inorgánicos tales como ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido nítrico, ácido fosfórico y similares, y/o ácidos orgánicos tales como ácido acético, ácido propiónico, ácido glicólico, ácido pirúvico, ácido oxálico, ácido maleico, ácido malónico, ácido succínico, ácido fumárico, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido benzoico, ácido cinnámico, ácido mandélico, ácido metanosulfónico, ácido etanosulfónico, ácido p-toluenosulfónico, ácido salicílico y similares.

60 65 Las sales de adición de bases se refieren a las sales formadas a partir de compuestos de la presente invención y bases inorgánicas tales como sales de sodio, potasio, litio, amonio, calcio, magnesio, hierro, cinc, cobre, manganeso, aluminio y similares. Las sales adecuadas incluyen las sales de amonio, potasio, sodio, calcio y magnesio obtenidas a partir de bases no tóxicas, orgánicas, farmacéuticamente aceptables, incluyendo sales de aminas primarias, secundarias y terciarias, aminas sustituidas incluyendo aminas sustituidas que se encuentran en la naturaleza, aminas cíclicas y resinas de intercambio iónico básicas, tales como isopropilamina, trimetilamina, dietilamina, trietilamina, tripropilamina, etanolamina, 2-dimetilaminoetanol, 2-dietil-aminoetanol, trimetamina, diciclohexilamina, lisina, arginina, histidina, cafeína, procaína, hidrabamina, colina, betafina, etilendiamina, glucosamina, metilglucamina, teobromo, purinas, piperazina, piperidina, N-etylpiridina y similares.

65 Cuando cualquier variable aparece más de una vez en cualquier constituyente o en los compuestos de fórmula (1), su definición en cada caso es independiente de su definición en cualquier otro caso. Las combinaciones de sustituyentes y/o variables se permiten únicamente si tales combinaciones dan como resultado compuestos estables. Los compuestos

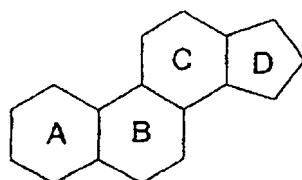
útiles en los métodos y composiciones de la presente invención, así como los compuestos de la presente invención, pueden tener centros asimétricos y pueden aparecer en forma de racematos, mezclas racémicas y como diastereómeros individuales o enantiómeros, incluyéndose todas las formas isoméricas en la presente invención. Un racemato o mezcla racémica no implica una mezcla 50:50 de estereoisómeros.

5 En otra realización, la presente invención proporciona composiciones farmacéuticas que contienen un compuesto de fórmula (1) como se ha indicado anteriormente, junto con un vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable. Estas composiciones pueden usarse para el tratamiento de inflamación u otras afecciones que se describen en este documento. Estas composiciones también pueden formarse en un medicamento, que puede usarse en el 10 tratamiento, por ejemplo, de la inflamación.

15 Estas composiciones son útiles, por ejemplo, como patrones de ensayo, medios convenientes para preparar producciones a granel o composiciones farmacéuticas. Una cantidad ensayable de un compuesto de la invención es una cantidad que puede medirse fácilmente mediante procedimientos y técnicas de ensayo convencionales que se conocen bien y se aprecian por los especialistas en la técnica. En general, las cantidades ensayables de un compuesto de la invención variarán de aproximadamente 0,001% en peso a aproximadamente 100% en peso del peso total de la composición. Los vehículos inertes incluyen cualquier material que no degrade o reaccione covalentemente de otra forma con un compuesto de fórmula (1). Son ejemplos de vehículos inertes adecuados agua; tampones acuosos, tales como los que son útiles generalmente en el análisis por Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC); disolventes 20 orgánicos, tales como acetonitrilo, acetato de etilo, hexano y similares; y vehículos farmacéuticamente aceptables.

25 Los "vehículos farmacéuticamente aceptables" para uso terapéutico se conocen bien en la técnica farmacéutica, y se describen, por ejemplo, en *Remingtons Pharmaceutical Sciences*, Mack Publishing Co. (A.R. Gennaro edit. 1985). Por ejemplo, puede usarse solución salina estéril y solución salina tamponada con fosfato a pH fisiológico. En la composición farmacéutica pueden proporcionarse conservantes, estabilizantes, tintes e incluso agentes aromatizantes. Por ejemplo, pueden añadirse como conservantes benzoato sódico, ácido sóblico y ésteres del ácido p-hidroxibenzoico. *Id.* a 1449. Además, pueden usarse agentes antioxidantes y de suspensión. *Id.*

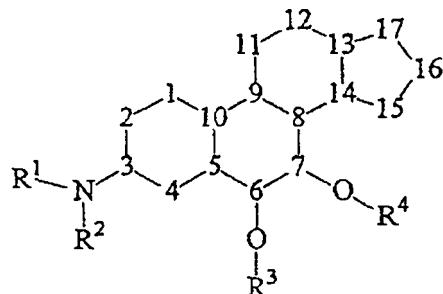
30 Los compuestos esteroideos de la invención tienen al menos cuatro anillos, denominados comúnmente A, B, C y D como se muestra a continuación, donde el anillo A puede estar condensado con un anillo adicional:



40

B. Compuestos

45 La presente invención proporciona compuestos de acuerdo con la fórmula (1) y sales farmacéuticamente aceptables, solvatos y esteroisómeros de los mismos, en forma aislada o en mezclas,



(1)

60

donde, independientemente en cada caso:

65 R¹ y R² se seleccionan entre hidrógeno u oxígeno para formar de esta manera nitro u oxima, amino, -SO₃-R y grupos orgánicos que tienen 1-30 carbonos y que contienen opcionalmente 1-6 heteroátomos seleccionados entre nitrógeno, oxígeno, fósforo, silicio y azufre, donde R² puede ser un enlace directo al número 3, o R¹ y R² pueden formar, junto con el N al que están unidos, una estructura heterocíclica que puede ser parte de un grupo orgánico que

ES 2 282 247 T3

tiene 1-30 carbonos y que contiene opcionalmente 1-6 heteroátomos seleccionados entre nitrógeno, oxígeno y silicio y donde R^1 puede ser una cadena de 2 ó 3 átomos unida al número 2 para que $-N-R^1-$ forme parte de una estructura bicíclica condensada con el anillo A;

5 R^3 y R^4 se seleccionan entre enlaces directos a 6 y 7 respectivamente de manera que formen grupos carbonilo, hidrógeno, o un grupo protector de tal forma que R^3 y/o R^4 sea parte del grupo protector de hidroxilo o carbonilo;

cada uno de los números 1 a 17 representa un carbono, donde los carbonos de los números 1, 2, 4, 11, 12, 15, 16 y 17 pueden estar sustituidos independientemente con

10 (a) uno de: $=O$, $=C(R^5)(R^5)$, $=OC(R^5)(R^5)$, $-C(R^5)(R^5)(C(R^5)(R^5))_n-$ y $-(O(C(R^5)(R^5))_nO)-$ donde n varía de 1 a 6; o

15 (b) dos de los siguientes, que se seleccionan independientemente: $-X$, $-N(R^1)(R^2)$, $-R^5$ y $-OR^6$;

y donde los carbonos de los números 5, 8, 9, 10, 13 y 14 pueden estar sustituidos independientemente con uno de $-X$, $-R^5$, $-N(R^1)(R^2)$ o $-OR^6$;

20 además de los grupos $-OR^3$ y $-OR^4$ que se muestran, cada uno de los carbonos 6 y 7 puede estar sustituido independientemente con uno de $-X$, $-N(R^1)(R^2)$, $-R^5$ o $-OR^6$;

cada uno de los anillos A, B, C y D está independientemente totalmente saturado, parcialmente saturado o totalmente insaturado;

25 R^5 en cada caso se selecciona independientemente entre H, X y un resto orgánico C_{1-30} que puede contener opcionalmente al menos un heteroátomo seleccionado entre el grupo que consiste en boro, halógeno, nitrógeno, oxígeno, silicio y azufre;

30 donde dos grupos geminales R^5 pueden formar juntos un anillo con el átomo de carbono al que están unidos;

R^6 es H o un grupo protector de tal forma que $-OR^6$ sea un grupo hidroxilo protegido, donde los grupos $-OR^6$ próximos entre sí pueden formar juntos una estructura cíclica que protege a los grupos hidroxilo próximos entre sí, y donde los grupos geminales $-OR^6$ pueden formar juntos una estructura cíclica que protege a un grupo carbonilo; y

35 X representa fluoruro, cloruro, bromuro y yoduro. R^3 y R^4 se seleccionan entre enlaces directos a 6 y 7 respectivamente de manera que formen grupos carbonilo, hidrógeno, o un grupo protector de tal forma que R^3 y/o R^4 sea parte del grupo protector de hidroxilo o carbonilo.

40 En un aspecto de la invención, R^1 y R^2 se seleccionan entre hidrógeno y grupos orgánicos que tienen 1-30 carbonos y que contienen opcionalmente 1-6 heteroátomos seleccionados entre nitrógeno, oxígeno, fósforo, silicio y azufre. Opcionalmente, R^2 es un enlace directo al número 3. En otro aspecto, R^1 , R^2 y el N al que están unidos, forman una estructura heterocíclica que puede ser parte de un grupo orgánico que tiene 1-30 carbonos y que contiene opcionalmente 1-6 heteroátomos seleccionados entre nitrógeno, oxígeno y silicio. En otro aspecto, R^1 es una cadena de 2 ó 3 átomos unida al número 2 de manera que $-N-R^1-$ forme parte de una estructura bicíclica condensada con el anillo A, y los 2 ó 45 3 átomos se seleccionan entre C, N y O, siempre que se dé como resultado una estructura estable. Opcionalmente, en estos y otros aspectos de la presente invención, el grupo orgánico tiene 1-20 carbonos, mientras que en otra realización opcional, el grupo orgánico tiene 1-10 carbonos.

50 En un aspecto preferido de la invención, cada uno de R^1 y R^2 es hidrógeno. Estos esteroides no sólo tienen una actividad biológica deseable, sino que también sirven como compuestos precursores convenientes para preparar otros esteroides de la invención en los que R^1 y/o R^2 no es hidrógeno.

55 Por ejemplo, en una realización, la invención proporciona un compuesto de fórmula (1) en la que: R^1 y R^2 son hidrógeno; R^3 y R^4 se seleccionan entre enlaces directos a 6 y 7 respectivamente de manera que formen grupos carbonilo, hidrógeno, o un grupo protector de tal forma que R^3 y/o R^4 sea parte del grupo protector de hidroxilo o carbonilo; y además de los grupos $-OR^3$ y $-OR^4$ que se muestran, cada uno de los carbonos 6 y 7 está sustituido con hidrógeno a menos que se excluya porque $-OR^3$ o $-OR^4$ represente un grupo carbonilo; cada uno de los carbonos de los números 1, 2, 4, 11, 12, 15 y 16 está sustituido con dos hidrógenos; cada uno de los carbonos de los números 5, 8, 9 y 14 está sustituido con un hidrógeno; el carbono del número 10 está sustituido con metilo; el carbono del número 13 está sustituido con metilo a menos que sea parte de un enlace insaturado; el carbono del número 17 está sustituido con (a) uno de: $=O$, $=C(R^5)(R^5)$, $=C=C(R^5)(R^5)$, $-C(R^5)(R^5)(C(R^5)(R^5))_n-$ y $-(O(C(R^5)(R^5))_nO)-$ donde n varía de 1 a 6; o (b) dos de los siguientes, que se seleccionan independientemente: $-X$, $-N(R^1)(R^2)$, $-R^5$ y $-OR^6$; cada uno de los anillos A, B, C y D está independientemente totalmente saturado, parcialmente saturado o totalmente insaturado; R^5 en cada caso se selecciona independientemente entre H, X y un resto orgánico C_{1-30} que puede contener opcionalmente 65 al menos un heteroátomo seleccionado entre el grupo que consiste en boro, halógeno, nitrógeno, oxígeno, silicio y azufre; donde dos grupos geminales R^5 pueden formar juntos un anillo con el átomo de carbono al que están unidos; R^6 es H o un grupo protector de tal forma que $-OR^6$ sea un grupo hidroxilo protegido, donde los grupos $-OR^6$ próximos entre sí pueden formar juntos una estructura cíclica que protege a los grupos hidroxilo próximos entre sí, y donde los

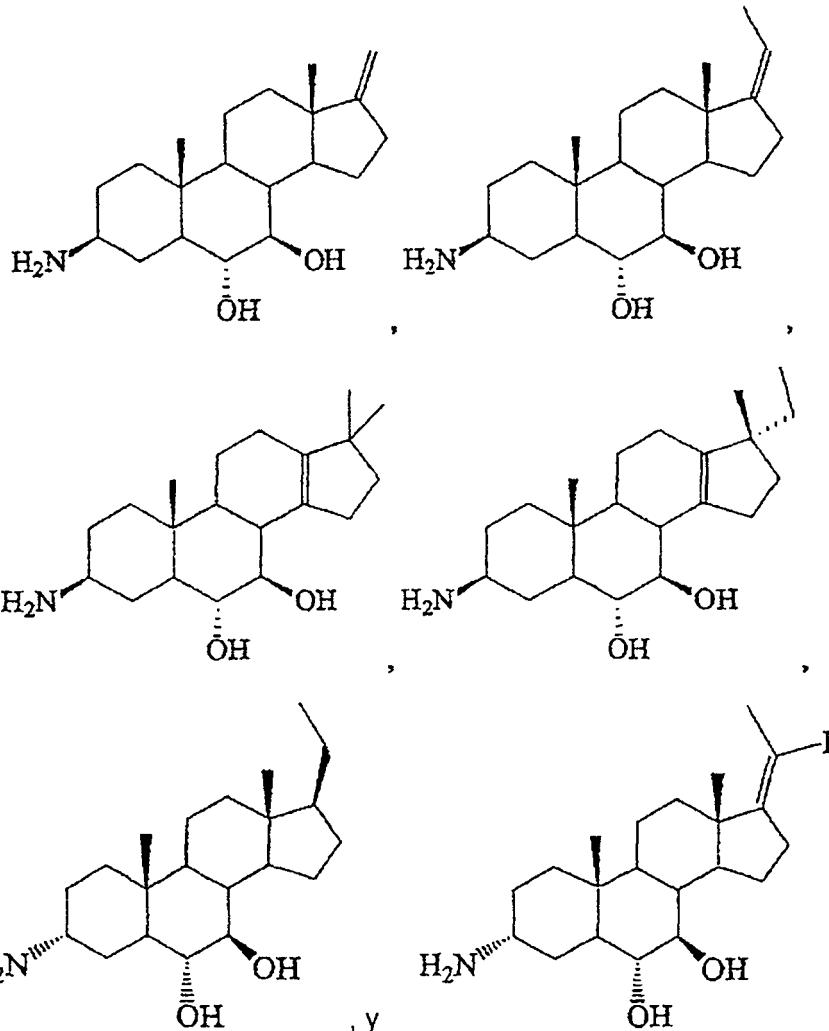
grupos geminales $-\text{OR}^6$ pueden formar juntos una estructura cíclica que protege a un grupo carbonilo; y X representa fluoruro, cloruro, bromuro y yoduro.

En otra realización, la invención proporciona un compuesto de fórmula (1) en la que: R^1 y R^2 son hidrógeno; R^3 y R^4 se seleccionan entre hidrógeno y grupos protectores tales que R^3 y/o R^4 sea parte de un grupo protector de hidroxilo; cada uno de los carbonos de los números 1, 2, 4, 11, 12, 15 y 16 está sustituido con dos hidrógenos; cada uno de los carbonos de los números 5, 8, 9 y 14 está sustituido con un hidrógeno; el carbono del número 10 está sustituido con metilo; el carbono del número 13 está sustituido con metilo a menos que sea parte de un enlace insaturado; el carbono del número 17 está sustituido con (a) uno de: $=\text{C}(\text{R}^5)(\text{R}^6)$ y $-\text{C}-\text{C}(\text{R}^5)(\text{R}^6)$; o (b) dos de los siguientes, que se seleccionan independientemente: $-\text{X}$, $-\text{N}(\text{R}^1)(\text{R}^2)$, y $-\text{R}^5$; cada uno de los anillos A, B, C y D está independientemente totalmente saturado o parcialmente saturado; R^5 en cada caso se selecciona independientemente entre H, X e hidrocarburos, halocarburos y halohidrocarburos C_{1-30} ; y X representa fluoruro, cloruro, bromuro y yoduro.

En otra realización, la invención proporciona un compuesto de fórmula (1) en la que: R^1 y R^2 son hidrógeno; R^3 y R^4 se seleccionan entre hidrógeno y grupos protectores tales que R^3 y/o R^4 sea parte del grupo protector de hidroxilo; cada uno de los carbonos de los números 1, 2, 4, 11, 12, 15 y 16 está sustituido con dos hidrógenos; cada uno de los carbonos de los números 5, 8, 9 y 14 está sustituido con un hidrógeno; el carbono del número 10 está sustituido con metilo; el carbono del número 13 está sustituido con metilo a menos que sea parte de un enlace insaturado; el carbono del número 17 está sustituido con (a) uno de: $=\text{C}(\text{R}^5)(\text{R}^6)$ y $=\text{C}=\text{C}(\text{R}^5)(\text{R}^6)$; o (b) dos de los siguientes, que se seleccionan independientemente: $-\text{X}$, $-\text{N}(\text{R}^1)(\text{R}^2)$, y $-\text{R}^5$; cada uno de los anillos A, B, C y D está independientemente totalmente saturado o parcialmente saturado; y R^5 en cada caso se selecciona independientemente entre H e hidrocarburos C_{1-10} .

Los compuestos específicos de la presente invención en los que R^1 y R^2 son hidrógeno incluyen:

25

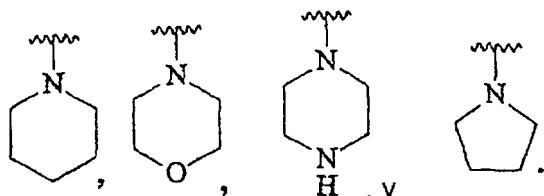


65 En otro aspecto, la invención proporciona esteroides que tienen una sustitución 3-nitrógeno, donde el 3-nitrógeno está sustituido con un grupo orgánico. Por ejemplo, la invención proporciona compuestos esteroideos en los que R^1 se selecciona entre $-\text{C}(=\text{O})-\text{R}^7$, $-\text{C}(=\text{O})\text{NH}-\text{R}^7$; y $-\text{SO}_2-\text{R}^7$; donde R^7 se selecciona entre grupos alquilo, heteroalquilo, arilico y heteroarilo. En una realización relacionada, R^1 es hidrógeno y R^2 es $-\text{CH}_2-\text{R}^7$ donde R^7 se selecciona entre alquilo,

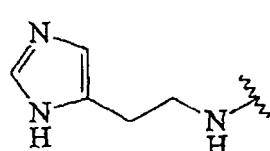
ES 2 282 247 T3

heteroalquilo, arilo y heteroarilo. En una realización, R⁷ se selecciona entre hidrocarbilo C₁₋₁₀. En otra realización, -C(=O)-R⁷ comprende biotina. En otra realización, R⁷ se selecciona entre fenilo alquil-sustituido; fenilo halógeno-sustituido; fenilo alcoxi-sustituido; fenilo ariloxi-sustituido; y fenilo nitro-sustituido.

5 En otro aspecto, (R¹)(R²)N- es un heterociclo, es decir, el N de (R¹)(R²)N- puede ser parte de un anillo heterocíclico. Los ejemplos incluyen:

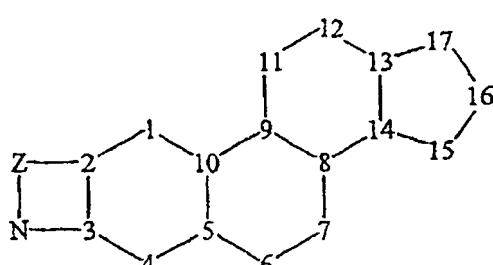


En otro aspecto, uno o los dos de R¹ y R² comprenden un anillo heterocíclico o un anillo carbocíclico. Un anillo heterocíclico preferido es

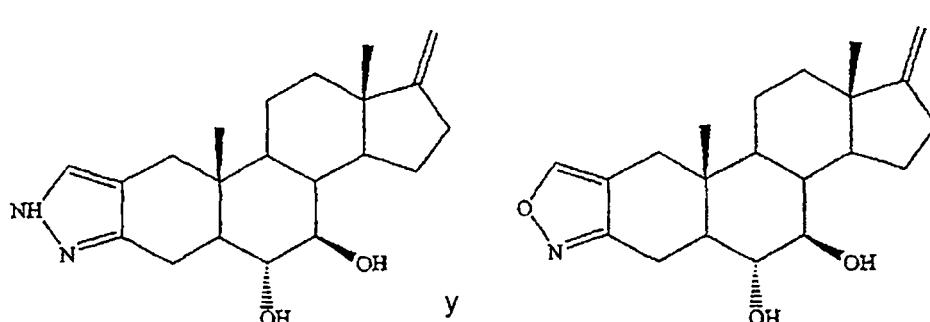


y un anillo carbocíclico preferido es fenilo, que incluye fenilo sustituido tal como 3-metilfenilo; 4-hidroxifenilo; y 4-sulfonamidafenilo.

30 En otro aspecto, R¹ puede ser una cadena de 2 ó 3 átomos unida al número 2 de manera que -N-R¹- forme parte de una estructura bicíclica condensada con el anillo A. De esta manera, la presente invención proporciona compuestos de la fórmula que se muestra a continuación, en la que Z representa 2 ó 3 átomos, seleccionados entre C, N y O. El anillo que incluye Z puede estar saturado o insaturado.



Los ejemplos de tales compuestos de anillos condensados incluyen:



En otro aspecto, R¹ es hidrógeno y R² comprende un hidrocarbilo C₁₋₁₀.

65 En otro aspecto, R¹ es hidrógeno y R² es heteroalquilo. Los grupos heteroalquilo adecuados incluyen, sin limitación, alquil C₁₋₁₀-W-alquileno C₁₋₁₀- donde W se selecciona entre O y NH; HO-alquileno C₁₋₁₀-; y HO-alquileno C₁₋₁₀-W-alquileno C₁₋₁₀- donde W se selecciona entre O y NH.

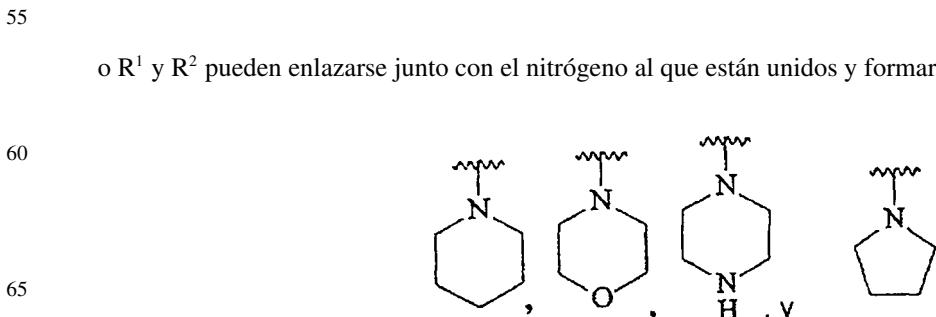
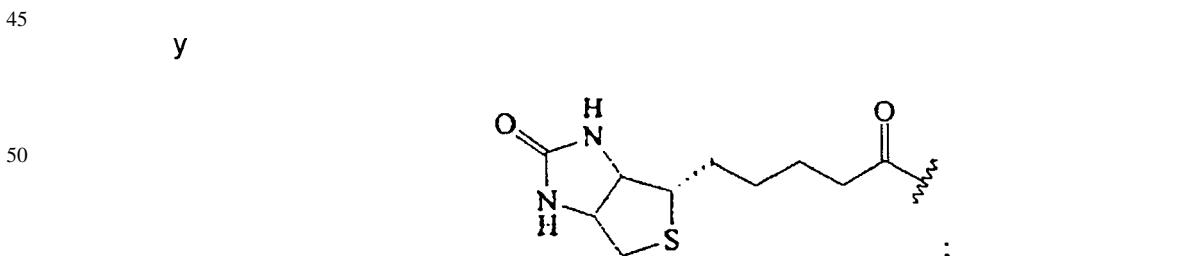
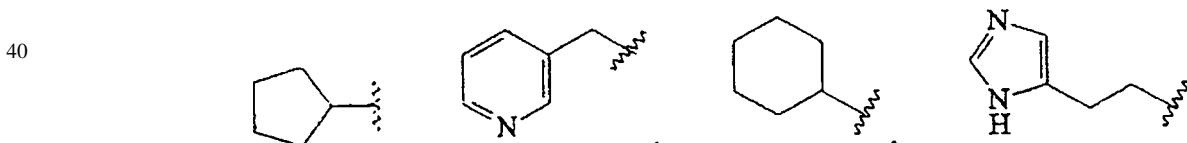
ES 2 282 247 T3

En otro aspecto, cada uno de R¹ y R² se selecciona independientemente entre hidrógeno y grupos orgánicos que tienen 1-20 carbonos y que contienen opcionalmente 1-5 heteroátomos seleccionados entre nitrógeno, oxígeno, silicio y azufre.

5 En otro aspecto, cada uno de R¹ y R² se selecciona independientemente entre hidrógeno, R⁸, R⁹, R¹⁰, R¹¹ y R¹² donde R⁸ se selecciona entre alquilo C₁₋₁₀, heteroalquilo C₁₋₁₀ que comprende 1, 2 ó 3 heteroátomos, arilo C₆₋₁₀ y heteroarilo C₃₋₁₅ que comprende 1, 2 ó 3 heteroátomos; R⁹ se selecciona entre (R⁸)-alquileno C₁₋₁₀, (R⁸)-heteroalquileno C₁₋₁₀ que comprende 1, 2 ó 3 heteroátomos, (R⁸)-arileno C₆₋₁₀ y (R⁸)-heteroarileno C₃₋₁₅ que comprende 1, 2 ó 3 heteroátomos; R¹⁰ se selecciona entre (R⁹)-alquileno C₁₋₁₀, (R⁹)-heteroalquileno C₁₋₁₀ que comprende 1, 2 ó 3 heteroátomos, (R⁹)-arileno C₆₋₁₀ y (R⁹)-heteroarileno C₃₋₁₅ que comprende 1, 2 ó 3 heteroátomos; R¹¹ se selecciona entre (R¹⁰)-alquileno C₁₋₁₀, (R¹⁰)-heteroalquileno C₁₋₁₀ que comprende 1, 2 ó 3 heteroátomos, (R¹⁰)-arileno C₆₋₁₀ y (R¹⁰)-heteroarileno C₃₋₁₅ que comprende 1, 2 ó 3 heteroátomos, R¹² se selecciona entre (R¹¹)-alquileno C₁₋₁₀, (R¹¹)-heteroalquileno C₁₋₁₀ que comprende 1, 2 ó 3 heteroátomos, (R¹¹)-arileno C₆₋₁₀ y (R¹¹)-heteroarileno C₃₋₁₅ que comprende 1, 2 ó 3 heteroátomos, y r se selecciona entre 0, 1, 2, 3, 4 y 5, con la condición de que R¹ y R² puedan unirse a un átomo común de manera que formen un anillo con el átomo común.

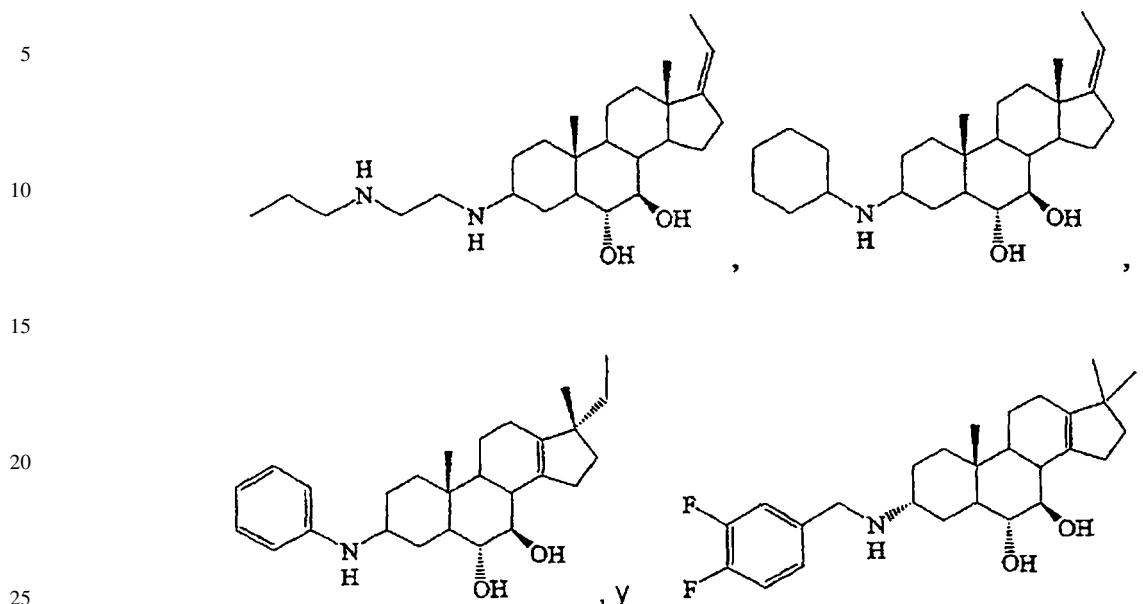
En otro aspecto, la presente invención proporciona compuestos esteroideos de la estructura mostrada anteriormente, en la que: R¹ y R² se seleccionan independientemente entre hidrógeno, R⁸, R⁹, R¹⁰, R¹¹ y R¹² donde R⁸ se selecciona entre alquilo, heteroalquilo, arilo y heteroarilo; R⁹ se selecciona entre (R⁸)-alquileno, (R⁸)-heteroalquileno, (R⁸)-arileno y (R⁸)-heteroarileno; R¹⁰ se selecciona entre (R⁹)-alquileno, (R⁹)-heteroalquileno, (R⁹)-arileno y (R⁹)-heteroarileno; R¹¹ se selecciona entre (R¹⁰)-alquileno, (R¹⁰)-heteroalquileno, (R¹⁰)-arileno y (R¹⁰)-heteroarileno, R¹² se selecciona entre (R¹¹)-alquileno, (R¹¹)-heteroalquileno, (R¹¹)-arileno y (R¹¹)-heteroarileno, y r se selecciona entre 0, 1, 2, 3, 4 y 5, con la condición de que R¹ y R² puedan unirse a un átomo común de manera que formen un anillo con el átomo común; R³ y R⁴ se seleccionan entre hidrógeno y grupos protectores tales que R³ y/o R⁴ sea parte del grupo protector de hidroxilo; cada uno de los carbonos de los números 1, 2, 4, 11, 12, 15 y 16 está sustituido con dos hidrógenos; cada uno de los carbonos de los números 5, 8, 9 y 14 está sustituido con un hidrógeno; el carbono del número 10 está sustituido con metilo; el carbono del número 13 está sustituido con metilo a menos que sea parte de un enlace insaturado; el carbono del número 17 está sustituido con (a) uno de: =C(R⁵)(R⁵) y =C=C(R⁵)(R⁵); o (b) dos de -R⁵; cada uno de los anillos A, B, C y D está independientemente totalmente saturado o parcialmente saturado; y R⁵ en cada caso se selecciona independientemente entre H e hidrocarburos C₁₋₁₀.

Por ejemplo, R¹ y R² se seleccionan entre hidrógeno, CH₃-, CH₃(CH₂)₂-, CH₃(CH₂)₄-, CH₃CO, C₆H₅CO-(CH₃)₂CHSO₂-, C₆H₅SO₂-, C₆H₅NHCO-, CH₃(CH₂)₂NHCO, CH₃(CH₂)₂NH(CH₂)₂-, (CH₃)₂N(CH₂)₂-, HOCH₂CH₂-, HOCH₂(CH₂)₄-, HOCH₂CH₂NHCH₂CH₂-, 3-(CH₃)C₆H₄-, 4-(HO)C₆H₄-, 4-(H₂NSO₂)C₆H₄-, 4-((CH₃)₂CH)C₆H₄-CH₂-, 2-(F)C₆H₄-CH₂-, 3-(CF₃)C₆H₄-CH₂-, 2-(CH₃O)C₆H₄-CH₂-, 4-(CF₃O)C₆H₄-CH₂-, 3-(C₆H₅O)C₆H₄-CH₂-, 3-(NO₂)C₆H₄-CH₂-,



ES 2 282 247 T3

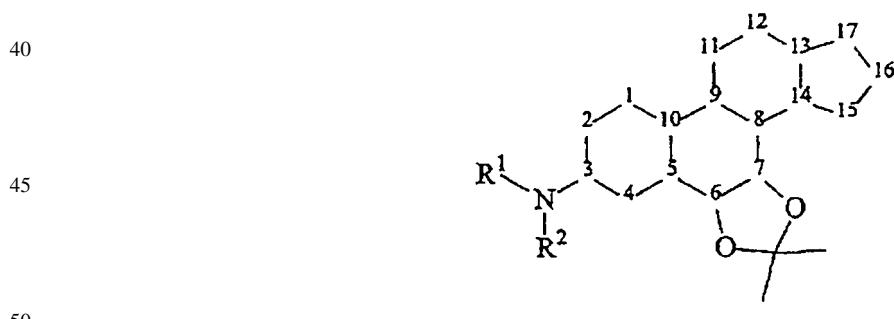
Los compuestos específicos de la presente invención en los que R¹ es hidrógeno pero R² no es hidrógeno incluyen:



Por lo tanto, un conjunto de compuestos preferidos de la invención tienen R¹ igual a hidrógeno pero R² distinto de hidrógeno.

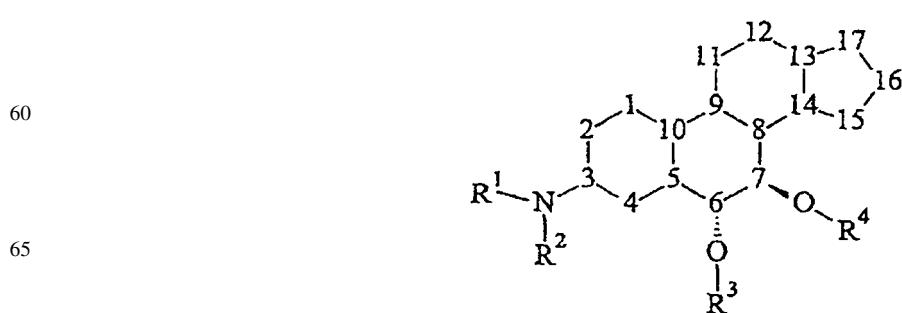
30 En los compuestos esteroideos de la invención que se han descrito anteriormente, en un aspecto, cada uno de R³ y R⁴ es hidrógeno, es decir, el esteroide tiene una sustitución hidroxi en cada uno de los carbonos situados en los números 6 y 7, en un aspecto relacionado, uno o los dos grupos hidroxi de los carbonos 6 y 7 están en una forma protegida, es decir, están unidos a un grupo protector de hidroxi. Tales grupos protectores se conocen bien en la técnica, y se describen, por ejemplo, en Greene y Wuts, "Protective Groups in Organic Synthesis", John Wiley & Sons, New York, N.Y. (1999). Un grupo protector adecuado es un cetal, por lo que la presente invención proporciona compuestos de la estructura:

35



Como se ha indicado anteriormente, la presente invención proporciona compuestos esteroideos que incluyen compuestos de estereoquímica definida. Uno de tales compuestos tiene la estereoquímica mostrada en la siguiente estructura para R³O- y R⁴O-:

55



Como también se ha indicado anteriormente, la presente invención proporciona formas de sal de los esteroideos de la presente invención, preferiblemente sales farmacéuticamente aceptables. En una realización, $-N(R^1)(R^2)$ es una forma de sal. En otras palabras, $-N(R^1)(R^2)$ está protonado para que el N tenga una carga positiva. En tal caso, el compuesto esteroideo de la presente invención es una sal de adición de ácidos como se ha definido en este documento, en un aspecto preferido, la presente invención proporciona sales hidrocloruro de las estructuras esteroideas mostradas anteriormente, en otra realización preferida, la presente invención proporciona sales acetato de las estructuras esteroideas mostradas en este documento.

En los compuestos esteroideos de la invención como se ha indicado anteriormente, en una realización preferida, 17 está sustituido con $=C(R^5)(R^5)$ y R^5 se selecciona entre hidrógeno, halógeno, alquilo C_{1-6} , hidroxialquilo C_{1-6} y $-CO_2-$ alquilo C_{1-6} . En otra realización preferida, 17 está sustituido con alquilo C_{1-6} o haloalquilo C_{1-6} ; o 17 está sustituido con $-OR^6$ o $=O$, donde R^6 es hidrógeno.

En los compuestos esteroideos de la invención como se ha indicado en este documento, en una realización preferida, al menos uno de 10 y 13 está sustituido con metilo.

En los compuestos esteroideos de la invención como se ha indicado en este documento, en una realización preferida, cada uno de los números 1 a 16 representa un carbono, donde los carbonos de los números 1, 2, 4, 11, 12, 15 y 16 pueden estar sustituidos independientemente con: (a) uno de: $=O$, $=C(R^5)(R^5)$, $=C=C(R^5)(R^5)$, $-C(R^5)(R^5)(C(R^5)(R^5))_n$ - y $-(O(C(R^5)(R^5))_nO)$ - donde n varía de 1 a 6; o (b) dos de los siguientes, que se seleccionan independientemente: $-X$, $-N(R^1)(R^2)$, $-R^5$ y $-OR^6$; y el número 17 representa un carbono sustituido con: (a) uno de: $=C(R^{5a})(R^{5a})$, $=OC(R^{5a})(R^{5a})$ y $-C(R^{5a})(R^{5a})(C(R^{5a})(R^{5a}))_n$ - donde n varía de 1 a 6; o (b) dos de los siguientes, que se seleccionan independientemente: $-X$, $-N(R^1)(R^2)$ y $-R^{5a}$; donde R^{5a} en cada caso se selecciona independientemente entre H, X y un resto C_{1-30} que puede contener opcionalmente al menos un heteroátomo seleccionado entre el grupo que consiste en boro, halógeno, nitrógeno, silicio y azufre; donde dos grupos geminales R^5 pueden formar juntos un anillo con el átomo de carbono al que están unidos. Opcionalmente, R^{5a} en cada caso se selecciona independientemente entre hidrocarburo C_{1-30} , halocarburo C_{1-30} , hidrohalocarburo C_{1-30} , H y X. En una realización alternativa opcional, R^{5a} en cada caso se selecciona independientemente entre hidrocarbono C_{1-10} , halocarburo C_{1-10} , hidrohalocarburo C_{1-10} , H y X. Opcionalmente, en cada una de estas realizaciones indicadas, la presente invención proporciona una realización adicional en la que R^1 y R^2 se seleccionan entre hidrógeno u oxígeno para formar de esta manera nitró u oxima, amino, $-SO_3-R$, y grupos orgánicos que tienen 1-30 carbonos y que contienen opcionalmente 1-6 heteroátomos seleccionados entre oxígeno, fósforo, silicio y azufre, donde R^2 puede ser un enlace directo al número 3, o R^1 y R^2 pueden formar, junto con el N al que están unidos, una estructura heterocíclica que puede ser parte de un grupo orgánico que tiene 1-30 carbonos y que contiene opcionalmente 1-6 heteroátomos seleccionados entre oxígeno y silicio; o R^1 puede ser una cadena de 2 ó 3 átomos unida al número 2 de manera que $-N-R^1-$ forme parte de una estructura bicíclica condensada con el anillo A. Opcionalmente, en cada una de estas realizaciones indicadas, la presente invención proporciona una realización adicional en la que cada uno de los carbonos de los números 1, 2, 4, 11, 12, 15 y 16 está sustituido con dos hidrógenos a menos que dicho carbono sea parte de un enlace insaturado; cada uno de los carbonos de los números 5, 8, 9 y 14 está sustituido con un hidrógeno a menos que dicho carbono sea parte de un enlace insaturado; el carbono del número 10 está sustituido con metilo; y el carbono del número 13 está sustituido con metilo a menos que sea parte de un enlace insaturado. Opcionalmente, en cada una de estas realizaciones indicadas, la presente invención proporciona una realización adicional en la que cada uno de los carbonos de los números 1, 2, 4, 11, 12, 15 y 16 está sustituido con dos hidrógenos; cada uno de los carbonos de los números 5, 8, 9 y 14 está sustituido con un hidrógeno; el carbono del número 10 está sustituido con metilo; y el carbono del número 13 está sustituido con metilo a menos que sea parte de un enlace insaturado.

En los compuestos esteroideos de la invención como se ha indicado en este documento, en una realización preferida, cada uno de R^1 y R^2 es hidrógeno; y/o cada uno de R^3 y R^4 es hidrógeno; y/o el carbono del número 17 está sustituido con (a) uno de los siguientes: $C(R^{6a})(R^{5a})$, $=C=C(R^{5a})(R^{5a})$ y $-C(R^{5a})(R^{5a})(C(R^{5a})(R^{5a}))_n$ - donde n varía de 1 a 6; o (b) dos de los siguientes, que se seleccionan independientemente: $-X$, $-N(R^1)(R^2)$, y $-R^{5a}$; donde R^{5a} en cada caso se selecciona independientemente entre H, X y un resto orgánico C_{1-30} que puede contener opcionalmente al menos un heteroátomo seleccionado entre el grupo que consiste en boro, halógeno, nitrógeno, silicio y azufre; donde dos grupos geminales R^5 pueden formar juntos un anillo con el átomo de carbono al que están unidos.

En los esteroides de la presente invención, a menos que se indique otra cosa, cada uno de los anillos A, B, C y D está independientemente totalmente saturado, parcialmente saturado o totalmente insaturado. Es decir, los hidrógenos unidos a cualquiera de los carbonos de las posiciones 1-17 puede omitirse para permitir la insaturación dentro del anillo A, B, C y/o D. Por ejemplo, cuando se indica que los carbonos de los números 5, 8, 9 y 14 están sustituidos con un hidrógeno, y también se indica que cada uno de los anillos A, B, C y D está independientemente totalmente saturado, parcialmente saturado o totalmente insaturado, entonces uno o más cualesquier de los hidrógenos unidos a los carbonos en los números 5, 8, 9 y 14 pueden omitirse para permitir la insaturación en el átomo de carbono.

Los compuestos de la presente invención se entienden como agentes farmacéuticos. Preferiblemente, el peso molecular de un compuesto de la invención es relativamente pequeño, es decir, menor de aproximadamente 5.000 g/mol, típicamente menor de 4.000 g/mol, más típicamente menor de 3.000 g/mol, aún más típicamente menor de 2.000 g/mol, aún más típicamente menor de 1.000 g/mol, donde el peso molecular mínimo de un compuesto de la invención es de aproximadamente 300 g/mol, y cada uno de estos intervalos típicos es una realización separada de la presente invención.

Los compuestos esteroideos de la presente invención incluyen sales farmacéuticamente aceptables, solvatos, estereoisómeros y profármacos de las estructuras esteroideas de las 3-nitrógeno-6,7-desoxigenadas descritas anteriormente, en forma aislada o en mezclas con cualquier otra.

5 Los compuestos esteroideos de la invención pueden existir, y lo hacen típicamente, como sólidos, incluyendo sólidos cristalinos que pueden cristalizarse en disolventes comunes tales como etanol, N,N-dimetilformamida, agua o similares. El proceso de cristalización puede proporcionar, dependiendo de las condiciones de cristalización, diversas estructuras polimórficas. Típicamente, un polimorfo más estable termodinámicamente es ventajoso para la fabricación a escala comercial de un compuesto esteroideo de la invención, y es una forma preferida del compuesto.

10 Habitualmente, las cristalizaciones producen un solvato del compuesto esteroideo que tiene la estructura mostrada anteriormente. Como se usa en este documento, el término "solvato" se refiere a un agregado que comprende uno o más compuestos esteroideos 3-nitrógeno-6,7-dioxigenados de la invención, con una o más moléculas de disolvente. El disolvente puede ser agua, en cuyo caso el solvato puede ser un hidrato. Como alternativa, el disolvente puede ser un disolvente orgánico. De esta manera, los compuestos de la presente invención pueden existir como un hidrato, incluyendo un monohidrato, dihidrato, hemihidrato, sesquihidrato, trihidrato, tetrahidrato y similares, así como las formas solvatadas correspondientes. Los compuestos esteroideos pueden ser solvatos verdaderos, mientras que en otros casos, el esteroide puede simplemente conservar el agua adventicia o ser una mezcla de agua más algún disolvente adventicio.

20 25 Como se usa en este documento, un "solvato farmacéuticamente aceptable" se refiere a un solvato que conserva la eficacia y las propiedades biológicas de los compuestos esteroideos 3-nitrógeno-6,7-dioxigenados biológicamente activos de la invención. Los ejemplos de solvatos farmacéuticamente aceptables incluyen, pero sin limitación, agua, isopropanol, etanol, metanol, DMSO, acetato de etilo, ácido acético y etanolamina. Debe apreciarse por los especialistas en la técnica que las formas solvatadas son equivalentes a las formas no solvatadas y pretenden incluirse dentro del alcance de la presente invención. Sykes, P. A., *Guidebook to Mechanism in Organic Chemistry*, 6^a Ed. (1986, John Wiley & Sons, N.Y.) es una referencia ejemplar que describe solvatos.

30 Los compuestos de la invención pueden existir como estereoisómeros unitarios, racematos y/o mezclas de enantiómeros y/o diastereómeros. Todos estos estereoisómeros unitarios, racematos y mezclas de los mismos pretenden estar dentro del alcance de la presente invención. En un aspecto preferido, los compuestos de la invención se usan en forma ópticamente pura.

35 40 45 Los esteroides de la presente invención que tienen una sustitución del nitrógeno C3 y una sustitución del oxígeno en las posiciones 6 y 7 tienen propiedades inesperadas que potencian la eficacia de estos compuestos. Por ejemplo, los esteroides de la presente invención tienen una estabilidad metabólica excelente en las fracciones S9 del hígado humano. Por ejemplo, 100% de los compuestos 28, 89, 139 y 143 permanecen inalterados después de 15 e incluso 30 minutos de incubación con fracciones S9 humanas. Fue un descubrimiento inesperado que las sustituciones del nitrógeno C3 disminuyeran significativamente la glucuronidación de las moléculas en plasma. Además, los esteroides de la presente invención que tienen sustituciones del nitrógeno C3 tales como los compuestos 28, 89 y 83 son muy solubles en solución acuosa, demostrando una solubilidad de >100 mg/ml en agua. Adicionalmente, la potencia y el perfil farmacocinético de los esteroides de la presente invención con sustituciones del nitrógeno C3 son muy adecuados para la aplicación terapéutica. Dosis de <1,0 mg/kg una vez al día demuestran de manera reproducible una actividad anti-inflamatoria significativa en modelos de inflamación *in vivo*. En la rata, los compuestos 28 y 89 tienen una semi-vida media de 7,5 horas y una biodisponibilidad oral de ~100%, mientras que en el mono, la semi-vida tiene una media de 15 horas y la biodisponibilidad oral es de 25-30%. La concentración máxima en plasma en las dos especies es predecible y lineal.

C. Preparación de Compuestos

50 Los compuestos de acuerdo con la presente invención pueden prepararse por métodos que emplean etapas conocidas por los especialistas en la técnica o análogas a esas etapas. Pueden encontrarse métodos generales para las reacciones sobre los esteroides en "Steroid Reactions", C. Djerassi, Ed. Holden Day, San Francisco, Calif., 1963 y referencias citadas en ese documento. Pueden encontrarse métodos sintéticos generales en "Comprehensive Organic Transformations", R.C. Larock, VCH Publishers, New York, N.Y., 1989 y referencias citadas en ese documento. Otras referencias bibliográficas útiles para la síntesis de compuestos de la invención son las siguientes: T. Reichstein; C.H. Meystre, *Helv. Chim. Acta*, 1932, 22, 728; H. Westmijze; H. Kleyn; P. Vermeer; L.A. van Dijck, *Tet. Lett.* 1980, 21, 2665; K. Prezowsky; R Wiechert, Patente de Estados Unidos N° 3.682.983; P. Kaspar; H. Witzel, *J. Steroid Biochem.* 1985, 23, 259; W.G. Dauben; T. Brookhart, *J. Am. Chem. Soc.* 1981, 103, 237; A.J. Manson *et al.*, *J. Med. Chem.*, 1963, 6, 1; R.O. Clinton *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.* 1961, 83, 1478; y J.A. Zderic *et al.* *Chem. and Ind.* 1960, 1625.

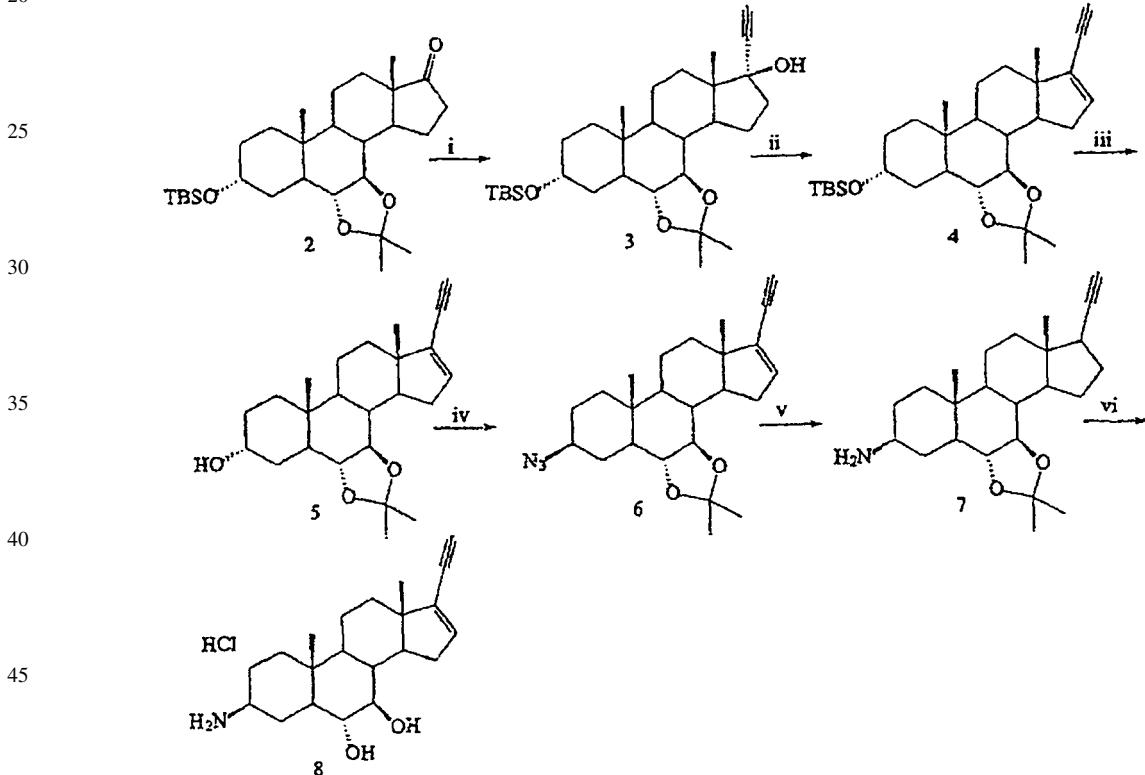
65 En un método preferido, los esteroides polioxigenados C3, C6, C7 y C17 se usan como materiales de partida o intermedios. Los métodos para introducir los oxígenos C6 y C7 en materiales de partida disponibles en el mercado se describen en la Patente de Estados Unidos 6.046.185. Esta Patente de Estados Unidos también describe muchas rutas en las que la sustitución y la esteroquímica preferida pueden introducirse en las posiciones C1, C2, C4, C5, C8, C9, C10, C11, C12, C13, C14, C15, C16 y C17. En la presente invención, los oxígenos C6 y C7 pueden estar presentes como hidroxilos o como hidroxilos protegidos. Los 6- y 7-hidroxilos pueden protegerse individualmente o

juntos pueden ser parte de un anillo. Los grupos protectores adecuados se muestran en Greene y Wuts, "Protective Groups in Organic Synthesis", John Wiley & Sons, New York, N.Y. (1999).

Con respecto al Esquema A, las cetonas del compuesto 2, o compuestos análogos al mismo, pueden alquilarse con una diversidad de grupos alquilantes para dar esteroides de la invención que tienen, pero sin limitación, una sustitución alquilo, cicloalquilo, arilo y heteroarilo. Por ejemplo, la alquilación de la 17-cetona 2, con el anión de acetileno genera el intermedio 17 α -etinil-17 β -hidroxilo 3. La inversión de la estereoquímica de los sustituyentes C17 puede realizarse formando primero el metilsulfonato seguido de tratamiento con nitrato de plata (I) en tetrahidrofurano (THF) y agua. La deshidratación del compuesto 3 usando POCl_3 en 2,4-lutidina da el compuesto 4. El fluoruro de tetrabutilamonio en THF retira el grupo protector de *terc*-butildimetsiloxano (TBS) del 3-hidroxilo para dar el compuesto 5. El tratamiento del compuesto 3 α -hidroxilo 5 con $\text{ZnN}_6\cdot 2\text{py}$, trifenilfosfina y azodicarboxilato de diisopropilo (DIAD) en tolueno da el compuesto 3 β -azido 6. El $\text{ZnN}_6\cdot 2\text{py}$ se prepara por reacción de $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$ y NaN_3 seguido de tratamiento con piridina de acuerdo con el procedimiento de M.C. Viaud y P. Rollin en *Synthesis* **1990**, 130. La reacción con hidruro de litio y aluminio de la azida en éter dietílico (Et_2O) da la amina 7. El tratamiento con HCl en THF y agua retira el grupo acetonida y forma la sal de cloruro de amonio 8.

Esquema A

20



50

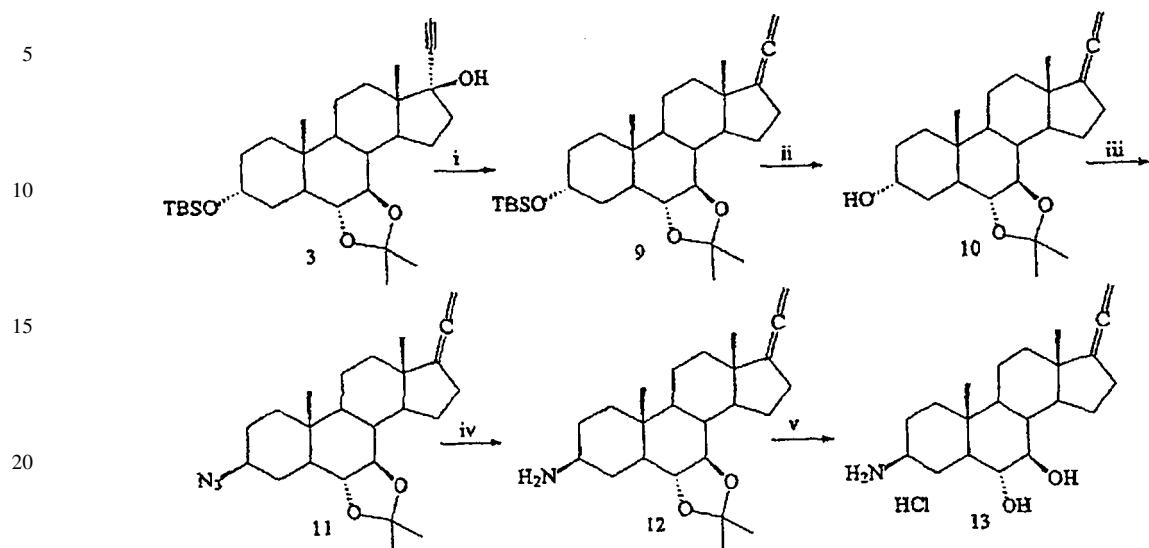
i) KCCH ; ii) POCl_3 , 2,4-lutidina; iii) Bu_4NF , THF; iv) $\text{ZnN}_6\cdot 2\text{py}$, Ph_3P , DIAD, tolueno; v) LiAlH_4 , Et_2O ; iv) HCl , agua, MeCN.

55

Con respecto al Esquema B, los esteroides de la invención que tienen funcionalidad aleno pueden prepararse a partir de intermedios análogos al compuesto 3. Un ejemplo es la reacción del compuesto 3 con LiAlH_4 y AlCl_3 en THF para dar el aleno 9. El fluoruro de tetrabutilamonio en THF retira el grupo protector del 3-hidroxilo para dar el compuesto 10. El tratamiento del compuesto 3 α -hidroxilo 10 con $\text{ZnN}_6\cdot 2\text{py}$, trifenilfosfina y DIAD en tolueno da el compuesto 3 β -azido 11. La reducción con hidruro de litio y aluminio de la azida 11 en Et_2O da la amina 12. El tratamiento con HCl en THF y agua retira el grupo acetonida y forma la sal de cloruro de amonio 13.

65

Esquema B

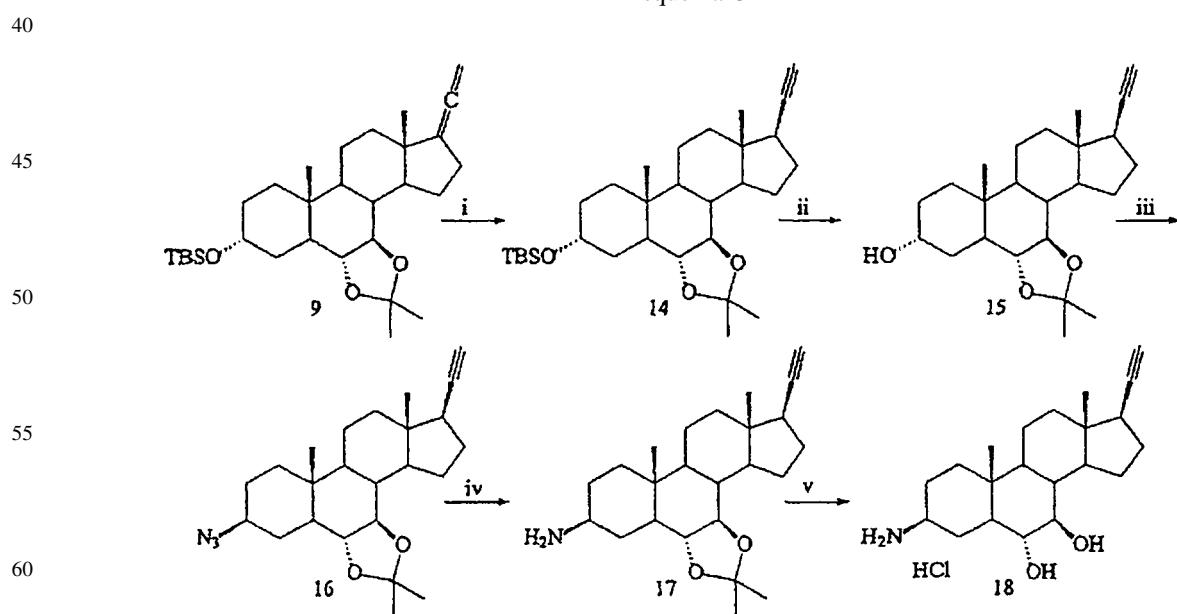


i) LiAlH_4 , AlCl_3 , THF; ii) Bu_4NF , THF; iii) $\text{ZnN}_6 \cdot 2\text{py}$, Ph_3P , DIAD, tolueno; iv) LiAlH_4 , Et_2O ; v) HCl , aqua, MeCN .

30 Con respecto al Esquema C, los compuestos de la invención que tienen funcionalidad alquinilo pueden prepararse a partir de intermedios de aleno. Un ejemplo es el tratamiento del compuesto 9 con n-BuLi en THF para dar el compuesto 17 β -etinilo 14. El fluoruro de tetrabutilamonio en THF retira el grupo protector del 3-hidroxilo para dar el compuesto 15. El tratamiento del compuesto 3 α -hidroxilo 15 con ZnN₆·2py, trifenilfosfina y DIAD en tolueno da el compuesto 3 β -azido 16. La reducción con hidruro de litio y aluminio de la azida 16 en Et₂O da la amina 17. El tratamiento con HCl en THF y agua retira el grupo acetonida y forma la sal de cloruro de amonio 18.

35

Esquema C



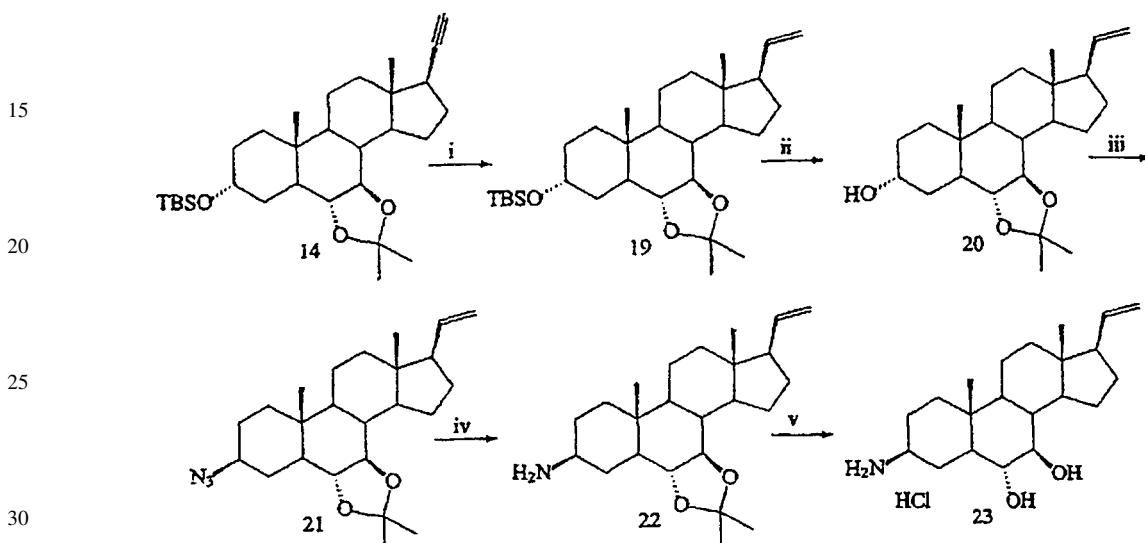
i) n-BuLi, THF; ii) Bu₄NF, THF; iii) ZnN₆·2py, Ph₃P, DIAD, tolueno; iv) LiAlH₄, Et₂O; v) HCl, aqua, MeCN.

ES 2 282 247 T3

Con respecto al Esquema D, los esteroides de la invención que tienen funcionalidad alquenilo pueden prepararse a partir de intermedios de alquino. Un ejemplo es la hidrogenación controlada del compuesto 14 usando Pd-CaCO₃ como catalizador para dar el alqueno 19. El fluoruro de tetrabutilamonio en THF retira el grupo protector del 3-hidroxilo para dar el compuesto 20. El tratamiento del compuesto 3 α -hidroxilo 20 con ZnN₆·2py, trifenilfosfina y DIAD en tolueno da el compuesto 3 β -azido 21. La reducción con hidruro de litio y aluminio de la azida 21 en Et₂O da la amina 22. El tratamiento con HCl en THF y agua retira el grupo acetonida y forma la sal de cloruro de amonio 23.

Esquema D

10



i) H₂, Pd-CaCO₃; ii) Bu₄NF, THF; iii) ZnN₆·2py, Ph₃P, DIAD, tolueno; iv) LiAlH₄, Et₂O; v) HCl, agua, MeCN.

40 El compuesto 2 puede usarse en una multitud de reacciones de olefinación, incluyendo reacciones de tipo Wittig para proporcionar compuestos de la invención que tienen una olefina exocíclica en C17. Por ejemplo, como se ilustra en el Esquema E, el compuesto 2 puede tratarse con bromuro de etiltrifenilfosfonio y *terc*-butóxido potásico (KO'Bu) para proporcionar el compuesto 24 que tiene R₁ = metilo y R₂ = hidrógeno. El fluoruro de tetrabutilamonio en THF retira el grupo protector del 3-hidroxilo para dar el compuesto 25. El tratamiento del compuesto 3 α -hidroxilo 25 con ZnN₆·2py, trifenilfosfina y DIAD en tolueno da el compuesto 3 β -azido 26. La reducción con hidruro de litio y aluminio de la azida 26 en Et₂O da la amina 27. El tratamiento con HCl en THF y agua retira el grupo acetonida y forma la sal de cloruro de amonio 28 que tiene R₁ = metilo y R₂ = hidrógeno.

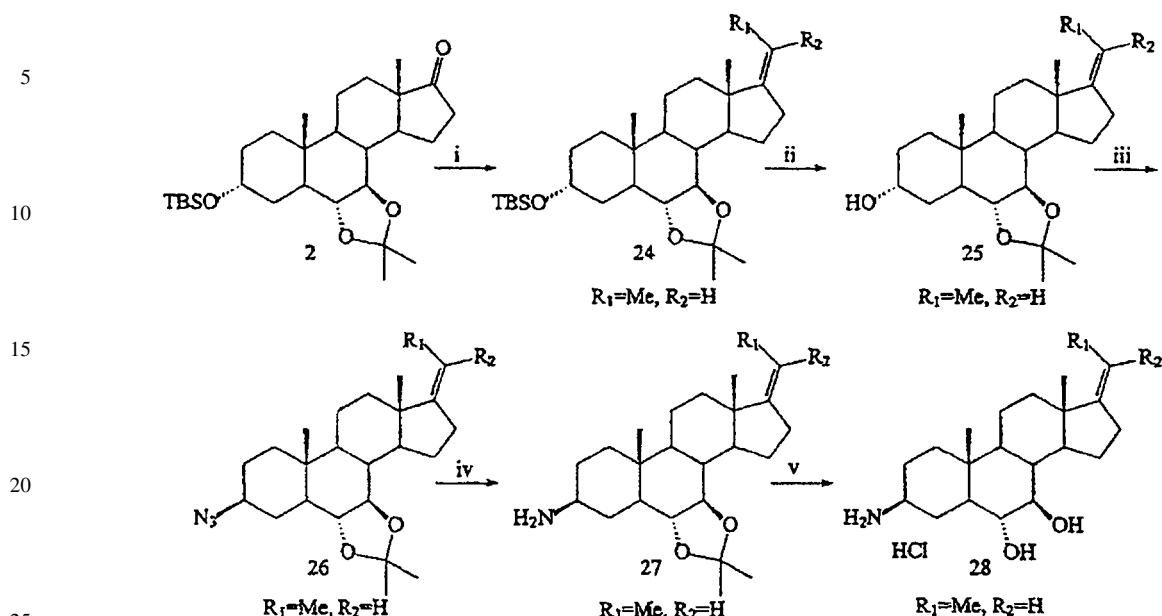
45 De manera análoga a la síntesis que se muestra en el Esquema E, las cetonas tales como el compuesto 2 pueden hacerse reaccionar con otros reactivos de tipo Wittig tales como, pero sin limitación, bromuro de metil-, propil-, butil-, pentil- o hexiiltrifenilfosfonio para dar los esteroides de la invención análogos al compuesto 28 que tiene R₂ = hidrógeno y R₁ = hidrógeno, etilo, propilo, butilo o pentilo.

55

60

65

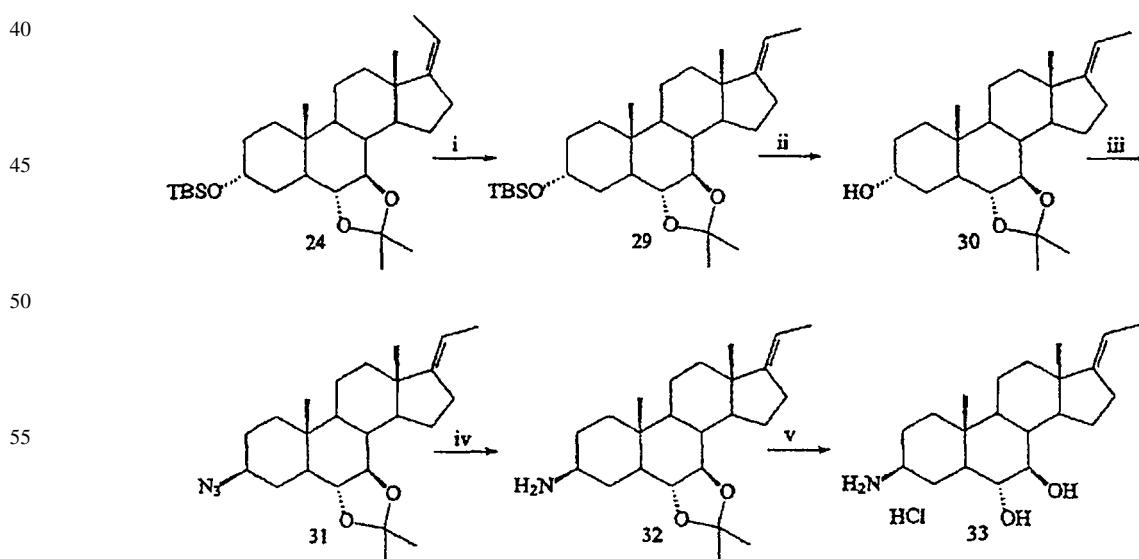
Esquema E



i) EtPPh_3Br , $\text{KO}^\ddagger\text{Bu}$, Tolueno; ii) Bu_4NF , THF; iii) $\text{ZnN}_6 \cdot 2\text{py}$, Ph_3P , DIAD, tolueno; iv) LiAlH_4 , Et_2O ; v) HCl , aqua, MeCN .

30 Los esteroides de la invención pueden contener dobles enlaces exocíclicos de geometría *E* y/o *Z*. Por ejemplo, como se ilustra en el Esquema F, la *Z*-olefina 24 en ciclohexano puede tratarse con luz UV en presencia de disulfuro de difenilo, provocando la isomerización para dar la *E*-olefina 29. El fluoruro de tetrabutilamonio en THF retira el grupo protector del 3-hidroxilo para dar el compuesto 30. El tratamiento del compuesto 3*α*-hidroxilo 30 con ZnN₆2py, trifenilfosfina y DIAD en tolueno da el compuesto 3*β*-azido 31. La reducción con hidruro de litio y aluminio de la azida 31 en Et₂O da la amina 32. El tratamiento con HCl en THF y agua retira el grupo acetonida y forma la sal de cloruro de amonio 33.

Esquema F



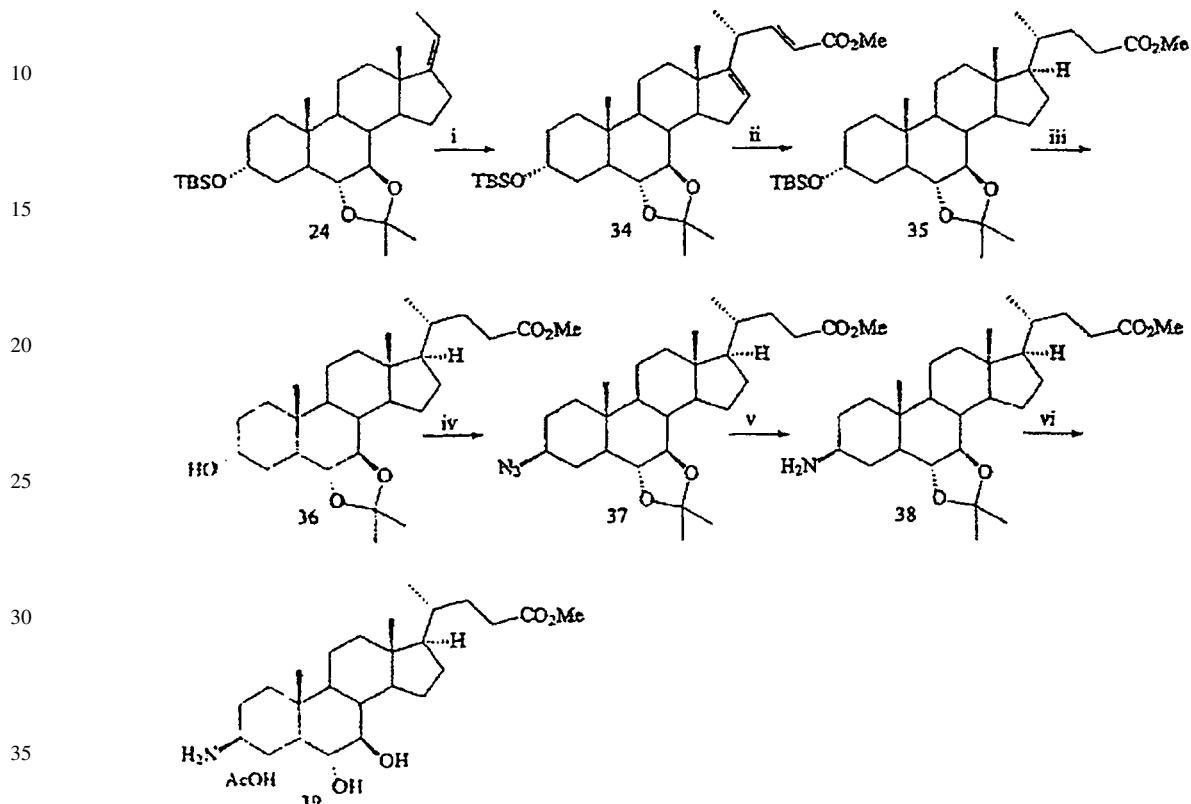
i) $(\text{PhS})_2$, $\text{h}\nu$, ciclohexano; ii) Bu_4NF , THF; iii) $\text{ZnN}_6 \cdot 2\text{py}$, Ph_3P , DIAD, tolueno; iv) LiAlH_4 , Et_2O ; v) HCl , aqua, MeCN .

65 Puede prepararse una multitud de esteroides de la invención que tienen cadenas laterales funcionalizadas usando métodos tales como acoplamientos promovidos por un ácido de Lewis a alquenoides y aceptores de Michael. Por ejemplo, como se ilustra en el Esquema G, el compuesto 24 puede hacerse reaccionar con propiolato de metilo en presencia de cloruro de dietilaluminio para dar el compuesto 34. Los dobles enlaces pueden hidrogenarse usando un

catalizador tal como platino para dar el compuesto 35. El fluoruro de tetrabutilamonio en THF retira el grupo protector del 3-hidroxilo para dar el compuesto 36. El tratamiento del compuesto 3 α -hidroxilo 36 con ZnN₆·2py, trifenilfosfina y DIAD en tolueno da el compuesto 3 β -azido 37. La hidrogenación de la azida 37 usando un catalizador de paladio da la amina 38. El tratamiento con HCl en THF y agua retira el grupo acetona y forma la sal de cloruro de amonio 39.

5

Esquema G



i) HCCCO₂Me, Et₂AlCl; ii) H₂, Pt; iii) Bu₄NF, THF; iv) ZnN₆·2py, Ph₃F

DIAD, tolueno; v) H₂, Pd, EtOAc; vi) ácido acético al 80%.

Con un esteroide 3-amino, tal como el preparado por cualquiera de los Esquemas anteriores A-G, puede prepararse una gran diversidad de compuestos de amina secundaria y terciaria de la invención. Las Figuras 1A y 1B resumen diversas rutas sintéticas que pueden emplearse para preparar compuestos de 3-amino de la presente invención. Por ejemplo, pueden usarse métodos de aminación reductora para acoplar aminas primarias (véase la Figura 1A) y secundarias (véase la Figura 1B) con aldehídos (RC(=O)H) y cetonas (RC(=O)R'). Aunque no se muestra en ninguna de las Figuras 1A o 1B, los compuestos que tienen dos grupos aldehído, es decir, dialdehídos de fórmula general HC(=O)-R-C(=O)H, pueden hacerse reaccionar con esteroideos 3-amino para proporcionar esteroideos que tienen estructuras heterocíclicas en la posición 3. Además (o como alternativa), pueden usarse métodos de aminación reductora para acoplar esteroideos 3-ceto con aminas secundarias heterocíclicas. Mediante estos enfoques, la presente invención proporciona compuestos en los que R¹ y R² pueden formar, junto con el N al que están unidos, una estructura heterocíclica que puede ser parte de un grupo orgánico que tiene 1-30 carbonos y que contiene opcionalmente 1-6 heteroátomos seleccionados entre nitrógeno, oxígeno y silicio. Las fuentes comerciales y la referencia a la bibliografía química permiten a un especialista en la técnica acceder a una multitud de aldehídos (incluyendo dialdehídos) y cetonas que pueden usarse para preparar compuestos esteroideos de la presente invención. Los métodos de aminación reductora se describen, por ejemplo, en *Synthesis* **1975**, 135; *J. Am. Chem. Soc.* **1971**, 93, 2897; M. Freifelder en "Catalytic Hydrogenation in Organic Synthesis" J. Wiley & Sons 1978, Cap. 10; *Russ. Chem. Rev.* **1980**, 49, 14, y referencias citadas en ese documento. Véase también *J. Chem. Soc. Perkin Trans 1* **1998**, 2527; y *Synlett* **1999**, 1781, así como las referencias citadas en ese documento.

Las aminas primarias (véase la Figura 1A) y secundarias (véase la Figura 1B) pueden acoplarse a compuestos de arilo (ArX) para generar una diversidad de compuestos de amina sustituida con arilo de la invención. Las fuentes comerciales y la referencia a la bibliografía química proporcionan a un especialista en la técnica acceso a una multitud de compuestos de arilo que pueden usarse para preparar compuestos esteroideos de la presente invención. Pueden encontrarse ejemplos de métodos para la aminación de compuestos de arilo en *J. Org. Chem.* **2000**, 65, 1158 y en la revisión *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, 37, 2046 y referencias citadas en ese documento.

Los métodos para hacer reaccionar aminas primarias (véase la Figura 1A) y secundarias (véase la Figura 1B) con cloruros de acilo ($RC(=O)Cl$) y cloruros de sulfonilo (RSO_2Cl) para generar compuestos de amida y sulfonamida de la invención, respectivamente, son bien conocidos por los especialistas en la técnica de la química orgánica, en el contexto de otros compuestos de amina, y estas mismas técnicas pueden aplicarse a los compuestos de amina de la 5 presente invención. Las fuentes comerciales y la referencia a la bibliografía química proporcionan a un especialista en la técnica acceso a una multitud de cloruros de acilo y cloruros de sulfonilo que pueden usarse para preparar compuestos esteroideos de la presente invención.

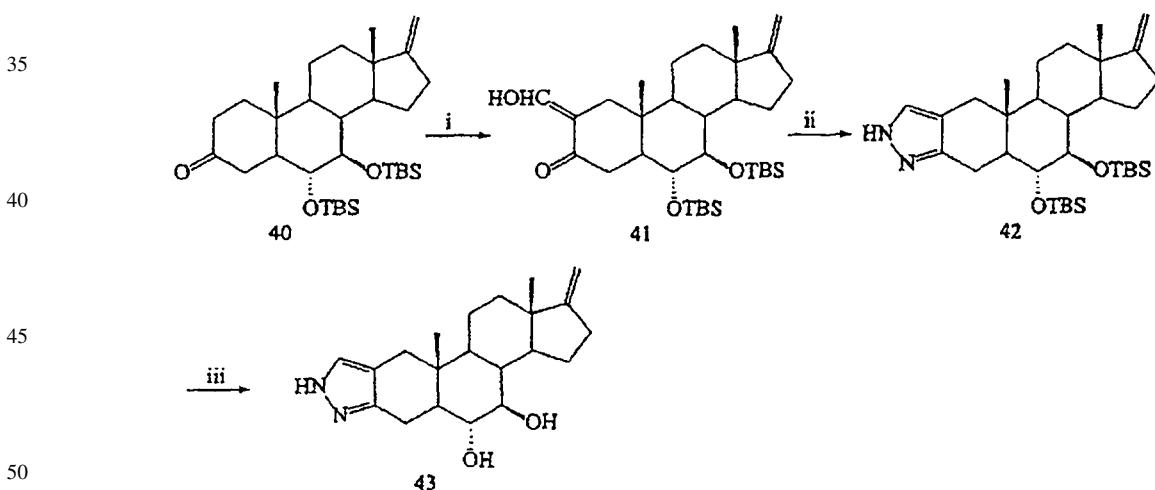
Los métodos para hacer reaccionar aminas primarias (véase la Figura 1A) y secundarias (véase la Figura 1B) con 10 isocianatos ($RN=C-O$) e isotiocianatos ($RN=C=S$) para generar ureas y tioureas, respectivamente, son bien conocidos por los especialistas en la técnica de la química orgánica, en el contexto de otros compuestos de amina, y estas mismas técnicas pueden aplicarse a los compuestos de amina de la presente invención. Las fuentes comerciales y la referencia a la bibliografía química proporcionan a un especialista en la técnica acceso a una multitud de isocianatos y 15 isotiocianatos que pueden usarse para preparar compuestos esteroideos de la presente invención. El artículo de revisión *Russ. Chem. Rev.* **1985**, 54, 249 y referencias citadas en ese documento describen ejemplos de la diversidad de ureas y tioureas sustituidas que pueden incluirse en la invención.

Por lo tanto, usando aldehídos, cetonas, compuestos de arilo, cloruros de acilo, cloruros de sulfonilo, isocianatos y/o isotiocianatos seleccionados apropiadamente, un especialista en la técnica puede preparar compuestos esteroideos 20 en los que R^1 y R^2 se seleccionan entre hidrógeno y grupos orgánicos que tienen 1-30 carbonos y que contienen opcionalmente 1-6 heteroátomos seleccionados entre nitrógeno, oxígeno, fósforo, silicio y azufre.

Los esteroides de la invención pueden tener heterociclos condensados tales como, pero sin limitación, pirazol, 25 isoxazol y pirimidina. Como se ilustra en el Esquema H, el compuesto 43 es un ejemplo de un pirazol condensado de la invención, para el que se describe la síntesis del material de partida compuesto 40 en la Patente de Estados Unidos 6.046.185. El tratamiento del compuesto 40 con formiato de etilo en piridina en presencia de NaOMe da el intermedio de hidroximetileno 41. La reacción del compuesto 41 con hidrazina hidrato en EtOH forma el compuesto de pirazol 42, que después del tratamiento con fluoruro de tetrabutilamonio en THF da el compuesto 43.

30

Esquema H



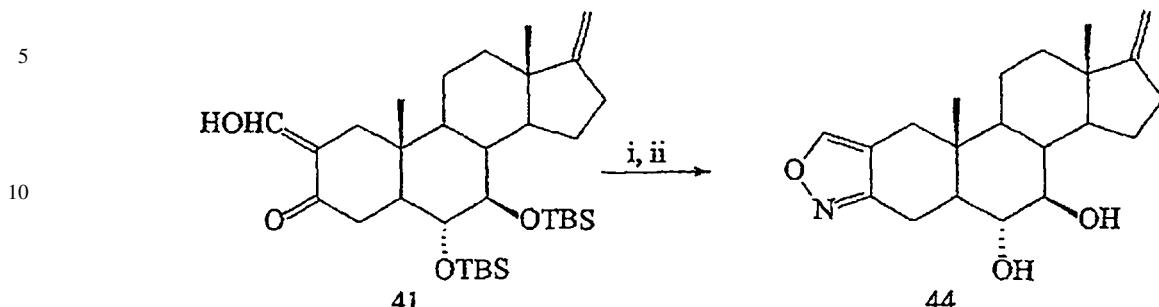
i) EtO_2CH , NaOMe, piridina; ii) N_2H_4 , EtOH; iii) Bu_4NF , THF.

55

Como se ilustra en el Esquema I, los intermedios tales como el compuesto 41 pueden convertirse en isoxazoles de los que el compuesto 44 es un ejemplo. El tratamiento del intermedio de hidroximetileno 41 con hidróxido de amonio en piridina seguido de desprotección de los 6- y 7-hidroxilos usando fluoruro de tetrabutilamonio en THF da el isoxazol 44.

65

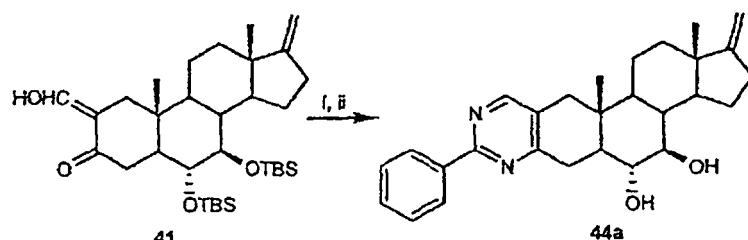
Esquema I



i) $\text{HONH}_2 \cdot \text{HCl}$, piridina; ii) Bu_4NF , THF.

Como se ilustra en el Esquema J, los intermedios tales como el compuesto 41 pueden convertirse en pirimidinas de las que el compuesto 44a es un ejemplo. El tratamiento del intermedio de hidroximetileno 41 con hidrocloruro de benzamidina e hidróxido potásico en etanol seguido de desprotección de los 6- y 7-hidroxilos usando fluoruro de tetrabutilamonio en THF da la pirimidina 44a.

Esquema J



i) hidrocloruro de benzamidina, KOH, EtOH; ii) Bu_4NF , THF.

De esta manera, procediendo con compuestos que tienen una sustitución ceto como carbono 3 y una sustitución $-\text{CHOH}$ en el carbono 2, la presente invención proporciona acceso a una multitud de compuestos en los que R^1 puede ser una cadena de 2 ó 3 átomos unida al número 2 de manera que $-\text{N}-\text{R}^1-$ forme parte de una estructura bicíclica condensada con el anillo A.

Puede emplearse reacción de los esteroides 3-ceto con hidroxilamina y piridina para producir oximas esteroideas de la invención. Una oxima esteroidea tiene R^2 como enlace directo al número 3, proporcionando de esta manera un doble enlace entre el carbono del número 3 y el N, y R^1 es OH. Las aminas primarias pueden oxidarse para dar compuestos nitro, por ejemplo, con dimetil-dioxirano. Por lo tanto, R^1 y R^2 pueden ser oxígeno. Se describen métodos para generar la funcionalidad nitro en *J. Org. Chem.* **1989**, 54, 5783. La reacción de 3-cetonas con dimetilhidrazina da esteroides de N,N-dimetilhidrazona de la invención en los que R^2 es un enlace directo al número 3 y R^1 es NMe_2 . El tratamiento de esteroides de dimetilhidrazona con hidrazina genera esteroides de hidrazona de la invención. La descripción de los métodos para generar N,N-dimetilhidrazonas e hidrazonas puede encontrarse en *J. Org. Chem.* **1966**, 31, 677. Las aminas primarias también pueden hacerse reaccionar por metodología conocida en la técnica con ácidos y ésteres sulfónicos/sulfúricos para proporcionar compuestos de sulfamato, es decir, esteroides en los que el número 3 se une a $-\text{N}-\text{SO}_3-\text{R}$ y R es H o un grupo orgánico que tiene 1-30 carbonos y que contiene opcionalmente 1-6 heteroátomos seleccionados entre nitrógeno, oxígeno, fósforo, silicio y azufre.

D. Composiciones Farmacéuticas

La presente invención proporciona una composición farmacéutica o veterinaria (en lo sucesivo denominada simplemente composición farmacéutica) que contiene un compuesto de fórmula (1) como se ha descrito anteriormente, mezclado con un vehículo farmacéuticamente aceptable. La invención proporciona adicionalmente una composición, preferiblemente una composición farmacéutica, que contiene una cantidad eficaz de un compuesto como se ha descrito anteriormente, en asociación con un vehículo farmacéuticamente aceptable.

Las composiciones farmacéuticas de la presente invención pueden estar en cualquier forma que permita que la composición pueda administrarse a un paciente. Por ejemplo, la composición puede estar en forma de un sólido, líquido o gas (aerosol). Las vías típicas de administración incluyen, sin limitación, la vía oral, tópica, parenteral, sublingual,

rectal, vaginal, ocular e intranasal. El término parenteral, como se usa en este documento, incluye inyecciones subcutáneas, inyección intravenosa, intramuscular, intraesternal o técnicas de infusión. La composición farmacéutica de la invención se formula de modo que permita que los ingredientes activos que contiene estén biodisponibles después de la administración de la composición a un paciente. Las composiciones que se administrarán a un paciente toman 5 la forma de una o más unidades de dosificación, donde por ejemplo, un comprimido puede ser una sola unidad de dosificación, y un recipiente de un compuesto de fórmula (1) en forma de aerosol puede contener una pluralidad de unidades de dosificación.

10 Los materiales usados para preparar las composiciones farmacéuticas deben ser farmacéuticamente puros y no tóxicos en las cantidades usadas. Será evidente para los especialistas en la técnica que la dosificación óptima del ingrediente activo o ingredientes activos en la composición farmacéutica dependerá de una diversidad de factores. Los factores relevantes incluyen, sin limitación, el tipo de sujeto (por ejemplo, ser humano), la formulación particular del ingrediente activo, el modo de administración y la composición empleada.

15 En general, la composición farmacéutica incluye un (donde "un" y "una" se refieren en esta ocasión, y en toda esta memoria descriptiva, a uno o una o más de uno o una) compuesto activo de fórmula (1) como se describe en este documento, mezclado con uno o más vehículos. El vehículo o vehículos pueden estar en forma de partículas, de modo que las composiciones estén, por ejemplo, en forma de comprimido o de polvo. El vehículo o vehículos pueden ser líquidos, siendo las composiciones, por ejemplo, un jarabe oral o líquido inyectable. Además, el vehículo o vehículos 20 pueden ser gaseosos para proporcionar una composición de aerosol útil en, por ejemplo, administración por inhalación.

25 Cuando está destinada para administración oral, la composición está preferiblemente en forma sólida o líquida, incluyéndose formas semisólidas, semilíquidas, de suspensión y gel en las formas consideradas en este documento sólidas o líquidas.

Como composición sólida para administración oral, la composición puede formularse en un polvo, granulado, comprimido de compresión, píldora, cápsula, chicle, oblea o forma similar. Dicha composición sólida típicamente contendrá uno o más diluyentes inertes o vehículos comestibles. Además, pueden estar presentes uno o más de los siguientes adyuvantes: aglutinantes tales como carboximetilcelulosa, etilcelulosa, celulosa microcristalina o gelatina; 30 excipientes tales como almidón, lactosa o dextrinas, agentes desgregantes tales como ácido algínico, alginato sódico, Primogel, almidón de maíz y similares; lubricantes tales como estearato de magnesio o Sterotex; deslizantes tales como dióxido de silicio coloidal; agentes edulcorantes tales como sacarosa o sacarina, un agente aromatizante tal como menta, salicilato de metilo o aroma de naranja, y un agente colorante.

35 Cuando la composición está en forma de una cápsula, por ejemplo, una cápsula de gelatina, puede contener, además de materiales del tipo anterior, un vehículo líquido tal como polietilenglicol, ciclodextrina o un aceite graso.

La composición puede estar en forma de un líquido, por ejemplo, un elixir, jarabe, solución, emulsión o suspensión. 40 El líquido puede ser para administración oral o para administrarse por inyección, como dos ejemplos. Cuando está destinada para la administración oral, la composición preferida contiene, además de los presentes compuestos, uno o más de un agente edulcorante, conservantes, tinte/colorante y un potenciador del sabor. En una composición destinada a administrarse por inyección, pueden incluirse uno o más de un tensioactivo, conservante, agente humectante, agente de dispersión, agente de suspensión, tampón, estabilizante y agente isotónico.

45 Las composiciones farmacéuticas líquidas de la invención, tanto sin son soluciones o suspensiones como si tienen otra forma similar, pueden incluir uno o más de los siguientes adyuvantes: diluyentes estériles tales como agua para inyección, solución salina, preferiblemente solución salina fisiológica, solución de Ringer, cloruro sódico isotónico, aceites fijos tales como mono o diglicéridos sintéticos que pueden servir como disolvente o medio de suspensión, polietilenglicoles, glicerina, ciclodextrina, propilenglicol u otros disolventes; agentes antibacterianos tales como alcohol bencílico o metilparabeno; antioxidantes tales como ácido ascórbico o bisulfito sódico; agentes quelantes tales como ácido etilendiaminotetraacético; tampones tales como acetatos, citratos o fosfatos y agentes para ajustar la tonicidad tales como cloruro sódico o dextrosa. La preparación parenteral puede encerrarse en ampollas, jeringas desechables o viales de múltiples dosis hechos de vidrio o plástico. Un adyuvante preferido es solución salina fisiológica. Una composición farmacéutica inyectable preferiblemente es estéril.

55 Una composición líquida destinada para administración parenteral u oral debe contener una cantidad de un compuesto de fórmula (1) tal que se obtenga una dosificación adecuada. Típicamente, esta cantidad es al menos 0,01% de un compuesto de la invención en la composición. Cuando está destinada para la administración oral, esta cantidad puede variarse entre 0,1% y aproximadamente 80% del peso de la composición. Las composiciones orales preferidas 60 contienen entre aproximadamente 4% y aproximadamente 50% del compuesto activo de fórmula (1). Las composiciones y preparaciones preferidas de acuerdo con la presente invención se preparan de forma que una unidad de dosificación parenteral contenga entre 0,01% y 2% en peso del compuesto activo.

La composición farmacéutica puede estar destinada para la administración tópica, en cuyo caso el vehículo puede 65 comprender convenientemente una solución, emulsión, pomada o base de gel. La base, por ejemplo, puede comprender uno o más de los siguientes: vaselina, lanolina, polietilenglicoles, cera de abejas, aceite mineral, diluyentes tales como agua y alcohol, y emulsionantes y estabilizantes. En una composición farmacéutica para administración tópica pueden estar presentes agentes espesantes. Si está destinada para la administración transdérmica, la composición puede incluir

un parche transdérmico o dispositivo de iontoporesis. Las formulaciones tópicas pueden contener una concentración del compuesto de fórmula (1) de aproximadamente 0,1% a aproximadamente 10% p/v (peso por unidad de volumen).

5 La composición puede estar destinada para administración rectal, en forma, por ejemplo, de un suppositorio que se fundirá en el recto y liberará el fármaco. La composición para administración rectal puede contener una base oleaginosa como excipiente no irritante adecuado. Estas bases incluyen, sin limitación, lanolina, manteca de cacao y polietilenglicol.

10 La composición puede incluir diversos materiales que modifican la forma física de una unidad de dosificación sólida o líquida. Por ejemplo, la composición puede incluir materiales que forman un recubrimiento alrededor de los ingredientes activos. Los materiales que forman el recubrimiento típicamente son inertes y pueden seleccionarse entre, por ejemplo, azúcar, goma laca y otros agentes de recubrimiento entérico. Como alternativa, los ingredientes activos pueden encerrarse en una cápsula de gelatina.

15 La composición en forma de sólida o líquida puede incluir un agente que se une al componente o componentes activos y de esta manera ayuda a la liberación de los componentes activos. Los agentes adecuados que pueden actuar con esta capacidad incluyen un anticuerpo monoclonal o policlonal, una proteína o un liposoma.

20 La composición farmacéutica de la presente invención puede consistir en unidades de dosificación gaseosas, por ejemplo, puede estar en forma de un aerosol. El término aerosol se usa para hacer referencia a una diversidad de sistemas que varían de los de naturaleza coloidal a sistemas que consisten en envases presurizados. La administración puede realizarse por medio de un gas licuado o comprimido o por un sistema de bomba adecuado que distribuye los ingredientes activos. Los aerosoles de los compuestos de la invención pueden administrarse en sistemas monofásicos, bifásicos o trifásicos para liberar el ingrediente o los ingredientes activos. La administración del aerosol incluye el recipiente necesario, activadores, válvulas, recipientes interiores, espaciadores y similares, que conjuntamente pueden constituir un kit. Un especialista en la técnica puede determinar los aerosoles preferidos, sin experimentación indebida.

25 Tanto si está en forma sólida como si está en forma líquida o gaseosa, la composición farmacéutica de la presente invención puede contener uno o más agentes farmacológicos conocidos usados en el tratamiento de inflamación (incluyendo asma, alergia, artritis reumatoide, esclerosis múltiple, etc.), trastornos proliferativos (cánceres), enfermedades que pueden tratarse por medio de la regulación del calcio (incluyendo hipertensión, arritmias cardíacas, etc.) y síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA).

30 Las composiciones farmacéuticas pueden prepararse por una metodología bien conocida en la técnica farmacéutica.

35 Una composición destinada a la administración por inyección puede prepararse combinando el compuesto de fórmula (1) con agua para formar una solución. Puede añadirse un tensioactivo para facilitar la formación de una solución o suspensión homogénea. Los tensioactivos son compuestos que interaccionan de manera no covalente con el compuesto de fórmula (1) para facilitar la disolución o suspensión homogénea del compuesto activo en el sistema de liberación acuoso.

E. Actividad Biológica

40 Los compuestos descritos en este documento de fórmula 1, o las composiciones que comprenden uno o más de estos compuestos y un vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable, pueden usarse en un método para tratar o prevenir una afección o enfermedad inflamatoria en un paciente, comprendiendo el método administrar al paciente que lo necesita una cantidad de un compuesto o composición de acuerdo con la presente invención, siendo la cantidad eficaz para tratar o prevenir la afección o enfermedad inflamatoria del paciente.

45 La afección o enfermedad inflamatoria puede implicar una inflamación respiratoria (por ejemplo, donde la enfermedad respiratoria es asma, o donde la enfermedad respiratoria es enfermedad pulmonar obstructiva crónica; o donde la enfermedad respiratoria es enfisema); la afección inflamatoria puede ser una afección o enfermedad autoinmune; la afección o enfermedad inflamatoria puede ser lupus eritematoso; la afección o enfermedad inflamatoria puede implicar una inflamación aguda o crónica del compartimiento óseo y/o cartilaginoso de las articulaciones; la afección o enfermedad inflamatoria puede ser una artritis seleccionada entre artritis reumatoide, artritis gotosa o artritis reumatoide juvenil; la afección o enfermedad inflamatoria puede ser una enfermedad del sistema nervioso central; la afección o enfermedad puede estar asociada con infiltración de leucocitos; la afección o enfermedad puede estar asociada con edema; la afección o enfermedad puede estar asociada con lesión por isquemia-reperfusión; la afección o enfermedad puede estar asociada con niveles elevados de citoquinas inflamatorias (por ejemplo, donde la citoquina inflamatoria es IL-4, o donde la citoquina inflamatoria es IL-5, o donde la citoquina inflamatoria es IL-10, o donde la citoquina inflamatoria es IL-13, o donde la citoquina inflamatoria es IL-9, o donde la citoquina inflamatoria es IL-1, o donde la citoquina inflamatoria es IL-2, o donde la citoquina inflamatoria es IL-6, o donde la citoquina inflamatoria es IL-18, o donde la citoquina inflamatoria es IL-3, o donde la citoquina inflamatoria es IL-8, o donde la citoquina inflamatoria es IL-12, o donde la citoquina inflamatoria es TNF- α , o donde la citoquina inflamatoria es TGF- β , o donde la citoquina inflamatoria es GM-CSF, o donde la citoquina inflamatoria es IFN- γ , o donde la citoquina inflamatoria es LTB4, o donde la citoquina inflamatoria es un miembro de la familia del cisteínil leucotrieno, o donde la citoquina inflamatoria se regula tras la activación de células T normales expresadas y secretadas (RANTES), o donde la citoquina inflamatoria es eotaxina-1, 2 ó 3, o donde la citoquina inflamatoria es la proteína inflamatoria de macrófagos (MIP)-

1 α , o donde la citoquina inflamatoria es la proteína quimioatrayente de monocitos 1, 2, 3 ó 4); la afección o enfermedad puede estar asociada con una alteración de los niveles de moléculas de adhesión inflamatorias (por ejemplo, donde la molécula de adhesión es la molécula de adhesión de células vasculares (VCAM-1 ó 2); donde la molécula de adhesión es la molécula de adhesión intercelular (ICAM-1 ó 2); donde la molécula de adhesión es el antígeno 4

5 muy tardío (VLA-4), donde la molécula de adhesión es el antígeno-1 asociado a la función de los leucocitos (LFA-1); donde la molécula de adhesión es una selectina); la afección o enfermedad inflamatoria puede ser esclerosis múltiple; la afección o enfermedad inflamatoria puede ser sarcoidosis pulmonar; la afección o enfermedad inflamatoria puede ser inflamación ocular o alergia; la afección o enfermedad inflamatoria puede ser rinitis alérgica; la afección o enfermedad inflamatoria puede ser una enfermedad inflamatoria del intestino (por ejemplo, enfermedad de Crohn o

10 colitis ulcerosa); la afección o enfermedad inflamatoria puede ser una enfermedad inflamatoria cutánea (por ejemplo, psoriasis o dermatitis); la afección o enfermedad inflamatoria puede ser enfermedad de injerto contra hospedador; la afección o enfermedad inflamatoria puede ser vascular (por ejemplo, vasculitis); la afección o enfermedad inflamatoria puede ser una enfermedad aterosclerótica.

15 Además, la presente invención proporciona compuestos que pueden usarse en un método para tratar o prevenir una enfermedad o afección en un paciente, donde la enfermedad o afección está asociada con patologías que implican infiltración de leucocitos, comprendiendo el método administrar a un paciente que lo necesita una cantidad de un compuesto o una composición de la presente invención, donde la cantidad es eficaz para tratar o prevenir una enfermedad o afección asociada con patologías que implican la infiltración de leucocitos.

20 Además, la presente invención proporciona compuestos que pueden usarse en un método para tratar o prevenir asma en un paciente, que comprende administrar a un paciente que lo necesita una cantidad de un compuesto o composición de la presente invención, donde la cantidad es eficaz para tratar o prevenir el asma en el paciente.

25 Además, la presente invención proporciona compuestos que pueden usarse en un método para tratar o prevenir alergia en un paciente, que comprende administrar a un paciente que lo necesita una cantidad de un compuesto o composición de la presente invención, donde la cantidad es eficaz para tratar o prevenir la alergia en el paciente.

30 Un compuesto de fórmula (1), o una composición que comprende uno o más compuestos de fórmula (1) y un vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable, puede conseguir, aunque no necesariamente consigue, uno o más de los siguientes resultados deseados en el sujeto al que se le ha administrado un compuesto de fórmula (1) como se ha definido anteriormente o una composición que contiene uno de estos compuestos y un vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable:

- 35 1. Inhibición de la infiltración de leucocitos (por ejemplo, neutrófilos, eosinófilos, etc.)
2. Inhibición de la activación de leucocitos
3. Alteración de la relación de linfocitos (por ejemplo células TH1 frente a TH2)
- 40 4. Inhibición de la quimiotaxis de leucocitos;
5. Inhibición de la producción y/o liberación de TNF- α ;
- 45 6. Inhibición de la producción y/o liberación de quimoquinas (por ejemplo, eotaxina, etc.);
7. Inhibición de la producción, liberación y/o función de moléculas de adhesión (por ejemplo VCAM, VLA-4, etc.);
- 50 8. Inhibición de edema;
9. Inhibición de la producción y/o liberación de citoquinas interleuquinas (por ejemplo, IL-1, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-9, IL-10, IL-12, IL-13, IL-18);
- 55 10. Inhibición de la liberación de mediadores inflamatorios (por ejemplo, leucotrienos, triptasa, adenosina, etc.);
11. Inhibición de la liberación de histamina;
12. Inhibición de parámetros de asma; y
- 60 13. Inhibición de parámetros de alergia.

65 Los compuestos descritos en este documento de fórmula 1 (es decir, compuestos de fórmula (1) o compuestos de la presente invención) o las composiciones que comprenden uno o más de estos compuestos y un vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable pueden usarse en un método para tratar o prevenir un trastorno proliferativo en un paciente, donde el método comprende administrar al paciente que lo necesita una cantidad de un compuesto o composición de acuerdo con la presente invención, donde la cantidad es eficaz para tratar o prevenir el trastorno proliferativo del paciente. Como se usa en este documento, los trastornos proliferativos incluyen, sin limitación, todas

las leucemias y tumores sólidos que son susceptibles de experimentar diferenciación o apoptosis tras la interrupción de su ciclo celular.

Los compuestos descritos en este documento de fórmula 1 (es decir, compuestos de fórmula (1) o compuestos de la presente invención) o las composiciones que comprenden uno o más de estos compuestos y un vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable, pueden usarse en un método para tratar o prevenir enfermedades que pueden tratarse por medio de la regulación del calcio en un paciente, donde el método comprende administrar al paciente que lo necesita una cantidad de un compuesto o composición de acuerdo con la presente invención, donde la cantidad es eficaz para tratar o prevenir la enfermedad del paciente. Como se usa en este documento, las enfermedades que pueden tratarse por medio de la regulación del calcio incluyen, sin limitación, arritmia cardiaca, fibrilación auricular, síndromes coronarios agudos, hipertensión, lesión por isquemia-reperfusión, ictus, epilepsia, enfermedades desmielinizantes tales como esclerosis múltiple, dolor, estado epiléptico, aterosclerosis y diabetes.

Los compuestos descritos en este documento de fórmula 1 (es decir, compuestos de fórmula (1) o compuestos de la presente invención) o las composiciones que comprenden uno o más de estos compuestos y un vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable, pueden usarse en un método para tratar o prevenir el síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA) en un paciente, comprendiendo el método administrar al paciente que lo necesita una cantidad de un compuesto o composición de acuerdo con la presente invención, donde la cantidad es eficaz para tratar o prevenir el síndrome de inmunodeficiencia adquirida en el paciente. Como se usa en este documento, el síndrome de inmunodeficiencia adquirida por medio de la infección con el virus de la inmunodeficiencia humana de tipo 1 incluye, sin limitación, complicaciones asociadas tales como el complejo de demencia asociado con el síndrome de inmunodeficiencia adquirida y síndromes neurológicos asociados con el síndrome de inmunodeficiencia adquirida.

De esta manera, los compuestos de la invención pueden usarse para tratar la inflamación, incluyendo tanto la inflamación aguda como la inflamación crónica, así como ciertos trastornos proliferativos (cánceres), enfermedades que pueden tratarse por medio de la regulación del calcio y SIDA. Como se usa en este documento, inflamación incluye, sin limitación, espondilitis anquilosante, artritis (incluyendo este término más de 100 tipos de enfermedades reumáticas), asma, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, alergia, rinitis alérgica, enfermedad de Crohn, síndrome de fibromialgia, gota, inflamaciones del cerebro (incluyendo esclerosis múltiple), demencia asociada con el SIDA, encefalopatía de Lyme, encefalitis por herpes, enfermedad de Creutzfeld-Jakob y toxoplasmosis cerebral, enfisema, enfermedad inflamatoria del intestino, síndrome del intestino irritable, lesión por isquemia-reperfusión, dermatitis atópica, sarcoidosis pulmonar eritematosa juvenil, enfermedad de Kawasaki, osteoartritis, enfermedad inflamatoria pélvica, artritis psoriásica (psoriasis), artritis reumatoide, psoriasis, trasplante de tejido/órganos, enfermedad de injerto frente a hospedador; esclerodermia, espondiloartropatías, lupus eritematoso sistémico, sarcoidosis pulmonar, vasculitis, aterosclerosis, cardiomielitis, miocarditis autoinmune y colitis ulcerosa.

Se administra una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula (1) incluyendo sales, composiciones, etc. del mismo. Como se usa en este documento, la cantidad real incluida en el término "cantidad terapéuticamente eficaz" dependerá de la vía de administración, el tipo de animal de sangre caliente que se esté tratando y las características físicas del animal de sangre caliente específico en consideración. Estos factores y su relación para determinar esta cantidad son bien conocidos para los especialistas en las técnicas médicas. Esta cantidad y el método de administración pueden adaptarse para conseguir una eficacia óptima, pero dependerán de factores tales como el peso, dieta, medicación concurrente y otros factores que reconocerán los especialistas en las técnicas médicas.

Una cantidad eficaz de un compuesto o composición de la presente invención será suficiente para tratar la inflamación, enfermedades proliferativas, enfermedades que pueden tratarse por la regulación de calcio o SIDA, en un animal de sangre caliente tal como un ser humano. Los métodos para administrar cantidades eficaces de agentes antiinflamatorios son bien conocidos en la técnica e incluyen la administración de formas de inhalación, orales o parenterales. Estas formas de dosificación incluyen, pero sin limitación, soluciones parenterales, comprimidos, cápsulas, implantes de liberación sostenida y sistemas de liberación transdérmica; o sistemas de dosificación por inhalación que emplean inhaladores de polvo seco o dispositivos de inhalación multidosis presurizados.

La cantidad y la frecuencia de dosificación se seleccionan para crear un nivel eficaz del agente sin efectos perjudiciales. Generalmente variarán desde una dosificación de aproximadamente 0,001 a 100 mg/kg/día y típicamente de aproximadamente 0,01 a 10 mg/kg/día cuando la administración es oral o intravenosa. Además, el intervalo de dosificación típicamente será de aproximadamente 0,0001 a 10 mg/kg/día cuando la administración es intranasal o por inhalación.

Los compuestos de fórmula (1), incluyendo los compuestos usados en los métodos y composiciones indicados anteriormente, pueden prepararse de acuerdo con los esquemas que se presentan en los siguientes ejemplos. Los siguientes ejemplos se ofrecen sólo a modo ilustrativo y no a modo de limitación.

A menos que se indique otra cosa, la cromatografía ultrarrápida y la cromatografía en columna pueden realizarse usando gel de sílice Merck 60 (malla 230-400). La cromatografía ultrarrápida puede realizarse de acuerdo con el procedimiento indicado en: "Purification of Laboratory Chemicals", 3^a edición, Butterworth-Heinemann Ltd., Oxford (1988). Eds. D. D. Perrin y W. L. F. Armarego, pág. 23. Cromatografía en columna se refiere al proceso por el que el caudal de eluyente a través de un material de relleno se determina por gravedad. En todos los casos puede usarse indistintamente cromatografía ultrarrápida y cromatografía radial. La cromatografía radial se realiza usando gel de

sílice en un Chromatotron Modelo N° 7924T (Harrison Research, Palo Alto, California). A menos que se indique otra cosa, los valores de R_f citados se obtienen por cromatografía de capa fina usando Gel de Sílice 60 F₂₅₄ (Merck KGaA, 64271, Darmstadt, Alemania). Salmuera se refiere a una solución saturada de cloruro sódico.

5 Además, a menos que se indique otra cosa, los reactivos químicos se obtuvieron a partir de proveedores de agentes químicos convencionales, tales como Aldrich (Milwaukee, WI; www.aldrich.sial.com); EM Industries, Inc. (Hawthorne, NY; www.emscience.com); Fisher Scientific Co. (Hampton, NH; www.fischerl.com); y Lancaster Synthesis, Inc. (Windham, NH; www.lancaster.co.uk). La sulfo-NHS-biotina se obtuvo en Pierce (Rockford, IL, www.piercenet.com). La resina MP-TsOH, la resina PS-DIEA, la resina PS-Trisamine y la resina PS-benzaldehído se obtuvieron en Argonaut Technologies (San Carlos, CA, www.argotech.com). Los gases se obtuvieron en Praxair (Vancouver, B.C.). Las líneas celulares, a menos que se indique otra cosa, se obtuvieron a partir de fuentes públicas o comerciales, por ejemplo, American Tissue Culture Collection (ATCC, Rockville, MD).

15 **Ejemplos de síntesis**

Ejemplo 1

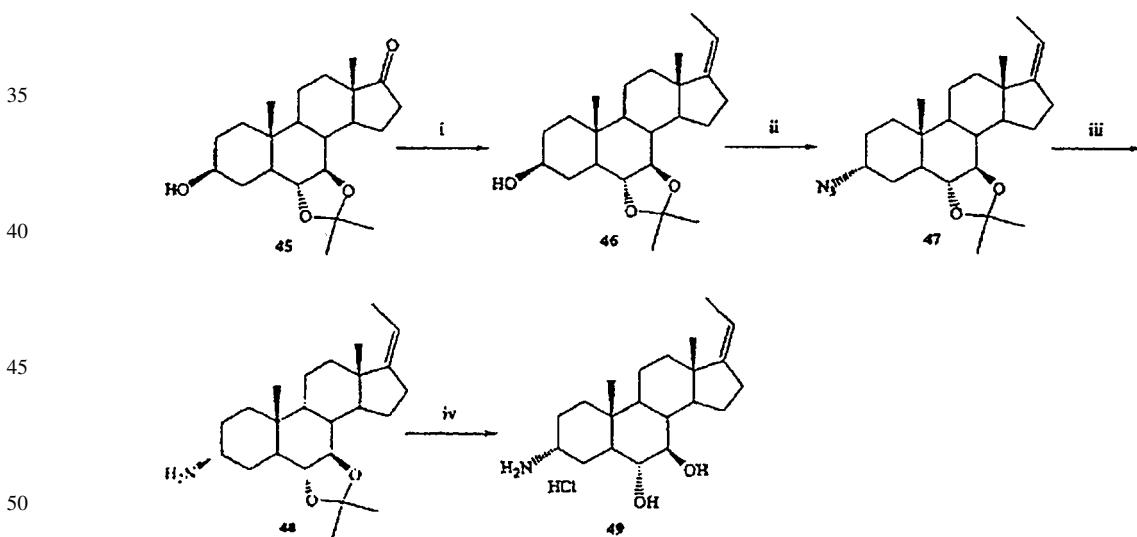
Esteroides 3-amino-6,7-dihidroxi-17-etilideno

20 El compuesto 49, un compuesto representativo de la invención, se prepara de acuerdo con el Esquema 1. Puede producirse cualquier número de compuestos relacionados con el compuesto 49 usando una metodología similar. El material de partida compuesto 45 puede prepararse de acuerdo con la metodología descrita en la Patente de Estados Unidos 6.046.185. La olefinación de la cetona 45 se realiza usando bromuro de etiltrifenilfosfonio y KO'Bu en tolueno.

25 El tratamiento del compuesto 3 β -hidroxilo 46 con ZnN₆·2py, trifenilfosfina y DIAD en tolueno produce el compuesto 3 α -azido 47. La reducción con hidruro de litio y aluminio de la azida en Et₂O proporciona la amina 48. El tratamiento con HCl en THF y agua retira el grupo acetonida y forma la sal de cloruro de amonio 49.

30

Esquema 1



i) CH₃CH₂PPh₃Br, KO'Bu, Tolueno; ii) ZnN₆·2py, Ph₃P, DIAD, tolueno; iii) LiAlH₄, Et₂O; iv) HCl, THF, agua.

60

Síntesis del Compuesto 46

Una solución de KO'Bu (0,24 g, 2,0 mmol), EtPPh₃Br (0,75 g, 2,0 mmol) y tolueno (2,5 ml) se agitó a temperatura ambiente en una atmósfera de argón. Después de 1 hora, la solución de color rojo oscuro se enfrió en hielo, se añadió la cetona 45 (184 mg, 0,508 mmol) y la solución resultante se dejó calentar a temperatura ambiente. Después de agitar durante una noche, la reacción se interrumpió con 10 ml de agua, se diluyó con 60 ml de acetato de etilo (EtOAc), se separó y se lavó con 2 x 10 ml de salmuera, se secó sobre MgSO₄, se filtró y se concentró. La purificación por cromatografía en columna eluyendo con 1:1 de EtOAc/hexanos produjo 171 mg (90%) del compuesto 46 en forma de una película incolora.

Síntesis del Compuesto 47

Se añadió gota a gota DIAD (0,44 ml, 2,14 mmol) durante 10 minutos a una solución a temperatura ambiente del compuesto 3β-hidroxi 46 (400 mg, 1,07 mmol), $ZnN_6 \cdot 2py$ (246 mg, 0,80 mmol), Ph_3P (560 mg, 2,14 mmol) y tolueno (10,7 ml) en una atmósfera de argón. Después de 4 horas, la mezcla de reacción se cargó sobre una columna de gel de sílice rellenada en acetato de etilo al 10%/hexanos y eluyendo con acetato de etilo al 20%/hexanos para producir 422 mg (99%) del compuesto 47 en forma de un sólido blanco.

Síntesis del Compuesto 48

Se añadió hidruro de litio y aluminio (42 mg, 1,04 mmol) a una solución enfriada con hielo de la azida 47 (415 mg, 1,04 mmol) en 5,2 ml de Et_2O en una atmósfera de argón. La reacción se dejó calentar a temperatura ambiente. Después de 2 horas, la solución se enfrió en hielo, se diluyó con 25 ml de éter dietílico y se inactivó lentamente con 2 ml de una solución saturada de Na_2SO_4 . Después de 10 minutos, se había formado un precipitado blanco y la solución se diluyó con 50 ml de acetato de etilo, se lavó con 3 x 10 ml de salmuera, se secó sobre $MgSO_4$, se filtró y se concentró. El material bruto se purificó usando una columna de gel de sílice preparada rellenando en Et_3N al 1%/ CH_2Cl_2 y lavando con $MeOH$ al 5%/ CH_2Cl_2 . El material bruto se cargó en CH_2Cl_2 , eluyendo con $MeOH$ al 5%/ CH_2Cl_2 y después 95:5:2 de CH_2Cl_2 : $MeOH$: Et_3N para dar una espuma blanca que mostró por análisis 1H RMN que contenía una cantidad traza de Et_3N . El material se recogió en 50 ml de hexanos, se lavó con 2 x 20 ml de salmuera, se secó sobre $MgSO_4$, se filtró y se concentró para dar 322 mg (83%) del compuesto 48 en forma de una espuma blanca.

Síntesis del Compuesto 49

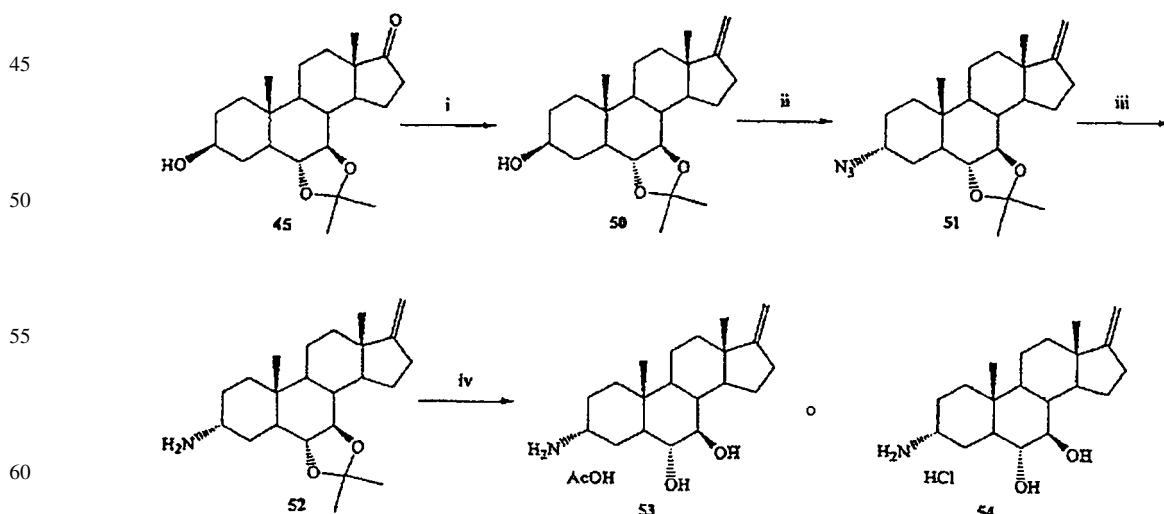
Una solución del compuesto 3α-amino 48 (317 mg, 0,850 mmol), HCl 4 M en dioxano (255 μ l, 1,02 mmol), THF (13,6 ml) y agua (3,4 ml) se agitó a temperatura ambiente durante una noche. La solución se concentró a sequedad y se trituró con porciones de 3 x 10 ml de acetona, retirando por evaporación la acetona después de cada trituración. La concentración dio 301 mg (96%) del compuesto 49 en forma de un sólido blanco. LC/MS (infusión directa, electronebulización +ve, NH_4OAc 10 mM en 4:1 de agua y MeCN) 334,16; $C_{21}H_{36}NO_2$.

30 Ejemplo 2

Esteroides 3-amino-6,7-dihidroxi-17-metilideno

Un ejemplo adicional de alquenos relacionados con el compuesto 49 se muestra en el Esquema 2. La olefinación de la cetona 45 usando bromuro de metiltrifenilfosfonio y KO^tBu en THF dio el compuesto 17-metilideno 50. La azidación usando $ZnN_6 \cdot 2py$, $PPPh_3$ y DIAD en tolueno dio el compuesto 3α-azido 51 y la reducción con hidruro de litio y aluminio en THF dio el compuesto 3α-amino 52. El tratamiento con ácido acético al 80% retiró el grupo protector de acetonida y formó la sal de acetato de amonio 53. Como alternativa, el compuesto 52 se trató con ácido clorhídrico en acetonitrilo y agua para dar la sal hidrocloruro 54.

40 Esquema 2



i) CH_3PPh_3Br , KO^tBu , THF; ii) $ZnN_6 \cdot 2py$, Ph_3P , DIAD, tolueno; iii) $LiAlH_4$, Et_2O ; iv) ácido acético al 80% o HCl , agua, MeCN.

ES 2 282 247 T3

Síntesis del Compuesto 50

Una solución de KO^tBu (2,0 g, 16,9 mmol), MePPh₃Br (6,0 g, 16,8 mmol) y 27 ml de THF se agitó a temperatura ambiente en una atmósfera de argón. Después de 1 hora, la cetona 45 (2,00 g, 5,52 mmol) se añadió a la solución amarilla y la solución resultante se calentó a reflujo durante 1 hora. La reacción se interrumpió con 50 ml de salmuera, se diluyó con 100 ml de EtOAc, se separó, se lavó con 25 ml de salmuera, se secó sobre MgSO₄, se filtró y se concentró. La purificación por cromatografía en columna eluyendo con 1:1 de EtOAc/hexanos produjo 1,90 g (95%) del compuesto 50 en forma de un sólido blanco.

Síntesis del Compuesto 51

Se añadió gota a gota DIAD (0,85 ml, 4,10 mmol) durante 15 minutos a una solución a temperatura ambiente del compuesto 3 β -hidroxilo 50 (739 mg, 2,05 mmol), ZnN₆·2py (473 mg, 1,54 mmol), Ph₃P (1,075 g, 4,10 mmol) y tolueno (20 ml) en una atmósfera de argón. Después de 4 horas, la mezcla de reacción se cargó sobre una columna de gel de sílice rellenada en acetato de etilo al 10%/hexanos y eluyendo con acetato de etilo al 20%/hexanos para producir 743 mg (94%) del compuesto 51 en forma de una espuma blanca.

Síntesis del Compuesto 52

Se añadió hidruro de litio y aluminio (77 mg, 1,93 mmol) a una solución enfriada con hielo de la 3 α -azida 51 en 5 ml de THF y 5 ml de éter dietílico en una atmósfera de argón. La reacción se dejó calentar a temperatura ambiente. Después de 4 horas, la solución se enfrió en hielo, se diluyó con 25 ml de éter dietílico y se inactivó lentamente con 5 ml de una solución saturada de Na₂SO₄. Después de 10 minutos, se había formado un precipitado blanco y la solución se diluyó con 50 ml de acetato de etilo, se lavó con 3 x 10 ml de salmuera, se secó sobre MgSO₄, se filtró y se concentró. El material bruto se purificó usando una columna de gel de sílice preparada rellenando en Et₃N al 1%/CH₂Cl₂ y lavando con MeOH al 5%/CH₂Cl₂. El material bruto se cargó en CH₂Cl₂, eluyendo con MeOH al 5%/CH₂Cl₂ y después 95:5:2 de CH₂Cl₂:MeOH:Et₃N para dar 636 mg (92%) del compuesto 52 en forma de un sólido blanco.

30

Síntesis del Compuesto 53

Una solución de la 3 α -amina 52 (287 mg, 0,799 mmol) y 10 ml de ácido acético al 80% se calentó a 40°C durante 1 hora. La mezcla de reacción se concentró para dar una espuma blanca. Se añadió acetona (10 ml) y la solución se sonicó para disolver el material y después se evaporó. Se añadió otra porción de 10 ml de acetona, se sonicó y se evaporó para dar 301 mg (99%) del compuesto 53 en forma de un sólido blanco. LC/MS (infusión directa, electronebulización +ve, NH₄OAc 10 mM en 4:1 de agua y MeCN) 320,19; C₂₀H₃₄NO₂.

40

Síntesis del Compuesto 54

Una solución de HCl 4 M en dioxano se añadió a una solución de la amina 52 en 1 ml de acetonitrilo y 50 μ l de agua. El sólido gomoso resultante se diluyó con 2 ml de acetonitrilo y se agitó vigorosamente hasta que se formó un sólido. El sólido se filtró y se secó para dar 50 mg (63%) del compuesto 54. LC/MS (infusión directa, electronebulización +ve, NH₄OAc 10 mM en 4:1 de agua y MeCN) 320,19; C₂₀H₃₄NO₂.

50

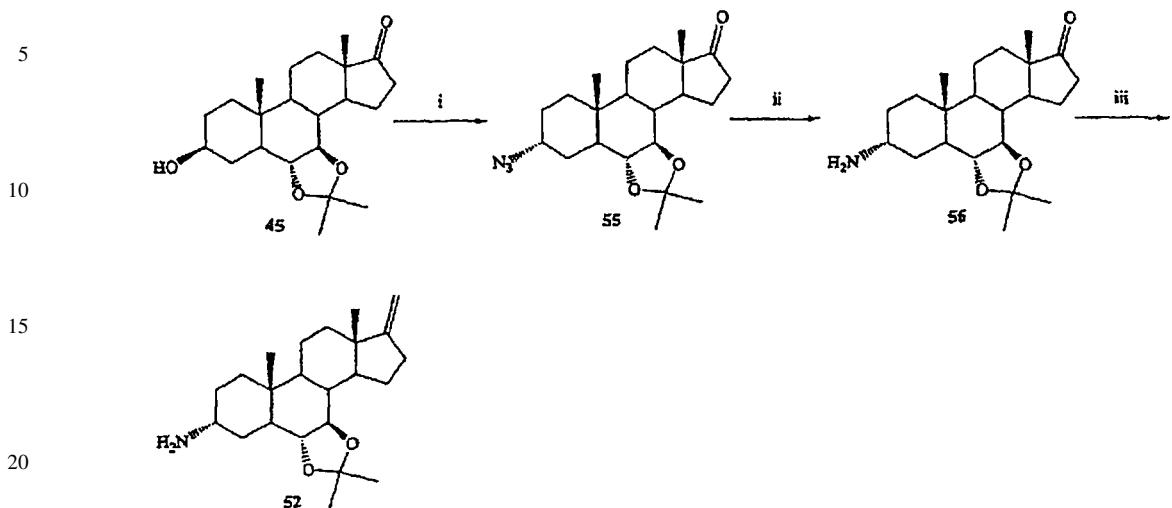
Esteroides 3-amino-6,7-dihidroxi-17-metilideno (síntesis alternativa)

El Intermedio 52 también se sintetizó por la ruta alternativa que se muestra en el Esquema 3. La azidación del alcohol 45 usando ZnN₆·2py, PPh₃ y DIAD en tolueno dio el compuesto 3 α -azido 55. La hidrogenación de la azida, usando Pd sobre carbono como catalizador dio la amina 56. La olefinación del compuesto 56 usando bromuro de metiltrifenilfosfonio y KOBu en THE dio el compuesto 17-metilideno 52.

60

65

Esquema 3



i) $\text{ZnN}_6 \cdot 2\text{py}$, Ph_3P , DIAD, tolueno; ii) H_2 , Pd, EtOAc; iii) $\text{CH}_3\text{PPh}_3\text{Br}$, $\text{KO}^\ddagger\text{Bu}$, THF.

Síntesis del Compuesto 55

30 Se añadió gota a gota DIAD (2,4 ml, 11,6 mmol) durante 20 minutos a una solución a temperatura ambiente del compuesto 3 β -hidroxilo 45 (2,108 g, 5,81 mmol), ZnN₅·2Py (1,34 g, 4,36 mmol), Ph₃P (3,05 g, 11,6 mmol) y tolueno (58 ml) en una atmósfera de argón. Después de que se dejara reaccionar durante una noche, la mezcla de reacción se cargó sobre una columna de gel de sílice eluyendo con acetato de etilo al 20%/hexanos para producir 1,14 g (50%) del compuesto 55 en forma de una espuma blanca.

Síntesis del Compuesto 56

Una solución de la azida 55 (1,10 g, 2,84 mmol), Pd al 10% sobre carbono (60 mg, 0,057 mmol) y 28 ml de acetato de etilo se agitó a temperatura ambiente durante una noche en una atmósfera de hidrógeno. La solución se filtró a través de celite eluyendo con acetato de etilo. La purificación por cromatografía radial eluyendo con 95:5:2 de $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH}:\text{Et}_3\text{N}$ dio 892 mg (81%) del compuesto 56 en forma de un sólido blanco.

Síntesis del Compuesto 57

45 Una solución de KO^tBu (175 mg, 1,48 mmol), MePPh₃Br (528 mg, 1,48 mmol) y 3 ml de THF se agitó a temperatura ambiente en una atmósfera de argón. Después de 1 hora, la cetona 56 (100 mg, 0,277 mmol) se añadió a la solución amarilla y la solución resultante se dejó en agitación a temperatura ambiente durante una noche. La reacción se interrumpió con 5 ml de agua, se diluyó con 50 ml de EtOAc, se separó, se lavó con 10 ml de salmuera, se secó sobre MgSO₄, se filtró y se concentró. La purificación por cromatografía radial eluyendo con 95:5:2 de CH₂Cl₂:MeOH:Et₃N produjo 96 mg (97%) del compuesto 52 en forma de un sólido blanco.

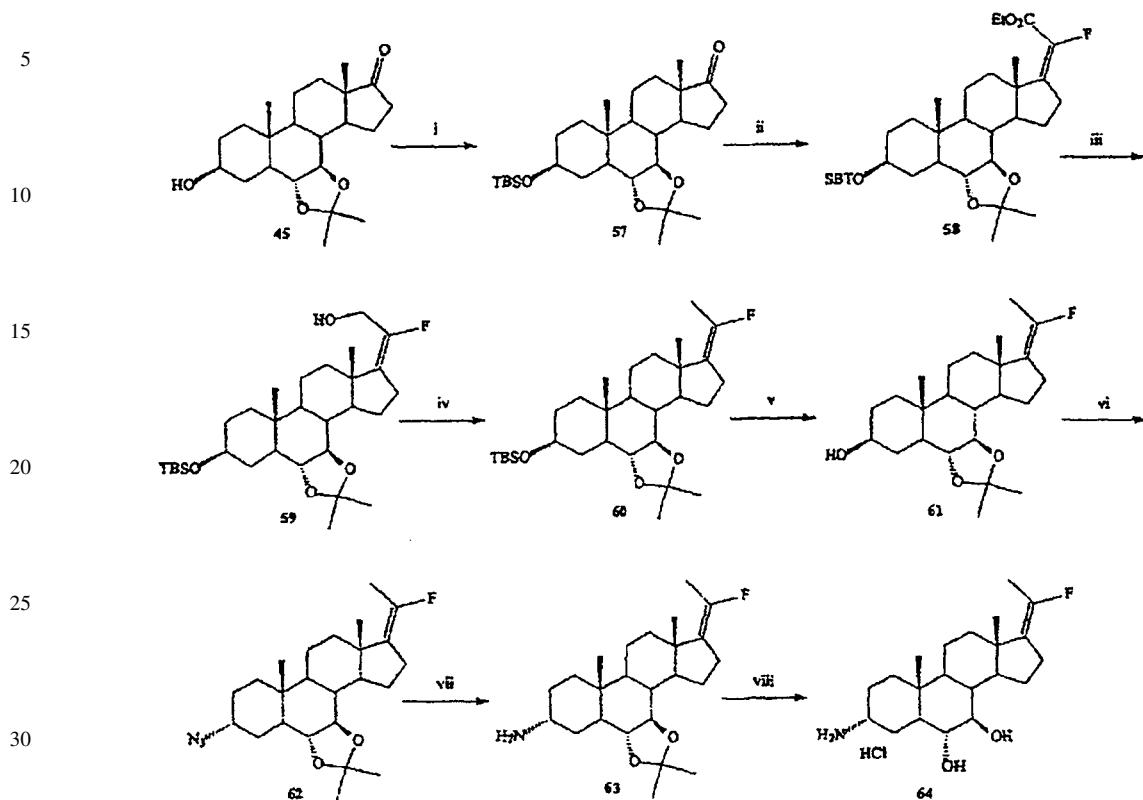
50

Ejemplo 4

Esteroide 3-amino-6,7-dihidroxi-17-fluoroetilideno

55 Pueden prepararse análogos halogenados relacionados con el compuesto 49 usando reactivos de olefinación halogenados. El Esquema 4 resume la síntesis del análogo 20-fluoro 64. El hidroxilo del compuesto 45 se protegió por tratamiento con cloruro de terc-butildimetilsililo e imidazol en dimetilformamida (DMF). La olefinación de la cetona 57 usando el anión de 2-fluoro-2-fosfonoacetato de trietilo da una mezcla del compuesto 58 y su isómero geométrico. 60 Los compuestos pueden separarse usando cromatografía sobre gel de sílice. La reducción con hidruro de litio y aluminio del éster en Et_2O dio el alcohol alílico 59. El tratamiento con complejo de trióxido de azufre y piridina en THF seguido de la adición de hidruro de litio y aluminio produce el compuesto deshidroxilado 60. El fluoruro de tetrabutilamonio en THF retira el grupo protector del 3-hidroxilo para dar el compuesto 61. La azidación usando $\text{ZnN}_6\cdot 2\text{py}$, PPh_3 y DIAD en tolueno dio el compuesto 3 α -azido 62 y la reducción con hidruro de litio y aluminio en THF dio la 65 3 α -amina 63. El tratamiento con HCl en THF y agua desprotegió los 6- y 7-hidroxilos y formó la sal de cloruro de amonio 64.

Esquema 4



i) TBSCl, imidazol, DMF; ii) $(\text{EtO})_2\text{P}(\text{O})\text{CHFCO}_2\text{Et}$, $\text{LiN}(\text{TMS})_2$, THF; iii) LiAlH_4 , Et_2O ; iv) $\text{SO}_3\cdot\text{Py}$, THF; LiAlH_4 ; v) Bu_4NF , THF; vi) $\text{ZnN}_6\cdot 2\text{Py}$, Ph_3P , DIAD, tolueno; vii) LiAlH_4 , Et_2O ; viii) HCl , THF, agua.

Síntesis del Compuesto 57

Una solución de la cetona 45 (4,73 g, 13,1 mmol), TBSCl (3,01 g, 19,6 mmol), imidazol (2,67 g, 39,2 mmol) y DMF (52 ml) se agitó a temperatura ambiente durante una noche. La suspensión blanca se diluyó con 250 ml de EtOAc, se lavó con 2 x 50 ml de agua y 50 ml de salmuera, se secó sobre MgSO_4 , se filtró y se concentró para dar 5,97 g (96%) del compuesto 57 en forma de un sólido blanco.

Síntesis del Compuesto 58

Se añadió bis(trimetilsilil)amida de litio (10,0 ml de una solución 1,0 M en THF, 10,0 mmol) a una solución a temperatura ambiente de $(\text{EtO})_2\text{P}(\text{O})\text{CHFCO}_2\text{Et}$ (2,65 g, 10,5 mmol) en THF (22 ml) en una atmósfera de argón. Después de 1 hora, se añadió una solución de la cetona 57 (2,50 g, 5,25 mmol) en THF (20 ml) y la solución resultante se calentó a reflujo durante 4,5 horas y después se agitó a temperatura ambiente durante una noche. La reacción se interrumpió con 1,5 ml de una solución saturada de NaHCO_3 y después se concentró parcialmente para retirar la mayor parte del THF. El residuo se diluyó con 200 ml de EtOAc, se lavó con 3 x 20 ml de salmuera, se secó sobre MgSO_4 , se filtró y se concentró. El material bruto se purificó por cromatografía en columna, eluyendo con EtOAc al 2,5% y después al 5%/hexanos para dar 1,50 g (50%) del compuesto 58 en forma de un sólido blanco.

Síntesis del Compuesto 59

Se añadió hidruro de litio y aluminio (106 mg, 2,66 mmol) a una solución enfriada con hielo del éster 58 (1,50 g, 2,66 mmol) en Et_2O (13 ml) en una atmósfera de argón. La solución se dejó calentar a temperatura ambiente. Después de 3 horas, la solución se enfrió en hielo y se añadieron lentamente 20 ml de una solución saturada de Na_2SO_4 . Después de 10 minutos, la solución se diluyó con 150 ml de EtOAc, se lavó con agua y salmuera, se secó sobre MgSO_4 , se filtró y se concentró para dar 1,44 g (cuantitativo) del compuesto 59 en forma de una espuma blanca.

Síntesis del Compuesto 60

Se añadió complejo de trióxido de azufre y piridina (69,5 mg, 0,428 mmol) a una solución enfriada con hielo del alcohol alílico 59 (149 mg, 0,285 mmol) en THF (2,8 ml) en una atmósfera de argón. Después de 6 horas, se añadió hidruro de litio y aluminio (68 mg, 1,71 mmol) y la solución se dejó calentar a temperatura ambiente durante una noche. La solución se enfrió en hielo y se añadieron lentamente 5 ml de una solución saturada de Na_2SO_4 . Después de 10 minutos, la solución se diluyó con 75 ml de EtOAc, se lavó con agua y salmuera, se secó sobre MgSO_4 , se filtró y se concentró para dar 109 mg (76%) del compuesto 60 en forma de un sólido blanco.

10

Síntesis del Compuesto 61

Una solución del compuesto 60 (410 mg, 0,810 mmol), Bu_4NF (0,89 ml de una solución 1,0 M en THF, 0,89 mmol) y THF (5 ml) se calentó a reflujo en una atmósfera de argón. Después de 1,5 horas, la solución se enfrió a temperatura ambiente, se diluyó con 75 ml de EtOAc, se lavó con 20 ml de agua y 2 x 20 ml de salmuera, se secó sobre MgSO_4 , se filtró y se concentró. El residuo se filtró a través de gel de sílice eluyendo con EtOAc y se concentró para dar 318 mg (100%) del compuesto 61 en forma de un sólido blanco,

20

Síntesis del Compuesto 62

Se añadió gota a gota DIAD (0,33 ml, 1,59 mmol) durante 10 minutos a una solución a temperatura ambiente del 3β -alcohol 61 (312 mg, 0,796 mmol), $\text{ZnN}_6\cdot2\text{py}$ (183 mg, 0,597 mmol), Ph_3P (417 mg, 1,59 mmol) y tolueno (8,0 ml) en una atmósfera de argón. Después de 3 horas, la mezcla de reacción se cargó sobre una columna de gel de sílice rellenada en EtOAc al 10%/hexanos y eluyendo con EtOAc al 20%/hexanos para producir 322 mg (97%) del compuesto 62 en forma de un sólido cristalino.

30

Síntesis del Compuesto 63

Se añadió hidruro de litio y aluminio (29 mg, 0,75 mmol) a una solución enfriada con hielo de la azida 62 (314 mg, 0,753 mmol) en 7,5 ml de Et_2O en una atmósfera de argón. La reacción se dejó calentar a temperatura ambiente mientras se agitaba durante una noche. La solución se enfrió en hielo y se inactivó lentamente con 10 ml de una solución saturada de Na_2SO_4 . Después de 10 minutos, se había formado un precipitado blanco y la solución se diluyó con 75 ml de EtOAc, se lavó con 20 ml de agua y 2 x 20 ml de salmuera, se secó sobre MgSO_4 , se filtró y se concentró. El material bruto se purificó usando una columna de gel de sílice preparada rellenando en Et_3N al 1%/CH₂Cl₂ y lavando con MeOH al 5%/CH₂Cl₂. El material bruto se cargó en CH₂Cl₂, eluyendo con MeOH al 5%/CH₂Cl₂ y después 95:5:2 de CH₂Cl₂:MeOH: Et_3N para dar un sólido blanco. El análisis por ¹H RMN indicó que el material contenía una cantidad traza de Et_3N , por lo que el material se recogió en 75 ml de CH₂Cl₂ y se lavó con 2 x 25 ml de agua, se secó sobre MgSO_4 , se filtró y se concentró para dar 137 mg (47%) del compuesto 63 en forma de una película incolora.

Síntesis del Compuesto 64

Una solución del compuesto 3α -amino 63 (137 mg, 0,35 mmol), HCl 4 M en dioxano (105 μl , 0,42 mmol), THF (5,6 ml) y agua (1,4 ml) se agitó a temperatura ambiente durante una noche. La solución se concentró, el residuo se recogió dos veces en 3 ml de metanol y se concentró para dar 130 mg (96%) del compuesto 64 en forma de un sólido blanquecino. LC/MS (infusión directa, electronebulización +ve, NH_4OAc 10 mM en 4:1 de agua y MeCN) 352,14; $\text{C}_{21}\text{H}_{35}\text{FNO}_2$.

50

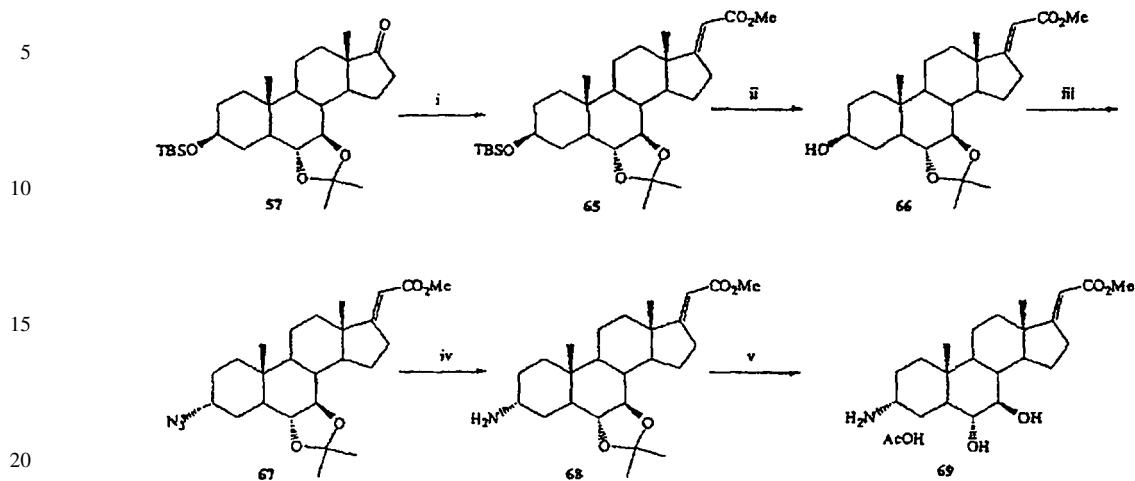
*Ejemplo 5**Esteroide 3α -amino-6,7-dihidroxi-17-carbometoxietilideno*

55

La olefinación de compuestos relacionados con el compuesto 57 también puede realizarse para generar análogos 21-carboalcoxi sustituidos. El Esquema 5 muestra la síntesis del compuesto de ejemplo 21-carbometoxi sustituido 69. La olefinación de la cetona 57 usando el anión de 2-fosfonacetato de trimetilo da una mezcla del compuesto 65 y su isómero geométrico. Los compuestos pueden separarse usando cromatografía sobre gel de sílice. El fluoruro de tetrabutilamonio en THF retira el grupo protector del 3-hidroxilo para dar el compuesto 66. La azidación usando $\text{ZnN}_6\cdot2\text{py}$, PPh_3 y DIAD en tolueno dio el compuesto 3α -azido 67. La hidrogenación de la azida, usando Pd sobre carbono como catalizador dio la 3α -amina 68. El tratamiento con ácido acético al 80% desprotegió los 6- y 7-hidroxilos y formó la sal acetato de amonio 69.

65

Esquema 5



i) $(\text{MeO})_2\text{P}(\text{O})\text{CHFCO}_2\text{Me}$, $\text{LiN}(\text{TMS})_2$, THF; ii) Bu_4NF , THF; iii) $\text{ZBN}_6 \cdot 2\text{Py}$, Ph_3P , DIAD, tolueno; iv) H_2 , Pd, EtOAc ; v) ácido acético al 80%.

Síntesis del Compuesto 65

30 Se añadió bis(trimetilsilil)amida de litio (2,00 ml de una solución 1,0 M en THF, 2,00 mmol) a una solución a temperatura ambiente de $(\text{MeO})_2\text{P}(\text{O})\text{CH}_2\text{CO}_2\text{Me}$ (390 mg, 2,10 mmol) en THF (22 ml) en una atmósfera de argón. Despues de 3 horas, se añadió una solución de la cetona 57 (509 mg, 1,07 mmol) en THF (2 ml) y la solución resultante se calentó a reflujo durante 3 días. La reacción se interrumpió con 5 ml de agua, se diluyó con 75 ml de EtOAc, se lavó con 2 x 15 ml de salmuera, se secó sobre MgSO_4 , se filtró y se concentró. El material bruto se purificó por cromatografía en columna, eluyendo con EtOAc al 5%/hexanos para dar 307 mg (54%) del compuesto 65 en forma de una película incolora. También se aislaron 119 mg (21%) del isómero Z.

Síntesis del Compuesto 66

40 Una solución del compuesto 65 (296 mg, 0,550 mmol), Bu₄NF (0,61 ml de una solución 1,0 M en THF, 0,61 mmol) y THF (3 ml) se calentó a reflujo en una atmósfera de argón. Después de 1 hora, la solución se enfrió a temperatura ambiente, se diluyó con 20 ml de EtOAc, se lavó con 10 ml de agua y 2 x 10 ml de salmuera, se secó sobre MgSO₄, se filtró y se concentró para dar 230 mg (100%) del compuesto 66 en forma de un sólido blanco.

Síntesis del Compuesto 67

50 Se añadió gota a gota DIAD (252 μ l, 1,28 mmol) a una solución a temperatura ambiente del 3β -alcohol 66 (230 mg, 0,55 mmol), $ZnN_6\cdot2py$ (147 mg, 0,48 mmol), Ph_3P (335 mg, 1,28 mmol) y tolueno (6,4 ml) en una atmósfera de argón. Después de 2 horas, la mezcla de reacción se purificó por cromatografía radial, eluyendo con EtOAc al 15%/hexanos para producir 203 mg (84%) del compuesto 67.

55 *Síntesis del Compuesto 68*

Una solución de la azida 67 (203 mg, 0,45 mmol), Pd al 10% sobre carbono (48 mg, 0,045 mmol) y 4,5 ml de EtOAc se agitó a temperatura ambiente en una atmósfera de hidrógeno durante 3 días. La solución se filtró a través de celite eluyendo con EtOAc y MeOH para dar 165 mg (88%) del compuesto 68.

Síntesis del Compuesto 69

Una solución de la amina 68 (165 mg, 0,40 mmol) y 2 ml de ácido acético al 80% se calentó a 40°C durante 1 hora. La mezcla de reacción se diluyó con 10 ml de tolueno y después se concentró para retirar el ácido acético residual. La trituración del residuo en 10 ml de ciclohexano, seguido de filtración y secado dio 117 mg (67%) del compuesto 69 en forma de un sólido blanco. LC/MS (infusión directa, electronebulización +ve, NH₄OAc 10 mM en 4:1 de agua y MeCN) 378,17; C₂₂H₃₆NO₄.

Ejemplo 6

Sal del ácido acético de 3 α -amino-6 α ,7 β -dihidroxiandrostan-17-ona

5 Puede usarse metodología análoga para obtener compuestos con funcionalidades diferentes en C17. Por ejemplo, un compuesto sustituido con 17-cetona se obtiene por tratamiento del compuesto 56 con ácido acético al 80% para dar la sal del ácido acético de 3 α -amino-6 α ,7 β -dihidroxiandrostan-17-ona (70) (véase la Tabla 2).

10 *Síntesis del Compuesto 70*

Una solución de la cetona 56 (67 mg, 0,16 mmol) y 1 ml de ácido acético al 80% se calentó a 40°C durante 1 hora. La mezcla de reacción se diluyó con 10 ml de tolueno y después se concentró para dar 63 mg (100%) del compuesto 70. LC/MS (infusión directa, electronebulización +ve, NH₄OAc 10 mM en 4:1 de agua y MeCN) 322,18; C₁₉H₃₂NO₃.

15

Ejemplo 7

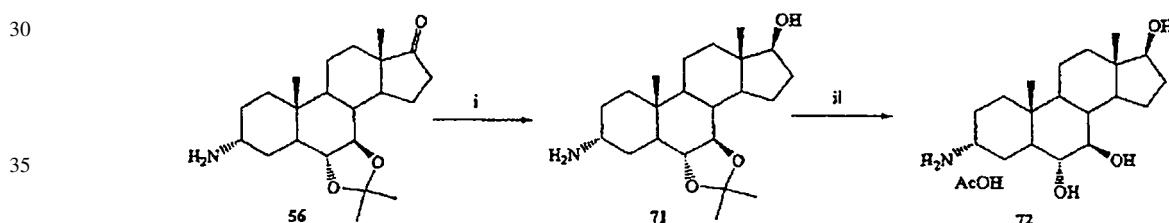
Esteroides 3-amino-6,7-dihidroxi-17-hidroxi

20

Pueden prepararse análogos sustituidos con 17-hidroxilo a partir de cetonas relacionadas con el compuesto 56 como se muestra en el Esquema 6. El carbonilo del compuesto 56 se redujo con NaBH₄ en metanol para dar exclusivamente el isómero 17 β -hidroxilo 71. El tratamiento con ácido acético al 80% retiró el grupo protector de acetonida y formó la sal de acetato de amonio 72.

25

Esquema 6



i) NaBH₄, MeOH; ii) ácido acético al 80%.

40

Síntesis del Compuesto 71

45 Una solución enfriada con hielo de la cetona 56 (100 mg, 0,28 mmol), NaBH₄ (16 mg, 0,41 mmol) y 1,4 ml de MeOH se dejó reaccionar durante 2,5 horas. La reacción se interrumpió mediante la adición de 1 ml de agua y se concentró para retirar la mayor parte del MeOH. El residuo se diluyó con 40 ml de CH₂Cl₂ y se lavó con 2 x 10 ml de salmuera, se secó sobre MgSO₄, se filtró y se concentró para dar 90 mg (90%) del compuesto 71.

50

Síntesis del Compuesto 72

Una solución de la amina 71 (90 mg, 0,25 mmol) y 2 ml de ácido acético al 80% se calentó a 40°C durante 2 horas. La mezcla de reacción se diluyó dos veces con 10 ml de tolueno y se concentró para retirar el ácido acético residual. El residuo se disolvió en 1 ml de MeOH y 5 ml de hexanos, se concentró y se secó para dar 86 mg (90%) del compuesto 72 en forma de un sólido blanco. LC/MS (infusión directa, electronebulización +ve, NH₄OAc 10 mM en 4:1 de agua y MeCN) 324,19; C₁₉H₃₄NO₃.

60 Ejemplo 8

Sales de esteroide 3 α -amino-6,7-dihidroxi-17-metilideno

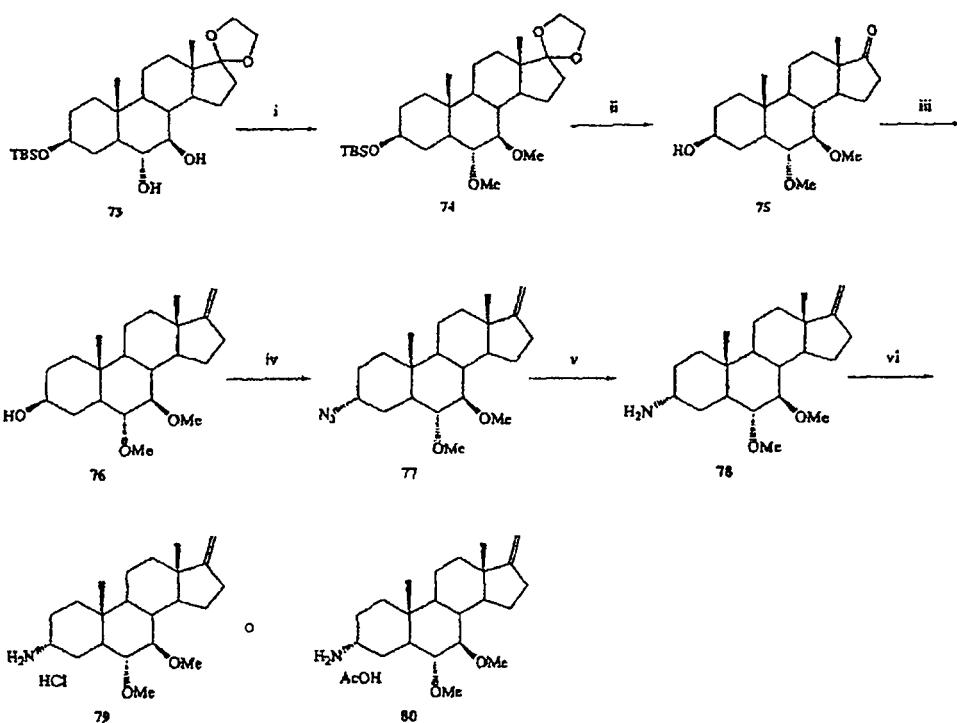
65 Los 6- y 7-hidroxilos pueden prepararse usando una diversidad de grupos protectores. Los grupos protectores adecuados se muestran en Greene y Wuts, "Protective Groups in Organic Synthesis", John Wiley & Sons, New York, N.Y. (1999). El Esquema 7 muestra ejemplos de análogos que se han sintetizado con los 6- y 7-hidroxilos protegidos en forma de éteres metílicos. El material de partida compuesto 73 para la síntesis se describe en la Patente de Estados Unidos 6.046.185. La generación del dianión del compuesto 73 usando NaH en dimetilformamida seguido de alquila-

ción con yoduro de metilo dio el compuesto 74. El tratamiento con ácido acético al 80% retiró los grupos protectores del cetal cíclico de terc-butildimetilsilil éter. La olefinación del compuesto 75 usando bromuro de metiltrifenilfosfonio y KO^tBu en THF dio el compuesto 17-metilideno 76. La azidación usando ZnN₆·2py, PPh₃ y DIAD en tolueno dio el compuesto 3 α -azido 77 y la reducción con hidruro de litio y aluminio en THF dio la 3 α -amina 78. El tratamiento con 5 HCl en Et₂O y MeOH formó la sal de cloruro de amonio 79. El tratamiento del compuesto 78 con ácido acético formó la sal de acetato de amonio 80.

Esquema 7

10

15



i) NaH, MeI, DMF; ii) ácido acético al 80%; iii) CH₃PPh₃Br, KO^tBu, THF; iv) ZnN₆·2Py, Ph₃P, DIAD, tolueno; v) LiAlH₄, Et₂O; vi) HCl, Et₂O, MeOH; o ácido acético.

45

Síntesis del Compuesto 74

Se añadió hidruro sódico (0,50 g, 12,4 mmol) a una solución a temperatura ambiente del diol 73 (1,49 g, 3,10 mmol) en 15 ml de DMF en una atmósfera de nitrógeno. Después de 2 horas, la solución se enfrió en hielo y se añadió 50 gota a gota MeI (1,93 ml, 30,9 mmol) durante 30 segundos. La reacción se dejó calentar a temperatura ambiente mientras se agitaba durante una noche. La mezcla de reacción se diluyó con 100 ml de Et₂O, se lavó con 10 ml de agua y 2 x 10 ml de salmuera, se secó sobre MgSO₄, se filtró y se concentró para dar 1,73 g del compuesto bruto 74 en forma de un aceite amarillo pálido.

55

Síntesis del Compuesto 75

Una solución del compuesto bruto 74 (1,73 g, 3,10 mmol) y 15 ml de ácido acético al 80% se agitó a temperatura ambiente durante 4 horas. La solución se concentró, el residuo se recogió en 50 ml de EtOAc, se lavó con 2 x 20 ml de una solución saturada de NaHCO₃ y 2 x 10 ml de salmuera, se secó sobre MgSO₄, se filtró y se concentró para dar 1,18 g del compuesto bruto 75 en forma de una espuma blanca.

Síntesis del Compuesto 76

Una solución de KO^tBu (1,09 g, 9,20 mmol), MePPh₃Br (3,30 g, 9,20 mmol) y 15 ml de THF se agitó a temperatura ambiente en una atmósfera de nitrógeno. Después de 2 horas, a la solución amarilla se le añadió la cetona bruta 75 (1,17 mg, 3,08 mmol) y la solución resultante se dejó en agitación a temperatura ambiente durante una noche. La

ES 2 282 247 T3

reacción se interrumpió con 2 ml de agua, se diluyó con 100 ml de EtOAc, se lavó con 3 x 10 ml de salmuera, se secó sobre MgSO₄, se filtró y se concentró. La cromatografía en columna eluyendo con EtOAc al 80%/hexanos produjo 890 mg del compuesto impuro 76 en forma de un sólido blanco.

5

Síntesis del Compuesto 77

Se añadió gota a gota DIAD (1,05 ml, 5,08 mmol) durante 10 minutos a una solución a temperatura ambiente del 3 β -alcohol 76 (885 mg, 2,54 mmol), ZnN₆·2py (585 mg, 1,90 mmol), Ph₃P (1,33 g, 5,08 mmol) y tolueno (25 ml) en una atmósfera de argón. Después de 11 horas, la mezcla de reacción se purificó por cromatografía en columna eluyendo con EtOAc al 15%/hexanos para producir 594 mg (63%) del compuesto 77 en forma de un sólido cristalino.

Síntesis del Compuesto 78

15

Se añadió hidruro de litio y aluminio (0,79 ml de una solución 1 M en Et₂O, 0,79 mmol) a una solución enfriada con hielo de la azida 77 (588 mg, 1,57 mmol) en 15,7 ml de Et₂O en una atmósfera de argón. Después de 10 minutos, la reacción se dejó calentar a temperatura ambiente mientras se agitaba durante una noche. Después de 1 hora, la mezcla de reacción se enfrió en hielo y se inactivó lentamente con 10 ml de una solución saturada de Na₂SO₄. Después de 20 10 minutos, se había formado un precipitado blanco y el líquido se retiró por decantación. El residuo se lavó con 2 x 25 ml de EtOAc y los lavados se combinaron con la solución de éter decantada previamente. La solución se lavó con 3 x 10 ml de salmuera, se secó sobre MgSO₄, se filtró y se concentró. La purificación por cromatografía en columna eluyendo con 95:5:2 de CH₂Cl₂:MeOH:Et₃N dio 434 mg (79%) del compuesto 78 en forma de un sólido blanco. LC/MS (infusión directa, electronebulización +ve, NH₄OAc 10 mM en 4:1 de agua y MeCN) 348,20; C₂₂H₃₈NO₂.

25

Síntesis del Compuesto 79

Se añadió cloruro de hidrógeno (0,26 ml de una solución 1,0 M en Et₂O, 0,26 mmol) a una solución de la amina 78 (60 mg, 0,17 mmol) en 2 ml de Et₂O. El material de tipo gel resultante se disolvió en 5 ml de metanol y se concentró. El residuo se disolvió en 1 ml de metanol, se diluyó con 5 ml de ciclohexano y se concentró para dar 66 mg (100%) del compuesto 79 en forma de un sólido blanco. LC/MS (infusión directa, electronebulización +ve, NH₄OAc 10 mM en 4:1 de agua y MeCN) 348,20; C₂₂H₃₈NO₂.

35

Síntesis del Compuesto 80

Una solución de la amina 78 (61 mg, 0,17 mmol) y 1 ml de ácido acético se dejó en reposo a temperatura ambiente durante 30 minutos. La solución se diluyó con 5 ml de tolueno y se concentró. El residuo se recogió en 5 ml de hexanos, se concentró y el residuo se secó durante 2 horas usando un aparato de secado Abderhalden con acetona a la temperatura de reflujo para dar 71 mg (100%) del compuesto 80 en forma de un sólido blanco. LC/MS (infusión directa, electronebulización +ve, NH₄OAc 10 mM en 4:1 de agua y MeCN) 348,20; C₂₂H₃₈NO₂.

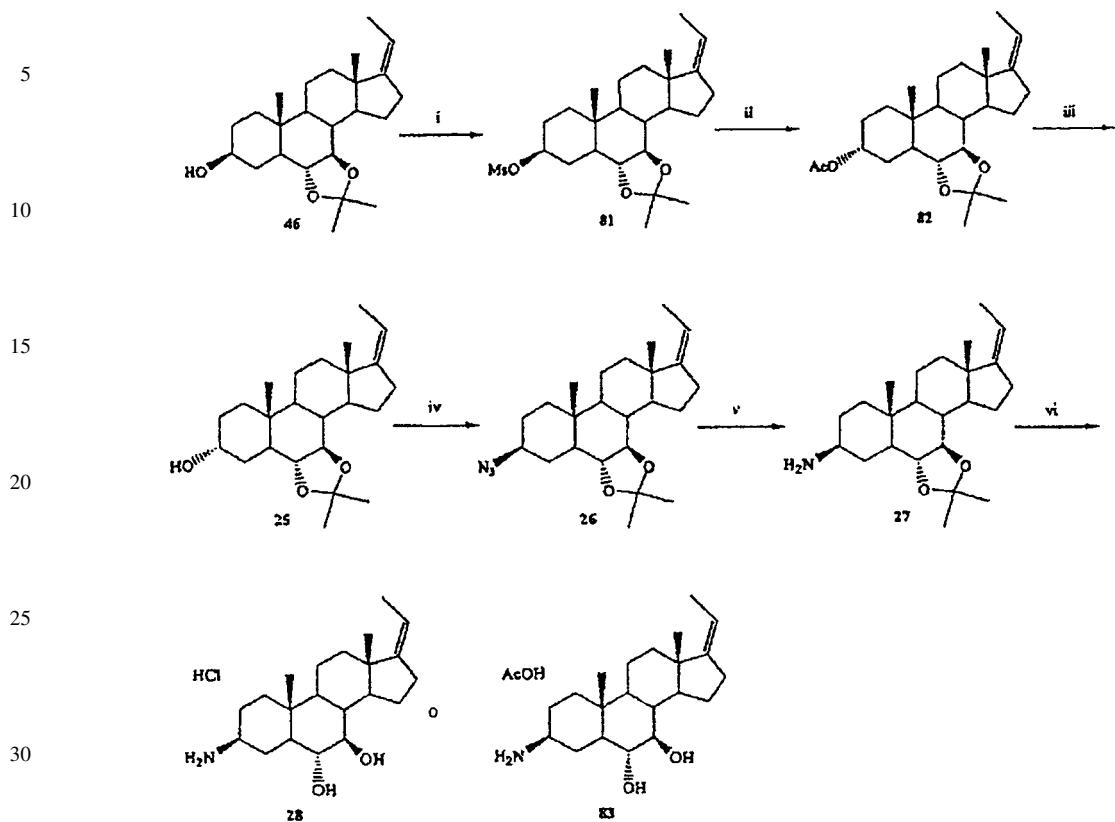
45 Ejemplo 9

Sales de esteroide 3 β -amino-6,7-dihidroxi-17-metilideno

La estereoquímica en C3 puede invertirse para dar derivados de sal de 3 β -amonio de cualquier número de compuestos relacionados con el compuesto 49. La estereoquímica en C3 puede invertirse en 3 etapas sintéticas como se muestra en el Esquema 8 para la síntesis de los compuestos 28 y 83. El compuesto 3 β -hidroxilo 46 se convierte en el 3 β -mesilato 81 usando cloruro de metanosulfonilo y piridina. El calentamiento del compuesto 81 y acetato de cesio en DMF a 100°C da el compuesto 3 α -acetato 82. La secuencia de inversión se contempla por metanolísisis del acetato del compuesto 82 usando metóxido sódico para dar el compuesto 3 α -hidroxilo 25. El tratamiento del compuesto 25 con ZnN₆·2py, trifenilfosfina y DIAD en tolueno produjo el compuesto 3 β -azido 26. La reducción con hidruro de litio y aluminio de la azida en Et₂O proporcionó el compuesto 3 β -amino 27. El tratamiento con HCl en THF y agua retira el grupo acetona y forma la sal de cloruro de amonio 28. Análogamente, el tratamiento del compuesto 27 con ácido acético al 80% retira el grupo acetona y forma la sal de acetato de amonio 83. Usando los métodos resumidos en el Esquema 8, el compuesto 50 se convierte en el compuesto 89 y el compuesto 61 se convierte en el compuesto 95 (véase la Tabla 1). Los compuestos 26, 27, 87, 88, 89, 93, 94 y 95 son ejemplos de compuestos de la invención que tienen estereoquímica 3 β .

65

Esquema 8



i) MsCl, piridina; ii) CsOAc, DMF, 100°C; iii) NaOMe, MeOH; iv) ZnN₆·2py, Ph₃P, DIAD, tolueno; v) LiAlH₄, Et₂O; vi) HCl 4 M en dioxano, THF, agua o ácido acético al 80%.

40 *Síntesis del Compuesto 81*

45 Se añadió cloruro de metanosulfonilo (1,2 ml, 16 mmol) a una solución enfriada con hielo del compuesto 3B-hidroxilo 46 (3,0 g, 8,0 mmol) en piridina (20 ml) en una atmósfera de argón. Después de 4 horas, la solución se enfrió en hielo y se añadieron 20 ml de una solución saturada de NaHCO_3 . Después de 15 minutos, la solución se diluyó con 150 ml de EtOAc , se lavó con 3 x 25 ml de salmuera, se secó sobre MgSO_4 , se filtró y se concentró para dar 3,6 g (100%) del compuesto 81 en forma de una espuma blanquecina.

Síntesis del Compuesto 82

50 Una solución del mesilato 81 (3,6 g, 8,0 mmol), acetato de cesio (4,6 g, 24 mmol) y 40 ml de DMF se calentó a 100°C durante 24 horas. La solución se diluyó con 100 ml de agua, se extrajo con 2 x 100 ml de Et_2O , se lavó con 2 x 50 ml de salmuera, se secó sobre MgSO_4 , se filtró y se concentró para dar aproximadamente 3 g del compuesto bruto 82.

Síntesis del Compuesto 25

55 Una solución de Na (398 mg, 17,3 mmol) en MeOH (21,5 ml) se añadió al 3α -acetato 82 (1,8 g, 4,3 mmol) en THF (10 ml). Después de 2 horas, se añadieron 20 ml de agua y la solución resultante se diluyó con 100 ml de EtOAc, se lavó consecutivamente con una solución saturada de NaHCO₃, agua y salmuera, se secó sobre MgSO₄, se filtró y se concentró para dar 1,58 g (98%) del compuesto bruto 25 en forma de una espuma amarilla.

Síntesis del Compuesto 26

65 Se añadió gota a gota DIAD (1,70 ml, 8,24 mmol) durante 10 minutos a una solución a temperatura ambiente del 3 α -alcohol 25 (1,54 g, 4,12 mmol), ZnN₆·2py (0,94 g, 3,09 mmol), Ph₃P (2,16 g, 8,24 mmol) y tolueno (44 ml) en una atmósfera de argón. Después de agitar durante una noche, la mezcla de reacción se cargó sobre una columna de gel de sílice rellena en EtOAc al 10%/hexanos y eluyendo con EtOAc al 10%/hexanos para producir 0,89 g (61%) del compuesto 26 en forma de un sólido blanco.

Síntesis del Compuesto 27

Se añadió hidruro de litio y aluminio (146 mg, 3,66 mmol) a una solución enfriada con hielo de la azida 26 (1,46 g, 3,66 mmol) en 18,3 ml de Et₂O en una atmósfera de argón. La reacción se dejó calentar a temperatura ambiente.

5 Despues de 1,5 horas, la solución se enfrió en hielo, se diluyó con 25 ml de Et₂O y se inactivó lentamente con 20 ml de una solución saturada de Na₂SO₄. Despues de 10 minutos, se había formado un precipitado blanco y la solución se diluyó con 50 ml de EtOAc, se lavó con 3 x 10 ml de salmuera, se secó sobre MgSO₄, se filtró y se concentró para dar 1,31 g (96%) del compuesto 27 en forma de una espuma blanca.

10 *Síntesis del Compuesto 28*

Una solución del compuesto 3β-amino 27 (227 mg, 0,609 mmol), HCl 4 M en dioxano (183 µl, 0,73 mmol), THF (9,7 ml) y agua (2,4 ml) se agitó a temperatura ambiente durante una noche. El THF y el agua se evaporaron y el residuo se recogió en 5 ml de metanol, se concentró, se trituró con 5 ml de acetona y se concentró para dar 224 mg (100%) del compuesto 28 en forma de un sólido blanco. LC/MS (infusión directa, electronebulización +ve, NH₄OAc 10 mM en 4:1 de agua y MeCN) 334,10; C₂₁H₃₆NO₂.

Síntesis del Compuesto 83

20 Una solución de la amina 27 (412 mg, 1,10 mmol) y 5 ml de ácido acético al 80% se agitó a temperatura ambiente durante 4 horas. La mezcla de reacción se diluyó con 5 ml de tolueno y después se concentró. El residuo se recogió dos veces más en porciones de 5 ml de tolueno y se concentró para retirar el ácido acético residual. El residuo se trituró dos veces en 10 ml de CH₂Cl₂ y se concentró para dar 430 mg (99%) del compuesto 83 en forma de un sólido blanco. LC/MS (infusión directa, electronebulización +ve, NH₄OAc 10 mM en 4:1 de agua y MeCN) 334,19; C₂₁H₃₆NO₂.

25 *Síntesis del Compuesto 84*

30 Se añadió cloruro de metanosulfonilo (0,33 ml, 4,2 mmol) a una solución enfriada con hielo del compuesto 3β-hidroxilo 50 (754 mg, 2,09 mmol) en piridina (5,3 ml) en una atmósfera de argón. Despues de 4 horas, la solución se enfrió en hielo y se añadieron 5 ml de una solución saturada de NaHCO₃. Despues de 15 minutos, la solución se diluyó con 60 ml de acetato de etilo y se lavó con 3 veces con salmuera, se secó sobre MgSO₄, se filtró y se concentró para dar 860 mg (94%) del compuesto 84 en forma de un sólido blanquecino.

Síntesis del Compuesto 85

35 Una solución del mesilato 84 (860 mg, 1,96 mmol), acetato de cesio (1,13 g, 5,88 mmol) y 10 ml de DMF se calentó a 95°C durante 32 horas. La solución se diluyó con 50 ml de agua, se extrajo con 2 x 100 ml de Et₂O, se lavó con 2 x 30 ml de salmuera, se secó sobre MgSO₄, se filtró y se concentró. La purificación por cromatografía en columna eluyendo con EtOAc al 5% y al 8%/Hexanos produjo 558 mg (71%) del compuesto 85 en forma de un sólido blanco.

Síntesis del Compuesto 86

40 Una solución de Na (128 mg, 5,56 mmol) en MeOH (7 ml) se añadió al 3α-acetato 85 (558 mg, 1,38 mmol). Despues de 2 horas, se añadieron 5 ml de una solución saturada de NaHCO₃ y la solución resultante se diluyó con 100 ml de EtOAc. La solución se lavó con 2 x 20 ml de agua y 2 x 20 ml de salmuera, se secó sobre MgSO₄, se filtró y se concentró para dar 491 mg (99%) del compuesto 86 en forma de un sólido blanco.

Síntesis del Compuesto 87

45 Se añadió gota a gota DIAD (0,57 ml, 2,74 mmol) durante 15 minutos a una solución a temperatura ambiente del compuesto 3α-hidroxi 86 (493 mg, 1,37 mmol), ZnN₆·2py (315 mg, 1,03 mmol), Ph₃P (718 mg, 2,74 mmol) y tolueno (13,7 ml) en una atmósfera de argón. Despues de 3,5 horas, la mezcla de reacción se cargó sobre una columna de gel de sílice rellena en acetato de etilo al 10%/hexanos y eluyendo con acetato de etilo al 10%/hexanos para producir 55 390 mg (74%) del compuesto 87 en forma de un aceite viscoso.

Síntesis del Compuesto 88

50 Se añadió hidruro de litio y aluminio (40 mg, 1,01 mmol) a una solución enfriada con hielo del compuesto azido 87 (390 mg, 1,01 mmol) en 5 ml de éter dietílico en una atmósfera de argón. La reacción se dejó calentar a temperatura ambiente. Despues de 2 horas, la solución se enfrió en hielo, se diluyó con 25 ml de éter dietílico y se inactivó lentamente con 2 ml de una solución saturada de Na₂SO₄. Despues de 10 minutos, se había formado un precipitado blanco y la solución se diluyó con 40 ml de acetato de etilo, se lavó con 3 x 15 ml de salmuera, se secó sobre MgSO₄, se filtró y se concentró. El material bruto se purificó usando una columna de gel de sílice preparada rellenando en Et₃N al 1%/CH₂Cl₂ y lavando con MeOH al 5%/CH₂Cl₂. El material bruto se cargó en CH₂Cl₂, eluyendo con MeOH al 5%/CH₂Cl₂ y despues 95:5:2 de CH₂Cl₂:MeOH:Et₃N para dar 277 mg (76%) del compuesto 88 en forma de un sólido blanco.

Síntesis del Compuesto 89

Una solución del compuesto amino 88 (270 mg, 0,752 mmol) y 10 ml de ácido acético al 80% se calentó a 40°C durante 1 hora. La mezcla de reacción se concentró para dar una espuma blanca. Se añadió acetona (10 ml), se sonicó para disolver el material y después se evaporó. Se añadió otra porción de 10 ml de acetona, se sonicó y se evaporó para dar 285 mg (100%) del compuesto 89 en forma de un sólido blanco. LC/MS (infusión directa, electronebulización +ve, NH₄OAc 10 mM en 4:1 de agua y MeCN) 320,26; C₂₀H₃₄NO₂.

Síntesis del Compuesto 90

Se añadió cloruro de metanosulfonilo (0,20 ml, 2,56 mmol) a una solución enfriada con hielo del compuesto 3 β -hidroxilo 61 (501 mg, 1,28 mmol) en piridina (3,2 ml) en una atmósfera de argón. Después de 4 horas, la solución se enfrió en hielo y se añadieron 5 ml de una solución saturada de NaHCO₃. Después de 15 minutos, la solución se diluyó con 50 ml de EtOAc y se lavó 3 veces con salmuera, se secó sobre MgSO₄, se filtró y se concentró para dar 590 mg (98%) del compuesto 90 en forma de una espuma blanca.

Síntesis del Compuesto 91

Una solución del mesilato 90 (590 mg, 1,25 mmol), acetato de cesio (722 mg, 3,76 mmol) y 6,2 ml de DMF se calentó a 100°C durante 24 horas. La solución se diluyó con 50 ml de agua, se extrajo con 2 x 50 ml de Et₂O, se lavó con 2 x 30 ml de salmuera, se secó sobre MgSO₄, se filtró y se concentró. La purificación por cromatografía en columna eluyendo con EtOAc al 8%/hexanos produjo 297 mg (55%) del compuesto 91 en forma de un sólido blanco.

Síntesis del Compuesto 92

Una solución de Na (63 mg, 2,7 mmol) en MeOH (3,4 ml) se añadió al 3 α -acetato 91 (297 mg, 0,684 mmol) en THE (1 ml). La solución se agitó durante una noche, se añadieron 5 ml de agua y 80 ml de EtOAc y la mezcla se lavó dos veces con agua y dos veces con salmuera, se secó sobre MgSO₄, se filtró y se concentró para dar 251 mg (94%) del compuesto 92 en forma de un sólido blanco.

Síntesis del Compuesto 93

Se añadió gota a gota DIAD (0,26 ml, 1,24 mmol) durante 10 minutos a una solución a temperatura ambiente del 3 α -alcohol 92 (243 mg, 0,620 mmol), ZnN₆·2py (143 mg, 0,465 mmol), Ph₃P (325 mg, 1,24 mmol) y tolueno (6,2 ml) en una atmósfera de argón. Después de 4 horas, la mezcla de reacción se cargó sobre una columna de gel de sílice rellenada en EtOAc al 10%/hexanos y eluyendo con EtOAc al 20%/hexanos para producir 209 mg del compuesto impuro 93 en forma de un aceite amarillo.

Síntesis del Compuesto 94

Se añadió hidruro de litio y aluminio (20 mg, 0,50 mmol) a una solución enfriada con hielo de la azida impura 93 (209 mg, 0,50 mmol) en 5 ml de Et₂O en una atmósfera de argón. La reacción se dejó calentar a temperatura ambiente. Después de 4 horas, la solución se enfrió en hielo, se diluyó con 25 ml de Et₂O y se inactivó lentamente con 2 ml de una solución saturada de Na₂SO₄. Después de 10 minutos, se había formado un precipitado blanco y la solución se diluyó con 50 ml de EtOAc, se lavó con 3 x 10 ml de salmuera, se secó sobre MgSO₄, se filtró y se concentró. El material bruto se cromatógrafió usando una columna de gel de sílice preparada rellenando en Et₃N al 1%/CH₂Cl₂ y lavando con MeOH al 5%/CH₂Cl₂. El material bruto se cargó en CH₂Cl₂, eluyendo con MeOH al 5%/CH₂Cl₂ y después 95:5:2 de CH₂Cl₂:MeOH:Et₃N para dar 97 mg del compuesto impuro 94 en forma de un sólido blanco.

Síntesis del Compuesto 95

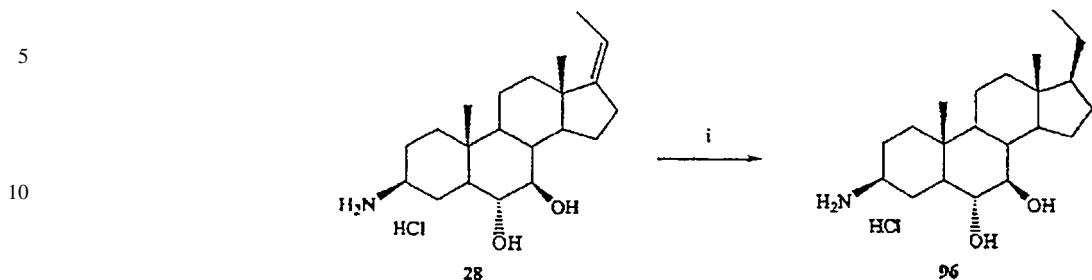
Una solución del compuesto 3 β -amino impuro 94 (97 mg, 0,25 mmol), HCl 4 M en dioxano (74 μ l, 0,30 mmol), THF (4 ml) y agua (1 ml) se agitó a temperatura ambiente. Después de 4 horas, la solución se concentró, el residuo se recogió en 5 ml de metanol y se concentró. El residuo se trituró dos veces con 5 ml de acetona y se concentró. El sólido blanco se disolvió en aproximadamente 0,5 ml de agua y se añadió lentamente acetona (5 ml) hasta que aparecieron cristales. Los cristales se filtraron, se aclararon con acetona y se secaron para dar 66 mg del compuesto 95 en forma de agujas finas incoloras. LC/MS (infusión directa, electronebulización +ve, NH₄OAc 10 mM en 4:1 de agua y MeCN) 352,09; C₂₁H₃₅FNO₂.

60 Ejemplo 10

Esteroides 3-amino-6,7-dihidroxi-17-alquilo

Cualquier compuesto que tenga la funcionalidad 17(20)-alquenilo puede tener el doble enlace hidrogenado usando H₂ en presencia de un catalizador tal como Pd al 10% sobre carbono. Por ejemplo, el compuesto 96 se ha preparado a partir del compuesto 28 como se muestra en el Esquema 9. Análogamente, el compuesto 97 se preparó a partir del compuesto 49 usando la misma metodología que se muestra en el Esquema 9 (véase la Tabla 2).

Esquema 9



i) H_2 , Pd sobre carbono, metanol.

Síntesis del Compuesto 96

Una solución de la olefina 28 (52 mg, 0,14 mmol), Pd al 10% sobre carbono (15 mg, 0,014 mmol) y metanol (3 ml) se agitó a temperatura ambiente durante una noche en una atmósfera de hidrógeno. La solución se filtró a través de celite eluyendo con 50 ml de metanol y se concentró para dar 50 mg (96%) del compuesto 96 en forma de un sólido blanco. LC/MS (infusión directa, electronebulización +ve, NH₄OAc 10 mM en 4:1 de agua y MeCN) 336,24; C₂₁H₃₈NO.

25 Síntesis del Compuesto 97

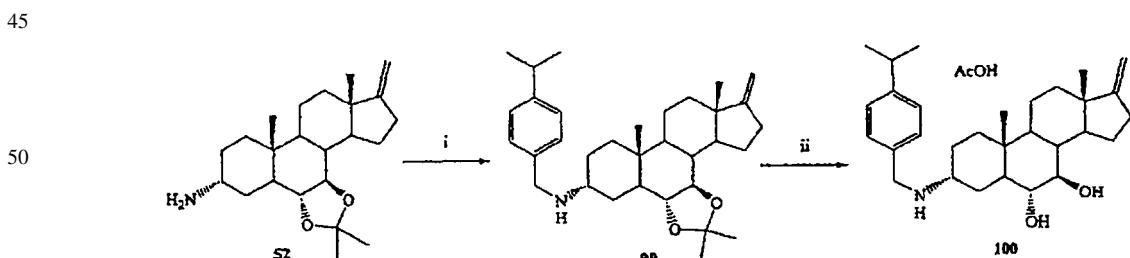
Una solución de la olefina 49 (844 mg, 2,28 mmol), Pd al 10% sobre carbono (243 mg, 0,228 mmol) y metanol (11 ml) se agitó a temperatura ambiente durante una noche en una atmósfera de hidrógeno. La solución se filtró a través de celite eluyendo con 50 ml de metanol y se concentró. El residuo se trituró en 10 ml de acetona, se filtró y se secó para dar 801 mg (94%) del compuesto 97 en forma de un sólido blanco. LC/MS (infusión directa, electronebulización +ve, NH₄OAc 10 mM en 4:1 de agua y MeCN) 336,21; C₂₇H₃₈NO₂.

Ejemplo 11

³⁵ Esteroide amino 6,7-dihidroxi-17-metilideno-3-secundario.

40 Cualquier amina relacionada con el compuesto 52 puede acoplarse a un aldehído o cetona para preparar aminas secundarias o terciarias. La reacción del compuesto 52 con una solución de 4-isopropilbenzaldehído e isopropóxido de titanio en THF seguido de reducción con borohidruro sódico da el compuesto 99. El tratamiento con ácido acético al 80% retira el grupo acetonida y forma la sal de acetato de amonio 100. Los compuestos de ejemplo 101-107 se sintetizaron usando los métodos resumidos en el Esquema 10 (véase la Tabla 6).

Esquema 10



i) 4-isopropilbenzaldehido, $\text{Ti(O}^{\text{i}}\text{Pr)}_4$, THF; NaBH_4 , MeOH; ii) ácido acético al 80%

60 Síntesis del Compuesto 99

65 Se añadió isopropóxido de titanio (IV) (120 μ l, 0,42 mmol) a una solución a temperatura ambiente de la amina 52 (100 mg, 0,28 mmol), 4-isopropilbenzaldehído (46 μ l, 0,31 mmol) y 1,4 ml de THF en una atmósfera de nitrógeno. Después de 12 horas, se añadió una solución de NaBH₄ (29 mg, 0,78 mmol) en 1 ml de EtOH y la reacción se continuó durante 8 horas. La reacción se interrumpió mediante la adición de 3 ml de salmuera, se diluyó con 30 ml de EtOAc, se separó, se lavó con 10 ml de salmuera, se secó sobre MgSO₄, se filtró y se concentró. La purificación usando cromatografía radial produjo 50 mg (36%) del compuesto 99.

Síntesis del Compuesto 100

Una solución de la amina 99 (50 mg, 0,10 mmol) y 1 ml de ácido acético al 80% se calentó a 40°C durante 3 horas. La mezcla de reacción se recogió dos veces en porciones de 5 ml de tolueno, se concentró y después una vez con cada uno de acetona y hexanos para dar 25 mg (51%) del compuesto 100. LC/MS (infusión directa, electronebulización +ve, NH₄OAc 10 mM en 4:1 de agua y MeCN) 452,27; C₃₀H₄₆NO₂.

Síntesis del Compuesto 101

Usando el procedimiento descrito para la síntesis del compuesto 99, la amina 52 (100 mg, 0,28 mmol) se hizo reaccionar con 2-fluorobenzaldehído (32 μ l, 0,32 mmol) para dar 43 mg del intermedio de amina. El intermedio de amina se trató con 1 ml de ácido acético al 80% a 40°C durante 3 horas. La mezcla de reacción se diluyó con 5 ml de tolueno y se concentró. El residuo se disolvió en 1 ml de acetona, se diluyó con 5 ml de hexanos y se concentró para dar 49 mg (37%) del compuesto 101 en forma de un sólido blanco. LC/MS (infusión directa, electronebulización +ve, NH₄OAc 10 mM en 4:1 de agua y MeCN) 428,22; C₂₇H₃₉FNO₂.

Síntesis del Compuesto 102

Usando el procedimiento descrito para la síntesis del compuesto 99, la amina 52 (100 mg, 0,28 mmol) se hizo reaccionar con 3-(trifluorometil)benzaldehído (41 μ l, 0,31 mmol) para dar 61 mg del intermedio de amina. El intermedio de amina se trató con 1 ml de ácido acético al 80% a 40°C durante 3 horas. La mezcla de reacción se diluyó con 5 ml de tolueno y se concentró. El residuo se disolvió en 1 ml de acetona, se diluyó con 5 ml de hexanos y se concentró para dar 64 mg (45%) del compuesto 102 en forma de un sólido blanco. LC/MS (infusión directa, electronebulización +ve, NH₄OAc 10 mM en 4:1 agua y MeCN) 478,18; C₂₈H₃₉F₃NO₂.

Síntesis del Compuesto 103

Usando el procedimiento descrito para la síntesis del compuesto 99, la amina 52 (100 mg, 0,28 mmol) se hizo reaccionar con o-anisaldehído (42 mg, 0,31 mmol) para dar 30 mg del intermedio de amina. El intermedio de amina se trató con 1 ml de ácido acético al 80% a 40°C durante 3 horas. La mezcla de reacción se diluyó con 5 ml de tolueno y se concentró. El residuo se disolvió en 1 ml de acetona, se diluyó con 5 ml de hexanos y se concentró para dar 18 mg (14%) del compuesto 103. LC/MS (infusión directa, electronebulización +ve, 10 mM NH₄OAc en 4:1 de agua y MeCN) 440,23; C₂₈H₄₂NO₃.

Síntesis del Compuesto 104

Usando el procedimiento descrito para la síntesis del compuesto 99, la amina 52 (100 mg, 0,28 mmol) se hizo reaccionar con 4-(trifluorometoxi)benzaldehído (44 μ l, 0,31 mmol) para dar 86 mg del intermedio de amina. El intermedio de amina se trató con 1,5 ml de ácido acético al 80% a 40°C durante 3 horas. La mezcla de reacción se diluyó con 5 ml de tolueno y se concentró. El residuo se disolvió en 1 ml de acetona, se diluyó con 5 ml de hexanos y se concentró para dar 84 mg (57%) del compuesto 104 en forma de un sólido blanco. LC/MS (infusión directa, electronebulización +ve, NH₄OAc 10 mM en 4:1 de agua y MeCN) 494,15; C₂₈H₃₉F₃NO₃.

Síntesis del Compuesto 105

Usando el procedimiento descrito para la síntesis del compuesto 99, la amina 52 (100 mg, 0,28 mmol) se hizo reaccionar con 3-fenoxibenzaldehído (60 mg, 0,32 mmol) para dar 73 mg del intermedio de amina. El intermedio de amina se trató con 1 ml de ácido acético al 80% a 40°C durante 3 horas. La mezcla de reacción se diluyó con 5 ml de tolueno y se concentró. El residuo se disolvió en 1 ml de acetona, se diluyó con 5 ml de hexanos y se concentró para dar 87 mg (58%) del compuesto 105 en forma de un sólido blanco. LC/MS (infusión directa, electronebulización +ve, NH₄OAc 10 mM en 4:1 de agua y MeCN) 502,20; C₃₃H₄₄NO₃.

Síntesis del Compuesto 106

Usando el procedimiento descrito para la síntesis del compuesto 99, la amina 52 (100 mg, 0,28 mmol) se hizo reaccionar con 3-nitrobenzaldehído (46 mg, 0,31 mmol) para dar 18 mg del intermedio de amina. El intermedio de amina se trató con 1 ml de ácido acético al 80% a 40°C durante 3 horas. La mezcla de reacción se diluyó con 5 ml de tolueno y se concentró. El residuo se disolvió en 1 ml de acetona, se diluyó con 5 ml de hexanos y se concentró para dar 18 mg (14%) del compuesto 106 en forma de un sólido blanquecino. LC/MS (infusión directa, electronebulización +ve, NH₄OAc 10 mM en 4:1 de agua y MeCN) 455,20; C₂₇H₃₉N₂O₄.

Síntesis del Compuesto 107

Usando el procedimiento descrito para la síntesis del compuesto 99, la amina 52 (200 mg, 0,55 mmol) se hizo reaccionar con 3-piridilcarboxaldehído (82 μ l, 0,61 mmol) para dar 100 mg del intermedio de amina. Una suspensión 5 del intermedio de amina, HCl 4 M en dioxano (65 μ l, 0,26 mmol), 110 μ l de agua y 2,2 ml de acetona se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. La solución se filtró y el sólido se secó para producir 77 mg (30%) del compuesto 107 en forma de un sólido blanco. LC/MS (infusión directa, electronebulización +ve, 10 mM NH₄OAc en 4:1 de agua y MeCN) 411,21; C₂₆H₃₉N₂O₂.

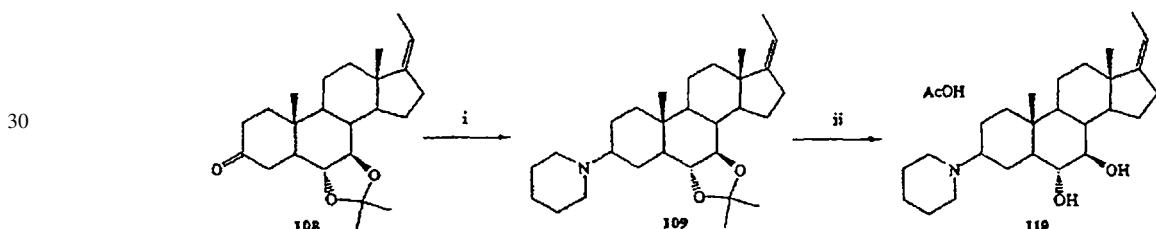
10 Ejemplo 12

Esteroides 3-cicloamino-6,7-dihidroxi-17-etilideno

15 Cualquier cetona relacionada con el compuesto 108 puede acoplarse a una amina usando la metodología mostrada en el Esquema 11. El material de partida compuesto 108 para la síntesis se describe en la Patente de Estados Unidos 6.046.185. La reacción del compuesto 108 con piperidina y cianoborohidruro sódico en metanol dio el compuesto 109 en forma de una mezcla de isómeros en C3. El tratamiento con ácido acético al 80% retiró el grupo protector de acetona y formó la sal de acetato de amonio 110. El compuesto del ejemplo 111 se sintetizó usando los métodos 20 resumidos en el Esquema 11, con la excepción de que se usó ácido clorhídrico en lugar de ácido acético (véase la Tabla 5). Un grupo 3-cicloamino es un grupo unido a la posición 3, donde el carbono de la posición 3 se une directamente a un nitrógeno, y este nitrógeno es parte de un anillo heterocíclico.

Esquema 11

25



35

i) piperidina, Ti(OⁱPr)₄, THF; NaBH₄, MeOH; ii) ácido acético al 80%.

Síntesis del Compuesto 109

40

Una solución de la cetona 108 (200 mg, 0,54 mmol), piperidina (266 μ l, 2,68 mmol), 100 mg de tamices moleculares de 3 \AA , NaBH₃CN (24 mg, 0,38 mmol) y 5,4 ml de MeOH se agitó a temperatura ambiente durante 24 horas. La mezcla de reacción se diluyó con 20 ml de agua y se extrajo con 2 x 20 ml de CH₂Cl₂. Las extracciones combinadas se lavaron con 10 ml de salmuera, se secaron sobre MgSO₄, se filtraron y se concentraron. El material bruto se purificó 45 usando cromatografía radial eluyendo con MeOH al 20%/CH₂Cl₂ para producir 112 mg (47%) del compuesto 109 en forma de un sólido blanco.

50

55

Síntesis del Compuesto 110

Una solución de las aminas 109 (102 mg, 0,23 mmol) y 5 ml de ácido acético al 80% se calentó a 40°C durante 1 hora. La solución se concentró, el residuo se recogió en 2 ml de MeOH, se diluyó con 15 ml de tolueno y se concentró. El residuo se trituró en 5 ml de acetona, se filtró y se secó para dar 44 mg (42%) del compuesto 110 en forma de un sólido blanco. LC/MS (infusión directa, electronebulización +ve, NH₄OAc 10 mM en 4:1 de agua y MeCN) 402,31; C₂₆H₄₄NO₂.

Síntesis del Compuesto 111

60

65

Usando el procedimiento descrito para la síntesis del compuesto 109, la cetona 108 (200 mg, 0,54 mmol) se hizo reaccionar con morfolina (234 μ l, 2,68 mmol) para dar 56 mg del intermedio de amina. El intermedio de amina se trató con 5 ml de ácido acético al 80% a 40°C durante 1 hora. La solución se concentró, se disolvió en 5 ml de MeOH y se concentró. Los análisis por ¹H y ¹³C RMN indicaron que el grupo protector de acetona se había retirado pero no se formó o se formó muy poca cantidad de la sal. El material se trató con HCl 4 M en dioxano (32 μ l, 0,13 mmol) y 2 ml de acetona, dando un precipitado blanco. La suspensión se diluyó con 2 ml de acetona, se filtró y se secó para dar 48 mg (20%) del compuesto 111 en forma de un sólido blanco. LC/MS (infusión directa, electronebulización +ve, NH₄OAc 10 mM en 4:1 de agua y MeCN) 404,20; C₂₅H₄₂NO₃.

Ejemplo 13

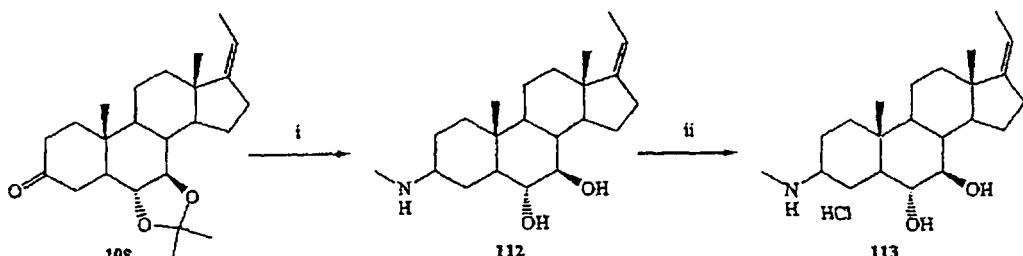
Conversión de amino 3-oxo a 3-secundario en esteroide

5 Cualquier cetona relacionada con el compuesto 108 puede acoplarse a una amina usando la metodología mostrada en el Esquema 12. Se añade metilamina a una solución del compuesto 108 e isopropóxido de titanio en THF, seguido de reducción con borohidruro sódico. La solución se filtra y se eluye a través de resina de MP-TsOH para dar el compuesto 112, en forma de una mezcla de isómeros en C3. El tratamiento con HCl en acetonitrilo y agua formó la 10 sal de cloruro de amonio 113. Los compuestos de ejemplo 114-129 se sintetizaron usando los métodos resumidos en el Esquema 12, con la excepción de que se usó ácido acético en lugar de ácido clorhídrico para los ejemplos en los que se formaron las sales de acetato de amonio (véase la Tabla 5).

Esquema 12

15

20



25

30

i) hidrocloruro de metilamina, $Ti(O^{\prime}Pr)_4$, THF; $NaBH_4$, MeOH; ii) HCl, agua, acetonitrilo.

Síntesis del Compuesto 112

35 Se añadió isopropóxido de titanio (IV) (270 μ l, 0,92 mmol) a una solución a temperatura ambiente de la cetona 108 (250 mg, 0,67 mmol), hidrocloruro de metilamina (41 mg, 0,61 mmol) y 1,5 ml de THF en una atmósfera de nitrógeno. Después de 12 horas, se añadió una solución de $NaBH_4$ (65 mg, 1,7 mmol) en 2,3 ml de EtOH y la reacción se continuó durante 10 horas más. La reacción se interrumpió mediante la adición de 0,5 ml de agua y se filtró para retirar un precipitado blanco. La solución se cargó sobre una columna de 600 mg de resina de MP-TsOH y eluyéndolo con 3 ml de MeOH y después con 4 ml de NH_3 2 M en MeOH. La fracción de NH_3 /MeOH se concentró para dar 76 mg (32%) del compuesto 112.

45

Síntesis del Compuesto 113

50 Una suspensión del compuesto 112 (76 mg, 0,21 mmol), HCl 4 M en dioxano (75 μ l, 0,30 mmol), 50 μ l de agua y 1 ml de acetonitrilo se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. La solución se filtró y el sólido se secó para producir 38 mg (13%) del compuesto 113 en forma de un sólido gris. LC/MS (infusión directa, electronebulización +ve, NH_4OAc 10 mM en 4:1 de agua y MeCN) 348,19; $C_{22}H_{38}NO_2$.

Síntesis del Compuesto 114

55 Usando los procedimientos descritos para la síntesis del compuesto 112, la cetona 108 (200 mg, 0,53 mmol) se hizo reaccionar con hidrocloruro de propilamina (47 mg, 0,49 mmol) para dar 72 mg del intermedio de amina. El intermedio de amina se trató con 75 μ l de la solución de HCl para dar 34 mg (17%) del compuesto 114. LC/MS (infusión directa, electronebulización +ve, NH_4OAc 10 mM en 4:1 de agua y MeCN) 376,22; $C_{24}H_{42}NO_2$.

60

Síntesis del Compuesto 115

65 Usando los procedimientos descritos para la síntesis del compuesto 112, la cetona 108 (250 mg, 0,67 mmol) se hizo reaccionar con amilamina (70 μ l, 0,61 mmol) para dar 82 mg del intermedio de amina. El intermedio de amina se trató con 75 ml de la solución de HCl para dar 75 mg (28%) del compuesto 115 en forma de un sólido blanco. LC/MS (infusión directa, electronebulización +ve, NH_4OAc 10 mM en 4:1 de agua y MeCN) 404,28; $C_{26}H_{46}NO_2$.

Síntesis del Compuesto 116

Usando los procedimientos descritos para la síntesis del compuesto 112, la cetona 108 (250 mg, 0,67 mmol) se hizo reaccionar con ciclopentilamina (60 μ l, 0,61 mmol) para dar 99 mg del intermedio de amina. El intermedio de amina se trató con 200 μ l de ácido acético durante 1 hora, se recogió dos veces y se concentró en porciones de 1 ml de tolueno. El residuo se trituró en 1 ml de ciclohexano, se filtró y se secó para dar 98 mg (35%) del compuesto 116. LC/MS (infusión directa, electronebulización +ve, NH₄OAc 10 mM en 4:1 de agua y MeCN) 402,27; C₂₆H₄₄NO₂.

Síntesis del Compuesto 117

Usando los procedimientos descritos para la síntesis del compuesto 112, la cetona 108 (250 mg, 0,67 mmol) se hizo reaccionar con ciclohexilamina (70 μ l, 0,61 mmol) para dar 120 mg del intermedio de amina. El intermedio de amina se trató con 0,5 ml de ácido acético durante 1 hora, se recogió dos veces y se concentró en porciones de 1 ml de tolueno. El residuo se trituró en 1 ml de ciclohexano, se filtró y se secó para dar 101 mg (32%) del compuesto 117. LC/MS (infusión directa, electronebulización +ve, NH₄OAc 10 mM en 4:1 de agua y MeCN) 416,25; C₂₇H₄₆NO₂.

Síntesis del Compuesto 118

Usando los procedimientos descritos para la síntesis del compuesto 112, la cetona 108 (250 mg, 0,67 mmol) se hizo reaccionar con pirrolidina (51 μ l, 0,61 mmol) para dar 70 mg del intermedio de amina. El intermedio de amina se trató con 50 μ l de ácido acético durante 1 hora y se añadió 1 ml de ciclohexano para dar un sólido, que se filtró y se secó para producir 65 mg (22%) del compuesto 118. LC/MS (infusión directa, electronebulización +ve, NH₄OAc 10 mM en 4:1 de agua y MeCN) 388,28; C₂₅H₄₂NO₂.

Síntesis del Compuesto 119

Usando los procedimientos descritos para la síntesis del compuesto 112, la cetona 108 (200 mg, 0,53 mmol) se hizo reaccionar con N-propiletilendiamina (60 μ l, 0,49 mmol) para dar 99 mg del intermedio de amina. El intermedio de amina se trató con 75 μ l de la solución de HCl para dar 47 mg (20%) del compuesto 119. LC/MS (infusión directa, electronebulización +ve, NH₄OAc 10 mM en 4:1 de agua y MeCN) 419,32; C₂₆H₄₇N₂O₂.

Síntesis del Compuesto 120

Usando los procedimientos descritos para la síntesis del compuesto 112, la cetona 108 (250 mg, 0,67 mmol) se hizo reaccionar con N,N-dimetiletilendiamina (65 μ l, 0,61 mmol) para dar 93 mg del intermedio de amina. El intermedio de amina se trató con 75 μ l de la solución de HCl para dar 77 mg (29%) del compuesto 120 en forma de un sólido blanco. LC/MS (infusión directa, electronebulización +ve, NH₄OAc 10 mM en 4:1 de agua y MeCN) 405,28; C₂₅H₄₅N₂O₂.

Síntesis del Compuesto 121

Usando los procedimientos descritos para la síntesis del compuesto 112, la cetona 108 (250 mg, 0,67 mmol) se hizo reaccionar con piperazina (52 mg, 0,61 mmol) para dar 33 mg del intermedio de amina. El intermedio de amina se trató con 200 μ l de ácido acético durante 1 hora, se recogió dos veces y se concentró en porciones de 1 ml de tolueno. El residuo se trituró en 1 ml de ciclohexano, se filtró y se secó para dar 39 mg (14%) del compuesto 121. LC/MS (infusión directa, electronebulización +ve, NH₄OAc 10 mM en 4:1 de agua y MeCN) 403,23; C₂₅H₄₃N₂O₂.

Síntesis del Compuesto 122

Usando los procedimientos descritos para la síntesis del compuesto 112, la cetona 108 (250 mg, 0,67 mmol) se hizo reaccionar con etanolamina (33 μ l, 0,61 mmol) para dar 136 mg del intermedio de amina. El intermedio de amina se trató con 75 μ l de la solución de HCl para dar 124 mg (50%) del compuesto 122 en forma de un sólido blanco. LC/MS (infusión directa, electronebulización +ve, NH₄OAc 10 mM en 4:1 de agua y MeCN) 378,19; C₂₃H₄₀NO₃.

Síntesis del Compuesto 123

Usando los procedimientos descritos para la síntesis del compuesto 112, la cetona 108 (250 mg, 0,67 mmol) se hizo reaccionar con 5-amino-1-pentanol (63 mg, 0,61 mmol) para dar 129 mg del intermedio de amina. El intermedio de amina se trató con 75 μ l de la solución de HCl para dar 65 mg (24%) del compuesto 123 en forma de un sólido blanco. LC/MS (infusión directa, electronebulización +ve, NH₄OAc 10 mM en 4:1 de agua y MeCN) 420,25; C₂₆H₄₆NO₃.

Síntesis del Compuesto 124

Usando los procedimientos descritos para la síntesis del compuesto 112, la cetona 108 (250 mg, 0,67 mmol) se hizo reaccionar con 2-(2-aminoetilamino)etanol (62 μ l, 0,61 mmol) para dar 90 mg del intermedio de amina. El intermedio de amina se trató con 75 μ l de la solución de HCl para dar 79 mg (28%) del compuesto 124 en forma de un sólido blanco. LC/MS (infusión directa, electronebulización +ve, NH₄OAc 10 mM en 4:1 de agua y MeCN) 421,24; C₂₅H₄₅N₂O₃.

Síntesis del Compuesto 125

Usando los procedimientos descritos para la síntesis del compuesto 112, la cetona 108 (200 mg, 0,53 mmol) se hizo reaccionar con m-toluidina (52 μ l, 0,49 mmol) para dar 95 mg del intermedio de amina. El intermedio de amina se trató con 75 μ l de la solución de HCl para dar 43 mg (19%) del compuesto 125. LC/MS (infusión directa, electronebulización +ve, NH₄OAc 10 mM en 4:1 de agua y MeCN) 424,23; C₂₈H₄₂NO₂.

Síntesis del Compuesto 126

10 Usando los procedimientos descritos para la síntesis del compuesto 112, la cetona 108 (250 mg, 0,67 mmol) se hizo reaccionar con 4-aminofenol (67 mg, 0,61 mmol) para dar 138 mg del intermedio de amina. El intermedio de amina se trató con 75 μ l de la solución de HCl para dar 41 mg (14%) del compuesto 126. LC/MS (infusión directa, electronebulización +ve, NH₄OAc 10 mM en 4:1 de agua y MeCN) 426,18; C₂₇H₄₀NO₃.

Síntesis del Compuesto 127

15 Usando los procedimientos descritos para la síntesis del compuesto 112, la cetona 108 (250 mg, 0,67 mmol) se hizo reaccionar con sulfanilamida (105 mg, 0,61 mmol) para dar, después de la purificación usando cromatografía radial, 24 mg del intermedio de amina. El intermedio de amina se trató con 75 μ l de la solución de HCl para dar 23 mg (7%) del compuesto 127. LC/MS (infusión directa, electronebulización +ve, NH₄OAc 10 mM en 4:1 de agua y MeCN) 489,17; C₂₇H₄₁N₂O₄S.

Síntesis del Compuesto 128

20 Usando los procedimientos descritos para la síntesis del compuesto 112, la cetona 108 (250 mg, 0,67 mmol) se hizo reaccionar con 3-aminometilpiridina (62 μ l, 0,61 mmol) para dar 108 mg del intermedio de amina. El intermedio de amina se hizo reaccionar con 1 ml de ácido acético al 80% a 40°C durante 1 hora. La mezcla de reacción se concentró, se recogió dos veces y se concentró en porciones de 1 ml de tolueno. El residuo se trituró en 1 ml de ciclohexano, se filtró y se secó para dar 117 mg (41%) del compuesto 128. LC/MS (infusión directa, electronebulización +ve, NH₄OAc 10 mM en 4:1 de agua y MeCN) 425,24; C₂₇H₄₁N₂O₂.

Síntesis del Compuesto 129

25 Usando los procedimientos descritos para la síntesis del compuesto 112, la cetona 108 (250 mg, 0,67 mmol) se hizo reaccionar con histamina (68 mg, 0,61 mmol) para dar 120 mg del intermedio de amina. El intermedio de amina se hizo reaccionar con 1 ml de ácido acético al 80% a 40°C durante 1 hora. La mezcla de reacción se concentró, se recogió dos veces y se concentró en porciones de 1 ml de tolueno. El residuo se trituró en 1 ml de ciclohexano, se filtró y se secó para dar 128 mg (38%) del compuesto 129. LC/MS (infusión directa, electronebulización +ve, NH₄OAc 10 mM en 4:1 de agua y MeCN) 428,23; C₂₆H₄₂N₃O₂.

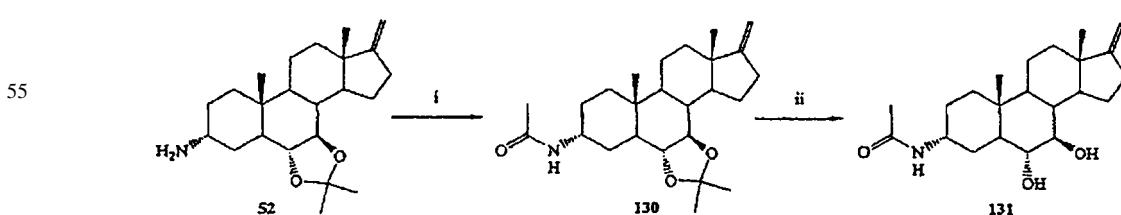
40 Ejemplo 14

Conversión de 3-amino a 3-acilamino en esteroide

45 Los análogos de amida y sulfonamida pueden prepararse a partir de cualquier amina relacionada con el compuesto 52. El Esquema 13 muestra la síntesis de la amida 131. La acetilación de la amina 52 en CH₂Cl₂, usando cloruro de acetilo y dimetilamina unida a resina dio la amida 130. El tratamiento con ácido acético al 80% retiró el grupo de acetonida, dando la dihidroxiamida 131.

50

Esquema 13



i) cloruro de acetilo, PS-DEBA, CH₂Cl₂, PS-Trisamina; ii) ácido acético al 80%.

65

Síntesis del Compuesto 130

Una solución de la amina 52 (100 mg, 0,28 mmol), cloruro de acetilo (50 μ l, 0,70 mmol), 440 mg de resina de PS-DIEA y 2,4 ml de CH_2Cl_2 se agitó a temperatura ambiente durante 16 horas. La resina se filtró y el filtrado se incubó 5 durante 2 horas con 260 mg de resina de PS-Trisamina. La resina se filtró y el filtrado se concentró. La purificación durante 2 horas con 260 mg de resina de PS-Trisamina. La resina se filtró y el filtrado se concentró. La purificación usando cromatografía radial produjo 69 mg (62%) del compuesto 130.

Síntesis del Compuesto 131

10 Una solución de la amida 130 (69 mg, 0,17 mmol) y 1 ml de ácido acético al 80% se calentó a 40°C durante 1 hora. La mezcla de reacción se recogió dos veces y se concentró en 5 ml de tolueno, una vez en 5 ml de MeOH y una vez en 1 ml de acetona y 5 ml de hexanos para dar 62 mg (62%) del compuesto 131 en forma de un sólido blanco. LC/MS (infusión directa, electronebulización +ve, NH_4OAc 10 mM en 4:1 de agua y MeCN) 384,16; $\text{C}_{22}\text{H}_{35}\text{NNaO}_3$, 362,20; 15 $\text{C}_{22}\text{H}_{36}\text{NO}_3$, 344,18; $\text{C}_{22}\text{H}_{34}\text{NO}_3$.

Síntesis del Compuesto 132

20 Usando el procedimiento descrito para la síntesis del compuesto 130, la amina 52 (88 mg, 0,24 mmol) se hizo reaccionar con cloruro de benzoílo (65 μ l, 0,56 mmol) para dar 64 mg del intermedio de amida. Una solución del 25 intermedio de amida y 2 ml de ácido acético al 80% se calentó a 40°C durante 1 hora. La mezcla de reacción se recogió dos veces y se concentró en 5 ml de tolueno, una vez en 5 ml de MeOH y una vez en 1 ml de acetona y 5 ml de hexanos para dar 55 mg (55%) del compuesto 132 en forma de un sólido blanco (véase la Tabla 3). LC/MS (infusión directa, electronebulización +ve, 10 mM NH_4OAc en 4:1 de agua y MeCN) 446,18; $\text{C}_{27}\text{H}_{37}\text{NNaO}_3$, 424,29; 25 $\text{C}_{27}\text{H}_{38}\text{NO}_3$, 406,19; $\text{C}_{27}\text{H}_{36}\text{NO}_2$.

Síntesis del Compuesto 133

30 Usando el procedimiento descrito para la síntesis del compuesto 130, la amina 52 (100 mg, 0,28 mmol) se hizo reaccionar con cloruro de isopropilsulfonilo (63 μ l, 0,56 mmol) para dar 38 mg del intermedio de sulfonamida. Una 35 solución del intermedio de sulfonamida y 1,5 ml de ácido acético al 80% se calentó a 40°C durante 1 hora. La mezcla de reacción se recogió dos veces y se concentró en 5 ml de tolueno, una vez en 5 ml de MeOH y una vez en 1 ml de acetona y 5 ml de hexanos para dar 35 mg (29%) del compuesto 133 en forma de un sólido blanquecino (véase la Tabla 3). LC/MS (infusión directa, electronebulización +ve, 10 mM NH_4OAc en 4:1 de agua y MeCN) 426,14; $\text{C}_{23}\text{H}_{40}\text{NO}_4\text{S}$.

Síntesis del Compuesto 134

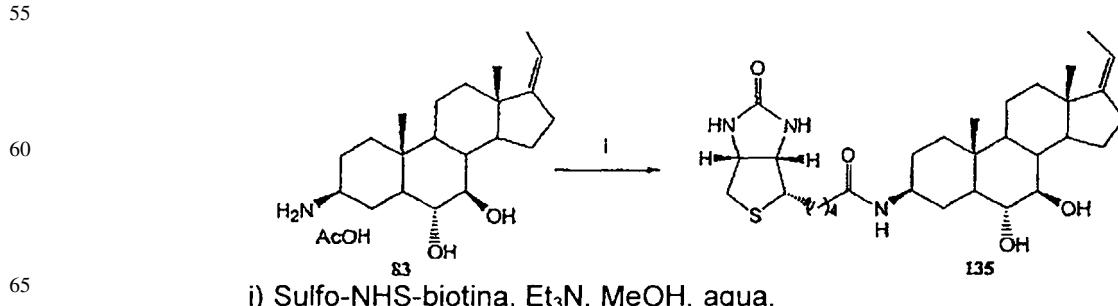
40 Usando el procedimiento descrito para la síntesis del compuesto 130, la amina 52 (100 mg, 0,28 mmol) se hizo reaccionar con cloruro de bencenosulfonilo (90 μ l, 0,70 mmol) para dar 105 mg del intermedio de sulfonamida. Una 45 solución del intermedio de sulfonamida y 2 ml de ácido acético al 80% se calentó a 40°C durante 5 horas. La mezcla de reacción se recogió dos veces y se concentró en 5 ml de tolueno, una vez en 5 ml de MeOH y una vez en 1 ml de acetona y 5 ml de hexanos para dar 83 mg (65%) del compuesto 134 en forma de un sólido blanco (véase la Tabla 3). LC/MS (infusión directa, electronebulización +ve, NH_4OAc 10 mM en 4:1 de agua y MeCN) 482,11; $\text{C}_{26}\text{H}_{37}\text{NNaO}_4\text{S}$, 477,17; $\text{C}_{26}\text{H}_{41}\text{N}_2\text{O}_4\text{S}$, 460,15; $\text{C}_{26}\text{H}_{38}\text{NO}_4\text{S}$.

Ejemplo 15

Esteroides 3-aciLaminobiotin-6,7-hidroxi-17-etilideno

50 El Esquema 14 muestra la síntesis de la amida 135. La reacción de la amina 83 con trietilamina y una versión soluble 55 en agua de N-hidroxisuccinimida de éster de biotina en metanol y agua dio el análogo de amida biotinilado 135.

Esquema 14



Síntesis del Compuesto 135

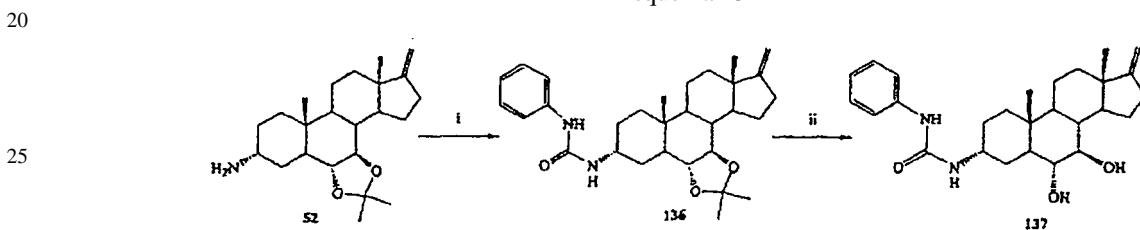
Una solución del compuesto 83 (97 mg, 0,25 mmol), Et₃N (104 μ l, 0,75 mmol), sulfo-NHS-biotina (120 mg, 0,27 mmol), 2,5 ml de MeOH y 2,5 ml de agua se agitó a temperatura ambiente durante una noche. La mezcla de reacción se concentró y se purificó usando cromatografía en columna de fase inversa eluyendo con agua al 5%/MeOH para producir 89 mg (64%) del compuesto 135 en forma de un sólido blanquecino. LC/MS (infusión directa, electronebulización +ve, NH₄OAc 10 mM en 4:1 de agua y MeCN) 560,30; C₃₁H₅₀N₃O₄S.

10 Ejemplo 16

Esteroides 3-urea-6,7-hidroxi-17-metilideno

15 Cualquiera de las aminas relacionadas con el compuesto 52 puede hacerse reaccionar con isocianatos o isotiocianatos para dar compuestos que tienen funcionalidades urea o tiourea. Los compuestos 136, 137 y 138 son ejemplos de ureas que se sintetizaron usando los métodos mostrados en el Esquema 15 (véase la Tabla 3).

20 Esquema 15



i) fenilisocianato, PS-Trisamina, CH₂Cl₂; ii) ácido acético al 80%.

Síntesis del Compuesto 136

35 Una solución de la amina 52 (100 mg, 0,28 mmol), fenilisocianato (76 μ l, 0,70 mmol) y 2,4 ml de CH₂Cl₂ se agitó a temperatura ambiente durante 16 horas. La solución se incubó durante 2 horas con 260 mg de resina de PS-Trisamina. La resina se filtró y el filtrado se concentró. La purificación usando cromatografía radial dio 95 mg (71%) del compuesto 136.

40 *Síntesis del Compuesto 137*

45 Una solución de la urea 136 (95 mg, 0,20 mmol) y 2 ml de ácido acético al 80% se calentó a 80°C durante 2 horas. La mezcla de reacción se recogió y se concentró en 5 ml de tolueno, en 5 ml de MeOH y en 5 ml de hexanos. La purificación usando cromatografía radial eluyendo con 95:5:2 de CH₂Cl₂:MeOH:Et₃N produjo 40 mg (33%) del compuesto 137. LC/MS (infusión directa, electronebulización +ve, NH₄OAc 10 mM en 4:1 de agua y MeCN) 461,18; C₂₇H₃₈N₂NaO₃, 439,22; C₂₇H₃₉N₂O₃, 421,25; C₂₇H₃₇N₂O₂.

50 *Síntesis del Compuesto 138*

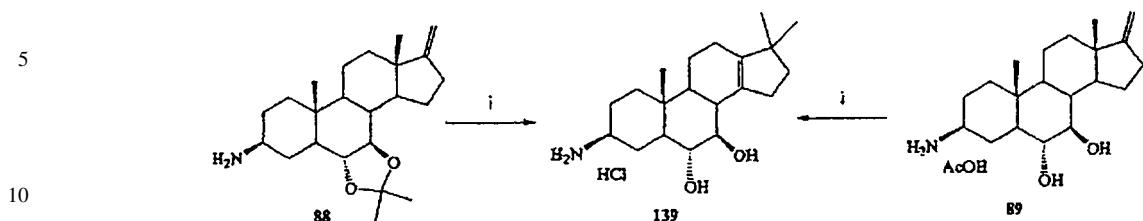
55 Usando el procedimiento descrito para la síntesis del compuesto 137, la amina 52 (100 mg, 0,28 mmol) se hizo reaccionar con isocianato de propilo (52 μ l, 0,56 mmol) para dar 72 mg del intermedio de urea. Una solución del intermedio de urea y 2 ml de ácido acético al 80% se calentó a 80°C durante 2 horas. La mezcla de reacción se recogió dos veces y se concentró en 5 ml de tolueno, una vez en 5 ml de MeOH y una vez en 5 ml de hexanos para producir 51 mg (45%) del compuesto 138 en forma de un sólido blanco. LC/MS (infusión directa, electronebulización +ve, NH₄OAc 10 mM en 4:1 de agua y MeCN) 427,21; C₂₄H₄₀N₂NaO₃, 405,25; C₂₄H₄₁N₂O₃.

60 Ejemplo 17

Esteroides insaturado 3-amino-6,7-hidroxi-17-dimetilo

65 Cualquier compuesto relacionado con los compuestos 88 ó 89 puede experimentarredisposición usando el método mostrado en el Esquema 16. El tratamiento del compuesto 88 con una solución a 50°C de ácido clorhídrico en metanol y agua retiró el grupo protector de acetonida, facilitó la migración del grupo 18-metilo a C17 y formó la sal de cloruro de amonio 139. El tratamiento del compuesto 89 en las mismas condiciones también dio el compuesto 139. Los compuestos de los ejemplos 140-148 se sintetizaron usando el método mostrado en el Esquema 16 (véase la Tabla 4).

Esquema 16



i) HCl, aqua, metanol, 50°C.

15 *Síntesis del Compuesto 139*

Una solución del compuesto 88 (300 mg, 0,834 mmol), 4 gotas de HCl concentrado, 2 ml de metanol y 2 ml de agua se calentó a 50°C durante 72 horas. La mezcla de reacción se concentró y el residuo se recogió dos veces en 5 ml de metanol y se concentró. El residuo se recogió en 2 ml de metanol, se diluyó con 15 ml de acetona y se concentró. El residuo se trituró en 5 ml de acetona, se filtró y se secó para dar 286 mg (96%) del compuesto 139 en forma de un sólido blanco. LC/MS (infusión directa, electronebulización +ve, 10 mM NH₄OAc en 4:1 de agua y MeCN) 320,20; C₂₀H₃₄NO₂.

25 *Síntesis del Compuesto 139*

Usando el mismo procedimiento que se ha descrito para la síntesis del compuesto 139 a partir del compuesto 88, se hizo reaccionar el compuesto 89 para dar 145 mg (77%) del compuesto 139 en forma de un sólido blanco. LC/MS (infusión directa, electronebulización +ve, NH_4OAc 10 mM en 4:1 de agua y MeCN) 320,20; $\text{C}_{20}\text{H}_{34}\text{NO}_2$.

30 Síntesis del Compuesto 140

Usando el procedimiento descrito para la síntesis del compuesto 99, la amina 88 (200 mg, 0,55 mmol) se hizo reaccionar con m-tolualdehído (90 μ l, 0,61 mmol). La purificación usando cromatografía radial eluyendo con MeOH al 5%/EtOAc dio 127 mg del intermedio de amina. Una solución del intermedio de amina, 4 gotas de HCl concentrado, 1 ml de MeOH y 1 ml de agua se calentó a 50°C durante 20 horas. La mezcla de reacción se recogió y se concentró tres veces en 5 ml de MeOH y una vez en 5 ml de acetona para dar 74 mg (30%) del compuesto 140 en forma de una espuma blanquecina. LC/MS (infusión directa, electronebulización +ve, NH₄OAc 10 mM en 4:1 de agua y MeCN) 424,24; C₂₉H₄₂NO₂.

40 Síntesis del Compuesto 141

Usando el procedimiento descrito para la síntesis del compuesto 99, la amina 88 (200 mg, 0,55 mmol) se hizo reaccionar con 3,4-difluorobenzaldehído (67 μ l, 0,61 mmol). La purificación usando cromatografía radial eluyendo con EtOAc al 30%/hexanos dio 88 mg del intermedio de amina. Una solución del intermedio de amina, 4 gotas de HCl concentrado, 1 ml de MeOH y 1 ml de agua se calentó a 50°C durante 20 horas. La mezcla de reacción se recogió y se concentró tres veces en 5 ml de MeOH y una vez en 5 ml de acetona para dar 73 mg (28%) del compuesto 141 en forma de una espuma blanquecina. LC/MS (infusión directa, electronebulización +ve, NH₄OAc 10 mM en 4:1 de agua y MeCN) 446,42; C₂₇H₃₈F₂NO₂.

50 Síntesis del Compuesto 142

Usando el procedimiento descrito para la síntesis del compuesto 59, la amina 49 (200 mg, 0,55 mmol) se hizo reaccionar con 3,4-dimetoxibenzaldehído (70 μ l, 0,61 mmol). La purificación usando cromatografía radial eluyendo con EtOAc al 40%/hexanos dio 67 mg del intermedio de amina. Una solución del intermedio de amina, 4 gotas de HCl concentrado, 1 ml de MeOH y 1 ml de agua se calentó a 50°C durante 20 horas. La mezcla de reacción se recogió y se concentró tres veces en 5 ml de MeOH y una vez en 5 ml de acetona para dar 43 mg (16%) del compuesto 142 en forma de un sólido amarillo. LC/MS (infusión directa, electronebulización +ve, NH₄OAc 10 mM en 4:1 de agua y MeCN) 470.27: C₂₀H₁₄NO₄.

60 *Séminaire Bourbaki* 142

Una solución del compuesto 28 (200 mg, 0,540 mmol), 4 gotas de HCl concentrado y 3 ml de agua se calentó a 50°C durante 72 horas. La mezcla de reacción se concentró y el residuo se recogió dos veces en 5 ml de metanol y se concentró. El residuo se recogió en 3 ml de metanol, se diluyó con 20 ml de acetona y se concentró. El residuo se trituró en 10 ml de acetona, se filtró y se secó para dar 179 mg (90%) del compuesto 143 en forma de un sólido blanco. LC/MS (infusión directa, electronebulización +ve, NH₄OAc 10 mM en 4:1 de agua y MeCN) 334.20; C₂₁H₂₆N₂O₂.

Síntesis del Compuesto 144

Se añadió isopropóxido de titanio (IV) (270 μ l, 0,92 mmol) a una solución a temperatura ambiente de la cetona 108 (250 mg, 0,67 mmol), anilina (56 μ l, 0,61 mmol) y 1,5 ml de THF en una atmósfera de argón. Después de 12 horas, se añadió una solución de NaBH₄ (65 mg, 1,7 mmol) en 2,3 ml de EtOH y la reacción se continuó durante 8 horas más. La reacción se interrumpió mediante la adición de 0,5 ml de agua y se filtró para retirar un precipitado blanco. La solución se cargó sobre una columna de 600 mg de resina de MP-TsOH eluyendo con 9 ml de MeOH y después con 9 ml de NH₃ 2 M en MeOH. La fracción de NH₃/MeOH se concentró y el residuo se recogió en 4 ml de THF, se trató con 500 mg de resina de PS-benzaldehído y se filtró para retirar cualquier anilina residual. La solución se concentró y el residuo se recogió en 2 ml de 9:1 de THF y agua y 100 μ l de HCl concentrado. Después de agitar a temperatura ambiente durante una noche, la mezcla de reacción se concentró. El residuo se trituró en 1 ml de ciclohexano, se filtró y se secó para producir 62 mg del compuesto 144 en forma de un sólido blanco. LC/MS (infusión directa, electronebulización +ve, NH₄OAc 10 mM en 4:1 de agua y MeCN) 410,03; C₂₇H₄₀NO₂.

15 *Síntesis del Compuesto 145*

Usando los procedimientos descritos para la síntesis del compuesto 144, el compuesto 108 (250 mg, 0,67 mmol) se hizo reaccionar con 3-(trifluorometil)anilina. El producto intermedio se purificó usando cromatografía radial y después se hizo reaccionar con 100 μ l de HCl concentrado en 2 ml de 9:1 de THF y agua. Después de agitar a temperatura ambiente durante una noche, la mezcla de reacción se concentró y el residuo se trituró en 1 ml de ciclohexano, se filtró y se secó para producir 23 mg del compuesto 145 en forma de un sólido blanco. LC/MS (infusión directa, electronebulización +ve, 10 mM NH₄OAc en 4:1 de agua y MeCN) 477,94; C₂₈H₃₉F₃NO₂.

25 *Síntesis del Compuesto 146*

Se añadió isopropóxido de titanio (IV) (216 μ l, 0,73 mmol) a una solución a temperatura ambiente de la cetona 108 (200 mg, 0,54 mmol), bencilamina (53 μ l, 0,49 mmol) y 1,2 ml de THF en una atmósfera de argón. Después de 12 horas, se añadió una solución de NaBH₄ (52 mg, 1,4 mmol) en 1,7 ml de EtOH y la reacción se continuó durante 6 horas más. La reacción se interrumpió mediante la adición de 1 ml de agua y se filtró para retirar un precipitado blanco. La solución se diluyó con 70 ml de CH₂Cl₂, se lavó con 10 ml de agua y 20 ml de salmuera, se secó sobre MgSO₄, se filtró y se concentró. La purificación usando cromatografía radial eluyendo consecutivamente con EtOAc al 20%/hexanos, EtOAc y 95:5:2 de CH₂Cl₂/MeOH/Et₃N produjo 127 mg del intermedio 3 α -amina y 26 mg del intermedio 3 β -amina. Una solución de 127 mg del intermedio 3 α -amina, 1 ml de 9:1 de THF y agua y 0,1 ml de HCl concentrado se agitó a temperatura ambiente durante una noche. La mezcla de reacción se concentró y el residuo se recogió en 5 ml de MeOH y se concentró. El residuo se trituró en 1 ml de ciclohexano, se filtró y se secó para producir 118 mg (95%) del compuesto 146 en forma de un sólido blanco. LC/MS (infusión directa, electronebulización +ve, NH₄OAc 10 mM en 4:1 de agua y MeCN) 424,20; C₂₈H₄₂NO₂.

40 *Síntesis del Compuesto 147*

Una solución de 26 mg del intermedio 3 β -amina, cuya síntesis se ha descrito en la síntesis del compuesto 146, 1 ml de 9:1 de THF y agua y 0,1 ml de HCl concentrado se agitó a temperatura ambiente durante una noche. La mezcla de reacción se concentró y el residuo se recogió en 5 ml de MeOH y se concentró. El residuo se trituró en 1 ml de ciclohexano, se filtró y se secó para producir 26 mg (100%) del compuesto 147 en forma de un sólido blanco. LC/MS (infusión directa, electronebulización +ve, 10 mM NH₄OAc en 4:1 de agua y MeCN) 424,21; C₂₈H₄₂NO₂.

50 *Síntesis del Compuesto 148*

Una solución del compuesto 78 (63 mg, 0,18 mmol), 4 gotas de HCl concentrado, 1 ml de metanol y 1 ml de agua se calentó a 50°C durante 48 horas. La mezcla de reacción se concentró y el residuo se recogió dos veces en 5 ml de metanol y se concentró. El residuo se recogió en 2 ml de hexanos, se concentró y se secó durante 2 horas usando un aparato de secado Abderhalden con acetona a la temperatura de reflujo para dar 69 mg (100%) del compuesto 148 en forma de un sólido blanco. LC/MS (infusión directa, electronebulización +ve, NH₄OAc 10 mM en 4:1 de agua y MeCN) 348,20; C₂₂H₃₈NO₂.

60

TABLA 1

5

10

15

20

25

30

35

40

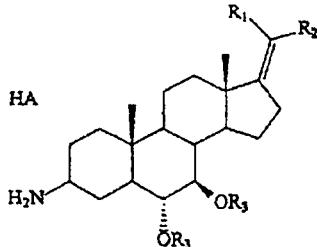
45

50

55

60

65



Compuesto	3 α - o 3 β -NH ₂	R ₁	R ₂	R ₃	HA	Hex Cl ₅₀ (μM)	Calcio (% de inhibición a 20 μM)
49	α	CH ₃	H	H	HCl	11,0	26,8
53	α	H	H	H	AcOH	17,6	-0,8
54	α	H	H	H	HCl	16,1	19,8
64	α	CH ₃	F	H	HCl	14,4	6,7
69	α	H	CO ₂ CH ₃	H	AcOH	21,2	11,2
28	β	CH ₃	H	H	HCl	6,8	29,0
83	β	CH ₃	H	H	AcOH	7,7	30,3
89	β	H	H	H	AcOH	11,5	15,0
95	β	CH ₃	F	H	HCl	13,5	11,2
78	α	H	H	CH ₃	ninguno	20,1	5,3
79	α	H	H	CH ₃	HCl	18,4	9,1
80	α	H	H	CH ₃	AcOH	10,7	7,4

TABLA 2

50

55

60

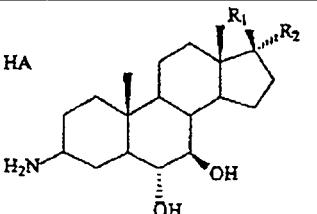
65

50

55

60

65



Compuesto	3 α - o 3 β -NH ₂	R ₁	R ₂	HA	Hex Cl ₅₀ (μM)	Calcio (% de inhibición a 20 μM)
70	α	O	O	AcOH	ND	7,0
72	α	OH	H	AcOH	ND	10,3
96	β	CH ₃ CH ₂	H	HCl	7,8	47,9
97	α	CH ₃ CH ₂	H	HCl	9,3	43,0

TABLA 3

5

10

15

20

25

30

35

40

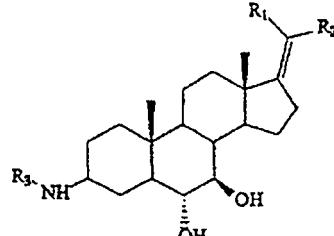
45

50

55

60

65



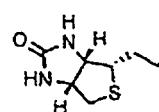
Compuesto	3 α - o 3 β -NH ₂	R ₁	R ₂	R ₃	Hex Cl ₅₀ (μ M)	Calcio (% de inhibición a 20 μ M)
131	α	H	H	CH ₃ CO	14,1	9,9
132	α	H	H	C ₆ H ₅ CO	10,0	19,6
133	α	H	H	(CH ₃) ₂ CHSO ₂	15,9	13,8
134	α	H	H	C ₆ H ₅ SO ₂	16,7	25,1
135	β	CH ₃	H		15,1	37,3
137	α	H	H	C ₆ H ₅ NHCO	14,8	13,0
138	α	H	H	CH ₃ (CH ₂) ₂ NHCO	15,0	9,0

TABLA 4

40

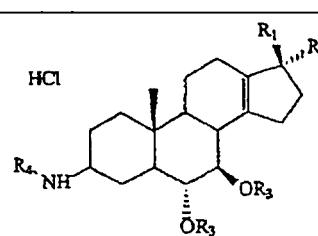
45

50

55

60

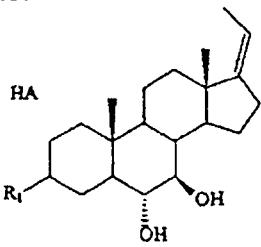
65



Compuesto	3 α - o 3 β - NH ₂	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	Hex Cl ₅₀ (μ M)	Calcio (% de inhibición a 20 μ M)
139	β	CH ₃	CH ₃	H	H	10,3	26,3
140	α	CH ₃	CH ₃	H	3-(CH ₃)C ₆ H ₄ CH ₂	10,2	21,5

5	141	α	CH ₃	CH ₃	H	3,4-(F) ₂ C ₆ H ₃ CH ₂	9,4	36,3
10	142	α	CH ₃	CH ₃	H	3,4-(CH ₃ O) ₂ C ₆ H ₃ CH ₂	15,9	13,8
15	143	β	CH ₃	CH ₃ CH ₂	H	H	8,6	22,6
20	144	α y β	CH ₃	CH ₃ CH ₂	H	C ₆ H ₅	6,9	13,0
	145	α y β	CH ₃	CH ₃ CH ₂	H	3-(CF ₃)C ₆ H ₄	22,0	-0,2
	146	α	CH ₃	CH ₃ CH ₂	H	C ₆ H ₅ CH ₂	9,0	41,7
	147	β	CH ₃	CH ₃ CH ₂	H	C ₆ H ₅ CH ₂	18,1	36,3
	148	α	CH ₃	CH ₃	CH ₃	H	29,2	6,6

TABLA 5

25					
30	Compuesto	R	HA	Hex Cl ₅₀ (μM)	Calcio (% de inhibición a 20 μM)
35	110		AcOH	10,9	39,7
40	111		HCl	9,3	53,1
45	113	CH ₃ NH	HCl	9,8	45,0
50	114	CH ₃ (CH ₂) ₂ NH	HCl	10,2	37,9
55	115	CH ₃ (CH ₂) ₄ NH	HCl	11,1	40,0
60	116	C ₅ H ₉ NH	AcOH	9,6	60,9
65	117	C ₆ H ₁₁ NH	AcOH	6,6	42,2
	118		AcOH	11,0	41,8
	119	CH ₃ (CH ₂) ₂ NH(CH ₂) ₂ NH	2HCl	6,1	54,5
	120	(CH ₃) ₂ N(CH ₂) ₂ NH	2HCl	9,1	44,0
	121		AcOH	14,4	42,4
	122	HOCH ₂ CH ₂ NH	HCl	12,3	31,4
	123	HOCH ₂ (CH ₂) ₄ NH	HCl	16,7	12,8

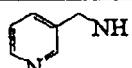
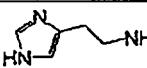
124	HOCH ₂ CH ₂ NHCH ₂ CH ₂ NH	2HCl	ND	21,0
125	3-(CH ₃)C ₆ H ₄ NH ₂	HCl	39,4	5,7
126	4-(HO)C ₆ H ₄ NH	HCl	9,7	45,0
127	4-(H ₂ NSO ₂)C ₆ H ₄ NH	HCl	10,1	29,4
128		AcOH	10,5	41,0
129		2AcOH	N/A	13,8

TABLA 6

Compuesto	R	HA	Hex Cl ₅₀ (μM)	Calcio (% de inhibición a 20 μM)
100	4-((CH ₃) ₂ CH)C ₆ H ₄	AcOH	18,2	33,2
101	2-(F)C ₆ H ₄	AcOH	10,3	16,3
102	3-(CF ₃)C ₆ H ₄	AcOH	10,0	9,5
103	2-(CH ₃ O)C ₆ H ₄	AcOH	11,1	23,7
104	4-(CF ₃ O)C ₆ H ₄	AcOH	9,5	30,3
105	3-(C ₆ H ₅ O)C ₆ H ₄	AcOH	22,5	10,2
106	3-(NO ₂)C ₆ H ₄	ninguno	8,8	8,1
107	3-C ₅ H ₄ N	2HCl	17,2	11,6

Ejemplos de utilidad

Ejemplo A

Efecto de compuestos seleccionados sobre la inflamación pulmonar inducida por alérgenos

La capacidad de un compuesto para inhibir la acumulación inducida por alérgenos de células inflamatorias tales como eosinófilos y neutrófilos en el fluido de lavado obtenido a partir de animales sensibilizados indica la actividad antiastmática de ese compuesto. En particular, este sistema modelo es útil en la evaluación de los efectos de un compuesto de ensayo en el tratamiento de la respuesta en fase tardía del asma, cuando es evidente una inflamación pulmonar y la segunda fase de broncoconstricción. El ensayo se realiza como se indica a continuación.

Se sensibilizan ratas Brown Norway macho a ovalbúmina por medio de una sola inyección intraperitoneal de 1 mg de ovalbúmina adsorbida en 100 mg de Al(OH)₃ (alumbre) en 1 ml de solución salina estéril (las ratas de control con solución salina sólo reciben solución salina estéril) el día 1, y se dejan sensibilizar hasta el día 21. Los compuestos de ensayo se administran por vía oral q.d. durante tres días antes de la exposición (días 19, 20, 21) y un día después de la exposición (día 22), administrando la tercera dosis 2 horas antes de la exposición y administrando la dosis del

ES 2 282 247 T3

cuarto día 24 horas después de la exposición (volumen = 300 μ l/dosis). Las ratas se exponen a ovalbúmina al 0,5% en solución salina generada usando un nebulizador Devillbiss durante 60 minutos el día 21.

5 Cuarenta y ocho horas después de la exposición, los animales se sacrifican con una sobredosis de pentobarbital sódico administrado por vía intraperitoneal y los pulmones se lavan 2 veces con 7 ml de solución salina tamponada con fosfato fría. El fluido de lavado recuperado se pone en hielo. El fluido de lavado broncoalveolar se centrifuga y se retira el sobrenadante. El sedimento se resuspende en solución salina tamponada con fosfato a 4°C. Se preparan cubetas citocentrífugas (cytospins) y se tiñen para diferenciar y enumerar los tipos celulares.

10 Los efectos protectores de los diversos compuestos de ensayo sobre la inflamación pulmonar inducida por alérgenos se resumen en las Tablas 7 y 8. La actividad de respuesta a la dosis de los compuestos seleccionados se muestra en la Tabla 9. El compuesto de ensayo se administró en 300 μ l de aceite de maíz (Tablas 7 y 8) o agua (Tabla 9), que se usaron como vehículos. Los animales de control recibieron 300 μ l de aceite de maíz o agua sola, es decir, sin fármaco. Los valores de las Tablas 7, 8 y 9 representan el porcentaje de inhibición de la acumulación de leucocitos con respecto a los animales de control. Un valor negativo en la Tabla 7, 8 ó 9 indica una exacerbación del efecto con respecto al animal de control.

15

TABLA 7

EFECTO DE LOS COMPUESTOS DE ENSAYO (5 MG/KG/DÍA DURANTE 4 DÍAS, P.O.) SOBRE LA ACUMULACIÓN INDUCIDA POR OVALBÚMINA DE CÉLULAS INFLAMATORIAS EN EL FLUIDO DE LAVADO PULMONAR OBTENIDO A PARTIR DE RATAS BROWN NORWAY SENSIBILIZADAS				
	Compuesto	% de inhibición de eosinófilos	% de inhibición de neutrófilos	% de inhibición de linfocitos
	83	67	34	38
30	97	40	52	56
35	96	-9	40	19
40	64	62	70	81
45	89	57	60	64
50	28	85	87	124
	53	24	57	13
	95	14	45	30
	49	52	36	73
	135	20	58	107

55

60

65

ES 2 282 247 T3

TABLA 8

EFECTO DE COMPUESTOS SELECCIONADOS (1 MG/KG/DÍA DURANTE 4 DÍAS, P.O.) SOBRE LA ACUMULACIÓN INDUCIDA POR OVALBÚMINA DE CÉLULAS INFLAMATORIAS EN EL FLUIDO DE LAVADO PULMONAR OBTENIDO A PARTIR DE RATAS BROWN NORWAY SENSIBILIZADAS			
Análogo	% de inhibición de eosinófilos	% de inhibición de neutrófilos	% de inhibición de linfocitos
142	-131	-1	-42
54	-82	-19	-7
107	-122	23	-28
124	-55	-76	-26
129	-296	-114	-71
146	8	24	-27
147	40	58	36
131	16	57	21
138	-52	35	33
133	-43	40	28

TABLA 9

EFECTO DEPENDIENTE DE LA DOSIS DE COMPUESTOS SELECCIONADOS (DOSIFICACIÓN MÚLTIPLE; 4 DÍAS QD, P.O.) SOBRE LA ACUMULACIÓN INDUCIDA POR OVALBÚMINA DE CÉLULAS INFLAMATORIAS EN EL FLUIDO DE LAVADO PULMONAR OBTENIDO A PARTIR DE RATAS BROWN NORWAY SENSIBILIZADAS													
Análogo	% de inhibición de eosinófilos				% de inhibición de neutrófilos				% de inhibición de linfocitos				
	mg/kg	1	0,3	0,1	0,03	1	0,3	0,1	0,03	1	0,3	0,1	0,03
89	71	80	35	-	66	72	25	-	6	70	2	-	-
28	60	71	29	5	41	66	-10	-26	70	85	50	-5	-
139	42	41	46	-	63	62	42	-	56	34	19	-	-
143	48	29	28	-	64	25	57	-	-22	-37	-43	-	-

Ejemplo B

Efecto del compuesto 83 sobre edema en oreja de ratón inducido por irritantes

Varios ratones se identifican poniendo una marca con un marcador indeleble en la cola. Los ratones reciben una dosificación oral de 15 mg/kg de compuesto de ensayo en 100 μ l de β -ciclodexrina al 45% en solución salina. Los ratones se anestesian brevemente con halotano al 2% y se aplican 2 μ g de 12-miristato 13-acetato de forbol en 25 μ l de

ES 2 282 247 T3

acetona en los lados interno y externo de la oreja izquierda del ratón. Se aplica acetona en la oreja derecha del ratón de la misma manera para servir como control con vehículo. Los animales de control reciben el mismo tratamiento pero sin compuesto de ensayo. Despues de 3 horas, los ratones se sacrifican por dislocación cervical y se escinde una biopsia de tamaño convencional de las orejas y se pesan aproximando el peso al decimal más cercano. Los datos se analizan 5 tomando la diferencia entre cada oreja izquierda y la oreja derecha y despues se calcula el porcentaje de inhibición de edema por $((Rx\ media/irritante\ medio)) \times 100 - 100$.

Los compuestos de la presente invención demuestran efectos protectores sobre el edema de la oreja de ratón inducido por irritante. Por ejemplo, el compuesto 83 inhibe el edema de la oreja de ratón inducido por irritante en 38% 10 en comparación con los animales de control.

Ejemplo C

Efecto de los compuestos sobre la liberación de hexosaminidasa por una línea de mastocitos de rata (RBL-2H3)

15 Los efectos antialérgicos de un compuesto de la presente invención se evaluaron midiendo su efecto sobre la secreción de hexosaminidasa inducida por antígeno por una línea de mastocitos de rata sensibilizada de forma pasiva. La capacidad de un compuesto de ensayo para inhibir la liberación del contenido de los gránulos de los mastocitos, por ejemplo, histamina y hexosaminidasa, es indicativa de la actividad antialérgica y/o antiasmática del compuesto. 20 La hexosaminidasa se libera de los gránulos de los mastocitos junto con histamina y otros mediadores durante la exposición a antígenos. El ensayo se realiza como se indica a continuación.

25 Se cultivan células RBL-2H3 y se sensibilizan de forma pasiva durante 1 hora a 37°C a dinitrofenol (DNP) usando anticuerpos anti-humanos-DNP (IgE). Las células se incuban con compuesto de ensayo durante 30 minutos a 37°C y se estimulan con 0,5 µg/ml de DNP-HSA (antígeno) durante 30 minutos. Se retiran alícuotas del sobrenadante y se usan para medir la cantidad de hexosaminidasa liberada durante la exposición al antígeno. La cantidad de hexosaminidasa presente en el sobrenadante se determina colorimétricamente controlando el metabolismo enzimático de p-nitrofenil-N-acetil-β-D-glucosaminida (p-NAG) durante un periodo de 60 minutos a 405 nm. El efecto de cada compuesto de ensayo se determina como un porcentaje de la respuesta inducida por antígeno (menos la liberación de fondo) 30 obtenida en presencia de DMSO solo. Estos valores se usan para determinar los grados de inhibición de la liberación de hexosaminidasa inducida por antígeno a partir de las células.

35 Los compuestos de la presente invención demuestran la capacidad de inhibir la liberación de hexosaminidasa en respuesta a la estimulación con antígeno. Los compuestos se ensayaron a una concentración de 0,3, 3, 10 y 30 µM y se calcularon los valores de IC_{50} . Estos datos se resumen en las Tablas 1-6. Por ejemplo, el compuesto 119 a una concentración de 6,1 µM inhibe la liberación de hexosaminidasa en 50% en respuesta al estímulo de antígeno.

Ejemplo D

40 Estabilidad metabólica de compuestos seleccionados en fracciones S9 humanas

45 La eficacia terapéutica de un compuesto de ensayo a menudo puede estar relacionada directamente con su estabilidad metabólica *in vivo*. La mayoría de los fármacos comercializados conocidos se metabolizan por un grupo de enzimas conocidas como enzimas P450. La fracción S9 del hígado humano contiene todas las enzimas P450 y también enzimas citoplásmicas que pueden estar implicadas en el metabolismo de nuevas entidades químicas. El metabolismo *in vitro* usando fracciones S9 humanas es un ensayo convencional para evaluar la estabilidad metabólica relativa de 50 nuevos compuestos. El ensayo se realiza como se indica a continuación.

55 Se descongelan reactivos en hielo y se combinan para obtener una mezcla maestra como se indica a continuación: 50 Fosfato potásico (100 mM, pH 7), G6P (0,25 mM), G6PDH (2 U/ml), NADPH (1 mM), UDP (0,25 mM), APPS (0,25 mM) y fracción S9 (2 mg/ml). Se distribuye un volumen de 498 µl de la mezcla maestra en cada tubo de microcentrifuga. Se distribuye un volumen de 2 µl de compuesto de ensayo 2,5 mM (concentración final de 10 µM) en el centro de la tapa del tubo apropiado y las tapas ponen suavemente para impedir la mezcla. La combinación síncrona de compuesto de ensayo y mezcla maestra se consigue por medio de la inversión simultánea diez veces de los tubos, que después se incuban a 37°C y se agitan a 150 rpm durante los tiempos de incubación apropiados. Mientras se está 55 realizando la incubación, todas las muestras a tiempo 0 se mezclan individualmente por inversión tres veces seguido de la adición inmediata de 500 µl de acetonitrilo enfriado con hielo con inversión tres veces para detener la reacción. Inmediatamente después de completar cada incubación de 15 minutos y 30 minutos, se añade acetonitrilo enfriado con hielo a cada tubo y los tubos se mezclan por inversión tres veces. Todos los tubos de muestra se incuban a -80°C 60 durante un mínimo de 15 minutos, se descongelan y se vuelven a mezclar por inversión. Se transfieren alícuotas de 650 µl a tubos de sistema de filtro micro-spin de Chromatographic Specialties (membrana de nylon de 0,2 µm, C618505) y se centrifugan a 13.000 rpm durante 48 segundos. Los filtrados de muestra se almacenan a -80°C.

65 Los filtrados de muestra se analizan en LCMS y se calcula el porcentaje que queda después de una incubación de 15 y 30 minutos con respecto a la incubación a los 0 minutos.

La estabilidad metabólica de los diversos compuestos se resume en la Tabla 10 como el porcentaje que queda después de una incubación de 15 ó 30 minutos con fracciones S9 de hígado humano.

ES 2 282 247 T3

TABLA 10

ESTABILIDAD METABÓLICA DE COMPUESTOS SELECCIONADOS DESPUÉS DE 15 Y 30 MINUTOS DE INCUBACIÓN CON FRACCIONES S9 DE HÍGADO HUMANO MOSTRADA COMO PORCENTAJE QUE QUEDA DE LA CONCENTRACIÓN INICIAL DESPUÉS DE UNA INCUBACIÓN DE 0 MINUTOS		
Compuesto	% que queda después de 15 minutos	% que queda después de 30 minutos
83	92±19	91±21
97	94±10	89±12
96	92±19	94±21
89	100±17	98±16
28	100±6	104±12
49	93±6	85±8
64	104±4	88±5
139	109±26	100±10
143	100±3	99±10
146	82±6	63±9
107	84±5	62±6
142	80±11	55±2
69	73±24	63±6
104	53±10	56±18
141	100±9	26±4
134	85±54	36±15
137	93±31	71±17
138	71±4	65±65
132	60±17	40±9
79	67±6	61±14

Ejemplo E

60 *Solubilidad de compuestos seleccionados en formulaciones fisiológicamente compatibles*

Los compuestos de la presente invención presentan una buena solubilidad en agua. Por ejemplo, el compuesto 83 es soluble en agua a 225 mg/ml. El compuesto 83 sustituido con un hidroxilo en C3 tiene una solubilidad en agua menor de 60 µg/ml. Los compuestos 28 y 89 tienen solubilidades a temperatura ambiente de ~30 mg/ml, que pueden aumentar significativamente por calentamiento. Este hallazgo inesperado indica que estos compuestos 3-amino deben formularse fácilmente en composiciones terapéuticas.

ES 2 282 247 T3

Ejemplo F

Efecto de compuestos de ensayo seleccionados sobre el flujo de calcio inducido por antígenos

5 La elevación de la concentración de calcio citoplásmico es un suceso común y crucial que sigue a la activación de muchos tipos de receptores de la superficie celular. Los aumentos en el calcio intracelular que se producen después de la activación de la hidrólisis de lípidos de inositol inducida por agonistas son el resultado de la liberación de calcio del retículo endoplásmico y la entrada de calcio a través de la membrana plasmática. Los aumentos en la concentración de calcio citosólico están implicados en muchas respuestas celulares importantes en el proceso inflamatorio que incluyen 10 adhesión, motilidad, expresión de genes, proliferación y desgranulación. Los cambios en las concentraciones de calcio intracelular pueden afectar a las respuestas celulares tanto a corto como a largo plazo. Un método de ensayo para evaluar el impacto de un compuesto de ensayo sobre el flujo de calcio se proporciona como se indica a continuación.

15 Se transfieren células Jurkat del clon E6.1 cultivadas en medio RPMI suplementado con FBS al 10% y L-Glutamina 2 mM a tubos cónicos de 50 ml y se centrifugan durante 5 minutos a 900 RPM para formar un sedimento celular. Los sobrenadantes resultantes se desechan y cada sedimento se lava en 10 ml de HBSS. Las suspensiones celulares se acumulan y centrifugan durante 5 minutos a 900 RPM para formar un sedimento celular. El sobrenadante resultante se desecha y el sedimento se resuspende en HBSS a 1×10^7 células/ml. La suspensión celular se transfiere a una placa petri de 20 mm y se incuba a 37°C, con 5% de CO₂ durante 20 minutos.

20 20 Un volumen de Fura 2AM se mezcla con un volumen del detergente Pluronic F127. Las células se marcan con 4 µl de solución de sonda por cada ml de suspensión celular. La placa petri se envuelve en papel de aluminio para protegerla de la luz y se pone en un agitador de placas durante 30 minutos a temperatura ambiente.

25 25 Las siguientes etapas se realizan en la campana de flujo laminar con las luces fluorescentes apagadas. La placa petri se retira del agitador y la suspensión celular marcada se transfiere a un tubo cónico de 15 ml y se lava dos veces con HBSS como se ha indicado anteriormente. El sedimento celular se resuspende en 12 ml de HBSS y se deja envuelto en papel de aluminio durante 10 minutos a temperatura ambiente. Se extraen alícuotas de la suspensión celular marcada (100 µl/pocillo) y se introducen en una placa de cultivo de tejidos opaca blanca de 96 pocillos Dynex 96. Se añaden 50 µl de cada muestra de ensayo a los pocillos apropiados y se incuban durante 10 minutos a 37°C en el lector de placas Wallac 1920 Victor™ (las muestras de ensayo se preparan en HBSS a 20 mM, la concentración final es 20 µM). Los compuestos seleccionados se ensayan con respecto a la actividad relacionada con la dosis. Se añaden manualmente muestras de ensayo y activador (mAb anti-CD3 a una concentración final de 4 µg/ml, PharMingen) (50 µl) de tal forma que el tiempo mínimo para adquirir el primer punto de datos después de la estimulación sea aproximadamente 35 30 segundos. La respuesta de entrada de calcio al mAb anti-CD3 se mide como un ensayo de “ criterio de valoración”. La placa entera se lee en 100 segundos usando una cinética de 1 segundo por pocillo.

40 40 La placa se lee antes de la adición de anti-CD3 para controlar el efecto no específico de las muestras/fármacos. La emisión de fluorescencia se mide a 510 nm con excitación que alterna entre 340 y 380 cada segundo usando un par de filtros de excitación/emisión. Los datos de estas longitudes de onda duales se representan como una relación de dos longitudes de onda de excitación. Esta relación es independiente del colorante intracelular y las concentraciones celulares, permitiendo una comparación real entre experimentos.

45 45 El efecto de los compuestos seleccionados sobre el flujo de calcio en las células Jurkat del clon E6.1 expuestas a antígeno se resume en las Tablas 1-6. Por ejemplo, el compuesto 116 inhibía el calcio en 60,9% a 20 µM. La CI₅₀ para el compuesto 119 es menor o igual a 10 µM cuando se examina la actividad de respuesta a la dosis. Este efecto sustancial demostrado sobre el flujo de calcio sería beneficioso en cualquier patología para la que el calcio es un segundo mensajero o molécula efectora significativa, incluyendo pero sin limitación isquemia/reperfusión tal como 50 ictus o infarto de miocardio, enfermedades inflamatorias tales como asma o alergia, trastornos neurales o musculares tales como enfermedad de Parkinson o epilepsia, arritmias cardíacas o hipertensión.

Ejemplo G

Efecto de compuestos seleccionados sobre cambios inducidos por alérgenos en la función pulmonar

55 55 En el asma, la respuesta temprana de las vías respiratorias a la exposición al alérgeno se caracteriza por una broncoconstricción inmediata que alcanza un máximo 20-30 minutos después de la exposición al estímulo, y que normalmente desaparece después de aproximadamente 2 horas. Los antiinflamatorios generalmente no son broncodilatadores activos y no son muy eficaces en el control de la broncoconstricción asmática aguda. Esto hace que sea necesaria una terapia de combinación para tratar tanto la broncoconstricción como la inflamación.

60 Se sensibilizaron cobayas Cam-Hartley a ovalbúmina (OA) en grupos de 5-6 por exposición a una solución aerosolizada de 1% de OA en solución salina durante 15 minutos 2 días consecutivos a través de un nebulizador DeVilbiss, con una sola inyección intradérmica adicional de 3 µg de OA en solución salina el día 1. Se descubrió que los animales tenían una sensibilidad máxima al antígeno aproximadamente 14 días después de la exposición inicial. El día 14, los animales se anestesiaron inicialmente con ketamina (50 mg/kg i.p.) y xilazina (10 mg/kg i.p.), se pesaron y después se mantuvieron con halotano al 1% administrado a través de un cono nasal. La arteria carótida izquierda se canuló con un tubo de PE90 que contenía 200 U/ml de heparina en solución salina. Se realizó una traqueostomía y se insertó una

ES 2 282 247 T3

cánula rellena de líquido (PE 160) a una profundidad de aproximadamente 7 cm en el esófago. El animal se puso en un pletismógrafo y la tráquea se unió a un tubo traqueal de acero inoxidable fijo en el pletismógrafo. La cánula de la carótida se unió a un transductor de presión para controlar la presión sanguínea y el ritmo cardíaco. La cobaya se paralizó con bromuro de pancuronio (0,8 mg/kg) y se ventiló con aire a una frecuencia de 60 Hz y un volumen tidal de 3 ml usando un ventilador de animales pequeños Harvard.

5 Los datos se recogieron durante períodos de 20 segundos a una velocidad de muestreo de 100 Hz en un sistema de registro fisiológico asociado a un ordenador usando un software fisiológico DIREC y se analizaron usando el software ANADAT. Los valores de resistencia pulmonar y de distensibilidad pulmonar dinámica se obtuvieron a partir de las 10 señales de volumen, flujo y presión de acuerdo con el método de Von Neegard & Wirz (1927) usando un modelo de regresión multipuntual isovolumétrico para el análisis (Ludwig, Robatto, *et al.* 1991), y se calcularon como cambios absolutos en resistencia pulmonar (R_L ; cm H₂O/ml/s) o distensibilidad pulmonar (C_{DYN} ; ml/cm H₂O). Las señales de volumen y de presión se calibraron antes de cada serie de experimentos siguiendo procedimientos convencionales.

15 15 Se obtuvieron varias mediciones de la función pulmonar durante un periodo de 5-10 minutos para asegurar una línea basal estacionaria, y después el animal se expuso a OA (al 2% en solución salina) administrada en 6 inspiraciones 20 ticiales como un aerosol nebulizado a un caudal de 5 l/min. A lo largo de todo el experimento se controló de forma continua la función pulmonar y cardiovascular, aunque los datos se recogieron en puntos de tiempo específicos después de la exposición al antígeno (10 s, 1, 2, 3, 4, 5, 10, 20 y 30 min).

25 20 Los compuestos de ensayo se administraron bajo una anestesia ligera con halotano por medio de una sonda oral (0,1-1,0 mg/kg/día q.d.) en 300 μ l de polietilenglicol-200 durante 4 días antes de la exposición a la dosis final administrada 2 horas antes de la exposición al antígeno.

30 25 Los efectos protectores de los compuestos de ensayo seleccionados sobre la broncoconstricción inducida por alérgeno se resumen en las Figuras 4 y 5. La duración de la actividad del compuesto 89 se muestra en las Figuras 6 y 7. Los datos se presentan como media \pm error típico de la media. La inhibición de la broncoconstricción por los compuestos de ensayo sería beneficiosa en cualquier enfermedad en la que se manifiesta una constricción aguda del músculo liso en respuesta a la exposición al alérgeno, tal como asma y alergia.

35

40

45

50

55

60

65

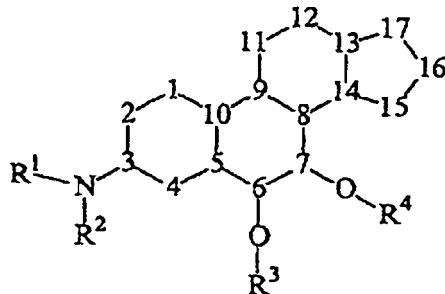
REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de la fórmula

5

10

15



20 y sales farmacéuticamente aceptables, solvatos, estereoisómeros del mismo, aislados o en mezcla, donde independientemente en cada caso:

25 R^1 y R^2 se seleccionan entre hidrógeno u oxígeno para formar de esta manera nitro u oxima, amino, $-SO_3-R$, y grupos orgánicos que tienen 1-30 carbonos y que contienen opcionalmente 1-6 heteroátomos seleccionados entre nitrógeno, oxígeno, fósforo, silicio y azufre, donde R^2 puede ser un enlace directo al número 3, o R^1 y R^2 pueden formar, junto con el N al que están unidos, una estructura heterocíclica que puede ser parte de un grupo orgánico que tiene 1-30 carbonos y que contiene opcionalmente 1-6 heteroátomos seleccionados entre nitrógeno, oxígeno y silicio; o R^1 puede ser una cadena de 2 ó 3 átomos unida al número 2 de manera que $-N-R^1-$ forme parte de una estructura bicíclica condensada con el anillo A;

30 R^3 y R^4 se seleccionan entre enlaces directos a 6 y 7 respectivamente de manera que formen grupos carbonilo, hidrógeno o un grupo protector de tal forma que R^3 y/o R^4 sea parte del grupo protector de hidroxilo o carbonilo;

35 cada uno de los números 1 a 17 representa un carbono, donde los carbonos de los números 1, 2, 4, 11, 12, 15, 16 y 17 pueden estar sustituidos independientemente con

40 (a) uno de: $=O$, $=C(R^5)(R^5)$, $=C=C(R^5)(R^5)$, $-C(R^5)(R^5)(C(R^5)(R^5))_n-$ y $-(O(C(R^5)(R^5))_nO)-$ donde n varía de 1 a 6; o
 (b) dos de los siguientes, que se seleccionan independientemente: $-X$, $-N(R^1)(R^2)$, $-R^5$ y $-OR^6$;

45 y donde los carbonos de los números 5, 8, 9, 10, 13 y 14 pueden estar sustituidos independientemente con uno de $-X$, $-R^5$, $-N(R^1)(R^2)$ o $-OR^6$;

50 además de los grupos $-OR^3$ y $-OR^4$ que se muestran, cada uno de los carbonos 6 y 7 puede estar independientemente sustituido con uno de $-X$, $-N(R^1)(R^2)$, $-R^5$ o $-OR^6$;

55 cada uno de los anillos A, B, C y D está independientemente totalmente saturado, parcialmente saturado o totalmente insaturado;

R^5 en cada caso se selecciona independientemente entre H, X y un resto orgánico C_{1-30} que puede contener opcionalmente al menos un heteroátomo seleccionado entre el grupo que consiste en boro, halógeno, nitrógeno, oxígeno, silicio y azufre; donde dos grupos geminales R^5 pueden formar juntos un anillo con el átomo de carbono al que están unidos;

60 R^6 es H o un grupo protector de tal forma que $-OR^6$ sea un grupo hidroxilo protegido, donde los grupos $-OR^6$ próximos entre sí pueden formar una estructura cíclica que protege a los grupos hidroxilo próximos entre sí, y donde los grupos geminales $-OR^6$ pueden formar juntos una estructura cíclica que protege a un grupo carbonilo; y

65 X representa fluoruro, cloruro, bromuro y yoduro; pero sin incluir pregnan-6,7-diol-3-ona, 3-oxima, 6,7-diacetato ($6\alpha,7\beta$); ácido 3-semicarbazónil helvólico; 2,4-dinitrofenil-hidrazona de helvónato de metilo; 2,4-dinitrofenilhidrazona del ácido helvólico; y 2,4-dinitrofenilhidrazona de helvolinato de metilo.

65 2. Un compuesto de la reivindicación 1, en el que

cada uno de los números 1 a 16 representa un carbono, donde los carbonos de los números 1, 2, 4, 11, 12, 15 y 16 pueden estar sustituidos independientemente con

ES 2 282 247 T3

(a) uno de: $=O$, $=C(R^5)(R^5)$, $=C=C(R^5)(R^5)$, $-C(R^5)(R^5)(C(R^5)(R^5))_n$ - y $-(O(C(R^5)(R^5))_nO)$ - donde n varía de 1 a 6; o

(b) dos de los siguientes, que se seleccionan independientemente: $-X$, $-N(R^1)(R^2)$, $-R^5$ y $-OR^6$; y

el número 17 representa un carbono sustituido con

(a) uno de: $=C(R^{5a})(R^{5a})$, $=C=C(R^{5a})(R^{5a})$ y $-C(R^{5a})(R^{5a})(C(R^{5a})(R^{5a}))_n$. donde n varía de 1 a 6; o

(b) dos de los siguientes, que se seleccionan independientemente: $-X$, $-N(R^1)(R^2)$ y $-R^{5a}$;

donde R^{5a} en cada caso se selecciona independientemente entre H, X y un resto orgánico C_{1-30} que puede contener opcionalmente al menos un heteroátomo seleccionado entre el grupo que consiste en boro, halógeno, nitrógeno, silicio y azufre; donde dos grupos geminales R^5 pueden formar juntos un anillo con el átomo de carbono al que están unidos.

3. Un compuesto de la reivindicación 2, en el que R^{5a} en cada caso se selecciona independientemente entre un hidrocarbono C_{1-30} , un halocarburo C_{1-30} , un hidrohalocarburo C_{1-30} , H y X.

4. Un compuesto de la reivindicación 2, en el que R^{5a} en cada caso se selecciona independientemente entre un hidrocarbono C_{1-10} , un halocarburo C_{1-10} , un hidrohalocarburo C_{1-10} , H y X.

5. Un compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en el que R^1 y R^2 se seleccionan entre hidrógeno u oxígeno para formar de esta manera nitro u oxima, amino, $-SO_3-R$, y grupos orgánicos que tienen 1-30 carbonos y que contienen opcionalmente 1-6 heteroátomos seleccionados entre oxígeno, fósforo, silicio y azufre, donde R^2 puede ser un enlace directo al número 3, o R^1 y R^2 pueden formar, junto con el N al que están unidos, una estructura heterocíclica que puede ser parte de un grupo orgánico que tiene 1-30 carbonos y que contiene opcionalmente 1-6 heteroátomos seleccionados entre oxígeno y silicio; o R^1 puede ser una cadena de 2 ó 3 átomos unida al número 2 de manera que $-N-R^1-$ forme parte de una estructura bicíclica condensada con el anillo A.

6. Un compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en el que

cada uno de los carbonos de los números 1, 2, 4, 11, 12, 15 y 16 está sustituido con dos hidrógenos a menos que dicho carbono sea parte de un enlace insaturado;

cada uno de los carbonos de los números 5, 8, 9 y 14 está sustituido con un hidrógeno a menos que dicho carbono sea parte de un enlace insaturado;

el carbono del número 10 está sustituido con metilo; y

el carbono del número 13 está sustituido con metilo a menos que sea parte de un enlace insaturado.

7. Un compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1-6, en el que

cada uno de los carbonos de los números 1, 2, 4, 11, 12, 15 y 16 está sustituido con dos hidrógenos;

cada uno de los carbonos de los números 5, 8, 9 y 14 está sustituido con un hidrógeno;

el carbono del número 10 está sustituido con metilo; y

el carbono del número 13 está sustituido con metilo a menos que sea parte de un enlace insaturado.

8. Un compuesto de la reivindicación 1, en el que

R^1 y R^2 son hidrógeno;

R^3 y R^4 se seleccionan entre enlaces directos a 6 y 7 respectivamente, de manera que se formen grupos carbonilo, hidrógeno o un grupo protector de tal forma que R^3 y/o R^4 sea parte del grupo protector de hidroxilo o carbonilo; y además de los grupos $-OR^3$ y $-OR^4$ que se muestran, cada uno de los carbonos 6 y 7 está sustituido con hidrógeno a menos que se excluya debido a que $-OR^3$ o $-OR^4$ representen un grupo carbonilo;

cada uno de los carbonos de los números 1, 2, 4, 11, 12, 15 y 16 está sustituido con dos hidrógenos a menos que dicho carbono sea parte de un enlace insaturado;

cada uno de los carbonos de los números 5, 8, 9 y 14 está sustituido con un hidrógeno a menos que dicho carbono sea parte de un enlace insaturado;

el carbono del número 10 está sustituido con metilo;

ES 2 282 247 T3

el carbono del número 13 está sustituido con metilo a menos que sea parte de un enlace insaturado;

el carbono del número 17 está sustituido con

5 (a) uno de: $=O$, $=C(R^5)(R^5)$, $=C=C(R^5)(R^5)$, $-C(R^5)(R^5)(C(R^5)(R^5))_n-$ y $-(O(C(R^5)(R^5))_nO)-$ donde n varía de 1 a 6; o

(b) dos de los siguientes, que se seleccionan independientemente: $-X$, $-N(R^1)(R^2)$, $-R^5$ y $-OR^6$;

10 cada uno de los anillos A, B, C y D está independientemente totalmente saturado, parcialmente saturado o totalmente insaturado;

15 R^5 en cada caso se selecciona independientemente entre H, X, y un resto orgánico C_{1-30} que puede contener opcionalmente al menos un heteroátomo seleccionado entre el grupo que consiste en boro, halógeno, nitrógeno, oxígeno, silicio y azufre;

donde dos grupos geminales R^5 pueden formar juntos un anillo con el átomo de carbono al que están unidos;

20 R^6 es H o un grupo protector de tal forma que $-OR^6$ sea un grupo hidroxilo protegido, donde los grupos $-OR^6$ próximos entre sí pueden formar juntos una estructura cíclica que protege a los grupos hidroxilo próximos entre sí, y donde los grupos geminales $-OR^6$ pueden formar juntos una estructura cíclica que protege a un grupo carbonilo; y

X representa fluoruro, cloruro, bromuro y yoduro.

25 9. Un compuesto de la reivindicación 8, en el que R^1 y R^2 son hidrógeno;

R^3 y R^4 se seleccionan entre hidrógeno y grupos protectores tales que R^3 y/o R^4 sea parte del grupo protector de hidroxilo;

30 cada uno de los carbonos de los números 1, 2, 4, 11, 12, 15 y 16 está sustituido con dos hidrógenos;

cada uno de los carbonos de los números 5, 8, 9 y 14 está sustituido con un hidrógeno;

el carbono del número 10 está sustituido con metilo;

35 el carbono del número 13 está sustituido con metilo a menos que sea parte de un enlace insaturado;

el carbono del número 17 está sustituido con

40 (a) uno de: $=C(R^5)(R^5)$ y $=C=C(R^5)(R^5)$; o

(b) dos de los siguientes, que se seleccionan independientemente: $-X$, $-N(R^1)(R^2)$ y $-R^5$;

cada uno de los anillos A, B, C y D está independientemente totalmente saturado o parcialmente saturado;

45 R^5 en cada caso se selecciona independientemente entre H, X e hidrocarburos, halocarbonos y halohidrocarburos C_{1-30} ; y

X representa fluoruro, cloruro, bromuro y yoduro.

50 10. Un compuesto de la reivindicación 9, en el que R^1 y R^2 son hidrógeno;

R^3 y R^4 se seleccionan entre hidrógeno y grupos protectores tales que R^3 y/o R^4 sean/sea parte del grupo protector de hidroxilo;

55 cada uno de los carbonos de los números 1, 2, 4, 11, 12, 15 y 16 está sustituido con dos hidrógenos;

cada uno de los carbonos de los números 5, 8, 9 y 14 está sustituido con un hidrógeno;

60 el carbono del número 10 está sustituido con metilo;

el carbono del número 13 está sustituido con metilo a menos que sea parte de un enlace insaturado;

el carbono del número 17 está sustituido con

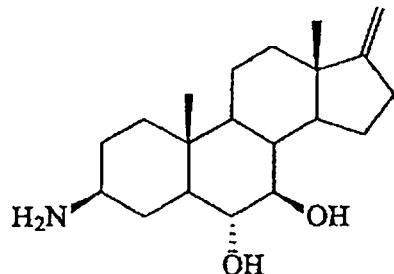
65 (a) uno de: $=C(R^5)(R^5)$; o

(b) dos de $-R^5$;

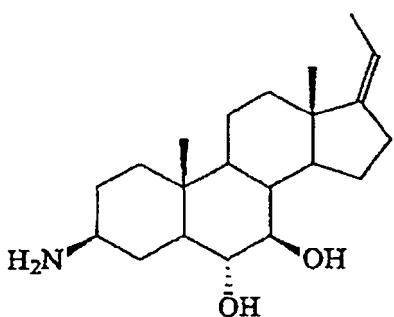
ES 2 282 247 T3

cada uno de los anillos A, B, C y D está independientemente totalmente saturado o parcialmente saturado; y R⁵ en cada caso se selecciona independientemente entre H e hidrocarburos C₁₋₃₀.

5 11. Un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1-10, de la fórmula

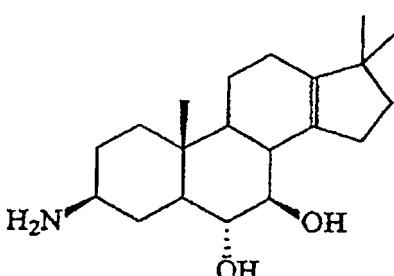


20 12. Un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1-10, de la fórmula



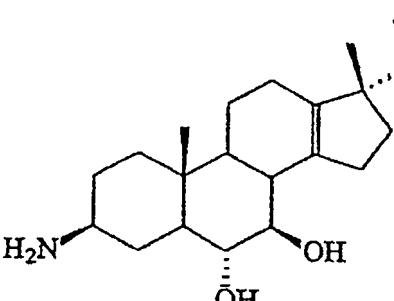
35

13. Un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1-10, de la fórmula



50

14. Un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1-10, de la fórmula

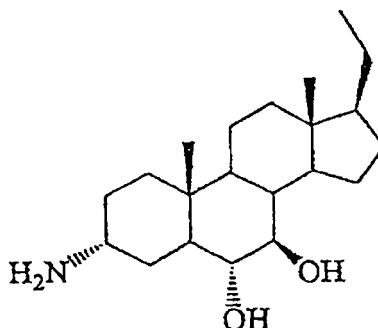


65

ES 2 282 247 T3

15. Un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1-10, de la fórmula

5

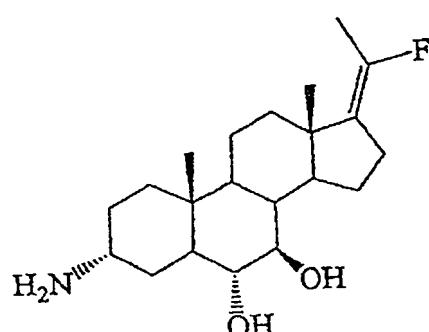


10

15

16. Un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1-10, de la fórmula

20



25

30

35

17. Un compuesto de la reivindicación 1, en el que 17 está sustituido con $=C(R^5)(R^5)$ y R^5 se selecciona entre hidrógeno, halógeno, alquilo C_{1-6} , hidroxialquilo C_{1-6} y $-CO_2$ -alquilo C_{1-6} .

40

18. Un compuesto de la reivindicación 1, en el que 17 está sustituido con alquilo C_{1-6} o haloalquilo C_{1-6} .

45

19. Un compuesto de la reivindicación 1, en el que 17 está sustituido con $-OR^6$ o $=O$, donde R^6 es hidrógeno.

50

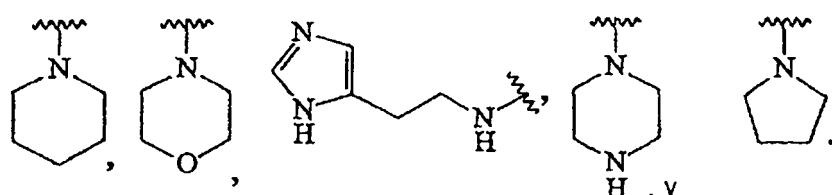
20. Un compuesto de la reivindicación 1, en el que R^1 se selecciona entre $-C(=O)-R^7$, $-C(=O)NH-R^7$; $-SO_2-R^7$; donde R^7 se selecciona entre alquilo, heteroalquilo, arilo y heteroarilo.

21. Un compuesto de la reivindicación 20, en el que R^7 se selecciona entre hidrocarbilo C_{1-10} .

22. Un compuesto de la reivindicación 20, en el que R^7 comprende biotina.

55

23. Un compuesto de la reivindicación 1, en el que $(R^1)(R^2)N-$ se selecciona entre



60

24. Un compuesto de la reivindicación 1, en el que R^1 es hidrógeno y R^2 comprende un carbociclo.

65

25. Un compuesto de la reivindicación 24, en el que el carbociclo es fenilo.

26. Un compuesto de la reivindicación 25, en el que R^2 se selecciona entre 3-metilfenilo; 4-hidroxifenilo; y 4-sulfonamidafenilo.

ES 2 282 247 T3

27. Un compuesto de la reivindicación 1, en el que R¹ es hidrógeno y R² comprende un hidrocarbilo C₁₋₁₀.

28. Un compuesto de la reivindicación 1, en el que R¹ es hidrógeno y R² es heteroalquilo.

5 29. Un compuesto de la reivindicación 28, en el que R² se selecciona entre alquil C₁₋₁₀-W-alquileno C₁₋₁₀ donde W se selecciona entre O y NH; HO-alquileno C₁₋₁₀-; y HO-alquileno C₁₋₁₀-W-alquileno C₁₋₁₀- donde W se selecciona entre O y NH.

10 30. Un compuesto de la reivindicación 1, en el que R¹ es hidrógeno y R² es -CH₂-R⁷ donde R⁷ se selecciona entre alquilo, heteroalquilo, arilo y heteroarilo.

31. Un compuesto de la reivindicación 30, en el que R⁷ se selecciona entre fenilo alquil-sustituido; fenilo halógeno-sustituido; fenilo alcoxi-sustituido; fenilo ariloxi-sustituido; y fenilo nitro-sustituido.

15 32. Un compuesto de la reivindicación 1, en el que cada uno de R¹ y R² es hidrógeno.

33. Un compuesto de las reivindicaciones 1 ó 32, en el que cada uno de R³ y R⁴ es hidrógeno.

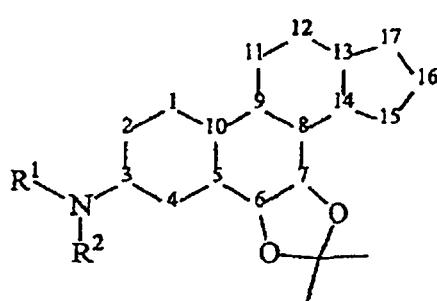
34. Un compuesto de las reivindicaciones 32 ó 33, en el que el carbono del número 17 está sustituido con

20 (a) uno de los siguientes: C(R^{5a})(R^{5a}), =C=C(R^{5a})(R^{5a}) y -C(R^{5a})(R^{5a})(C(R^{5a})(R^{5a}))_n- donde n varía de 1 a 6; o

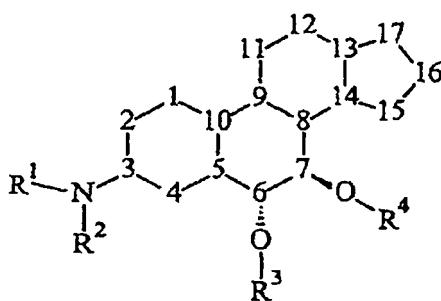
(b) dos de los siguientes, que se seleccionan independientemente: -X, -N(R¹)(R²) y -R^{5a};

25 donde R^{5a} en cada caso se selecciona independientemente entre H, X y un resto C₁₋₃₀ que puede contener opcionalmente al menos un heteroátomo seleccionado entre el grupo que consiste en boro, halógeno, nitrógeno, silicio y azufre; donde dos grupos geminales R⁵ pueden formar juntos un anillo con el átomo de carbono al que están unidos.

30 35. Un compuesto de la reivindicación 1, en el que R³ y R⁴ juntos forman un cetal de la estructura



45 36. Un compuesto de la reivindicación 1, en el que -OR³ y -OR⁴ tienen la estereoquímica mostrada



60 37. Un compuesto de la reivindicación 1, en el que -N(R¹)(R²) está en una forma de sal.

38. Un compuesto de la reivindicación 1, en el que -N(R¹)(R²) está en una forma de sal y la sal es una sal de halógeno o acetato.

65 39. Un compuesto de la reivindicación 1, en el que al menos uno de cada uno de los carbonos de los números 10 y 13 está sustituido con metilo.

ES 2 282 247 T3

40. Un compuesto de la reivindicación 1, en el que cada uno de R¹ y R² se selecciona independientemente entre hidrógeno y grupos orgánicos que tienen 1-20 carbonos y que contienen opcionalmente 1-5 heteroátomos seleccionados entre nitrógeno, oxígeno, silicio y azufre.

5 41. Un compuesto de la reivindicación 1, en el que

R¹ y R² se seleccionan independientemente entre hidrógeno, R⁸, R⁹, R¹⁰, R¹¹ y R¹² donde R⁸ se selecciona entre alquilo, heteroalquilo, arilo y heteroarilo; R⁹ se selecciona entre (R⁸)_r-alquileno, (R⁸)_r-heteroalquileno, (R⁸)_r-arileno y (R⁸)_r-heteroarileno; R¹⁰ se selecciona entre (R⁹)_r-alquileno, (R⁹)_r-heteroalquileno, (R⁹)_r-arileno y (R⁹)_r-heteroarileno; R¹¹ se selecciona entre (R¹⁰)_r-alquileno, (R¹⁰)_r-heteroalquileno, (R¹⁰)_r-arileno y (R¹⁰)_r-heteroarileno, R¹² se selecciona entre (R¹¹)_r-alquileno, (R¹¹)_r-heteroalquileno, (R¹¹)_r-arileno y (R¹¹)_r-heteroarileno, y r se selecciona entre 0, 1, 2, 3, 4 y 5, con la condición de que R¹ y R² puedan unirse a un átomo común de manera que formen un anillo con el átomo común.

15 42. Un compuesto de las reivindicaciones 1 ó 41, en el que

R³ y R⁴ se seleccionan entre hidrógeno y grupos protectores tales que R³ y/o R⁴ sea parte del grupo protector de hidroxilo;

20 cada uno de los carbonos de los números 1, 2, 4, 11, 12, 15 y 16 está sustituido con dos hidrógenos a menos que dicho carbono sea parte de un enlace insaturado;

25 cada uno de los carbonos de los números 5, 8, 9 y 14 está sustituido con un hidrógeno a menos que dicho carbono sea parte de un enlace insaturado;

25 el carbono del número 10 está sustituido con metilo;

el carbono del número 13 está sustituido con metilo a menos que sea parte de un enlace insaturado;

30 el carbono del número 17 está sustituido con

(a) uno de: =C(R⁵)(R⁵) y =C=C(R⁵)(R⁵); o

(b) dos de -R⁵;

35 cada uno de los anillos A, B, C y D está independientemente totalmente saturado o parcialmente saturado; y R⁵ en cada caso se selecciona independientemente entre H e hidrocarburos C₁₋₁₀.

43. Un compuesto de las reivindicaciones 1, 41 ó 42, en el que R¹ y R² se seleccionan independientemente entre hidrógeno, R⁸, R⁹, R¹⁰, R¹¹ y R¹² donde R⁸ se selecciona entre alquilo C₁₋₁₀, heteroalquilo C₁₋₁₀ que comprende 1, 2 ó 3 heteroátomos, arilo C₆₋₁₀ y heteroarilo C₃₋₁₅ que comprende 1, 2 ó 3 heteroátomos; R⁹ se selecciona entre (R⁸)_r-alquileno C₁₋₁₀, (R⁸)_r-heteroalquileno C₁₋₁₀ que comprende 1, 2 ó 3 heteroátomos, (R⁸)_r-arileno C₆₋₁₀ y (R⁸)_r-heteroarileno C₃₋₁₅ que comprende 1, 2 ó 3 heteroátomos; R¹⁰ se selecciona entre (R⁹)_r-alquileno C₁₋₁₀, (R⁹)_r-heteroalquileno C₁₋₁₀ que comprende 1, 2 ó 3 heteroátomos, (R⁹)_r-arileno C₆₋₁₀ y (R⁹)_r-heteroarileno C₃₋₁₅ que comprende 1, 2 ó 3 heteroátomos; R¹¹ se selecciona entre (R¹⁰)_r-alquileno C₁₋₁₀, (R¹⁰)_r-heteroalquileno C₁₋₁₀ que comprende 1, 2 ó 3 heteroátomos, (R¹⁰)_r-arileno C₆₋₁₀ y (R¹⁰)_r-heteroarileno C₃₋₁₅ que comprende 1, 2 ó 3 heteroátomos, R¹² se selecciona entre (R¹¹)_r-alquileno C₁₋₁₀, (R¹¹)_r-heteroalquileno C₁₋₁₀ que comprende 1, 2 ó 3 heteroátomos, (R¹¹)_r-arileno C₆₋₁₀ y (R¹¹)_r-heteroarileno C₃₋₁₅ que comprende 1, 2 ó 3 heteroátomos, y r se selecciona entre 0, 1, 2, 3, 4 y 5, con la condición de que R¹ y R² puedan unirse a un átomo común de manera que formen un anillo con el átomo común.

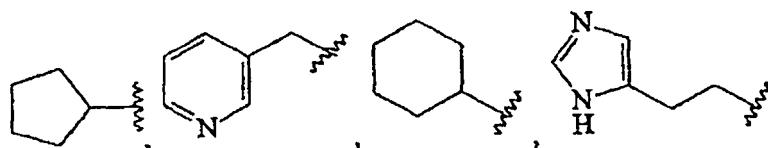
50 44. Un compuesto de las reivindicaciones 1, 41 ó 42, en el que R¹ y R² se seleccionan entre hidrógeno, CH₃-, CH₃(CH₂)₂-, CH₃(CH₂)₄-, CH₃CO-, C₆H₅CO- (CH₃)₂CHSO₂-, C₆H₅SO₂-, C₆H₅NHCO-, CH₃(CH₂)₂NH(CH₂)₂-, (CH₃)₂N(CH₂)₂-, HOCH₂CH₂-, HOCH₂(CH₂)₄-, HOCH₂CH₂NHCH₂CH₂-, 3-(CH₃)C₆H₄-, 4-(HO)C₆H₄-, 4-(H₂NSO₂)C₆H₄-, 4-((CH₃)₂CH)C₆H₄-CH₃-, 2-(F)C₆H₄-CH₂-, 3-(CF₃)C₆H₄-CH₂-r 2-(CH₃O)C₆H₄-CH₂-, 4-(CF₃O)C₆H₄-CH₂-, 3-(C₆H₅O)C₆H₄-CH₂-, 3-(NO₂)C₆H₄-CH₂-

60

65

ES 2 282 247 T3

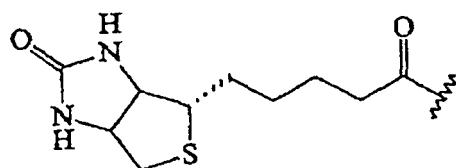
5



y

10

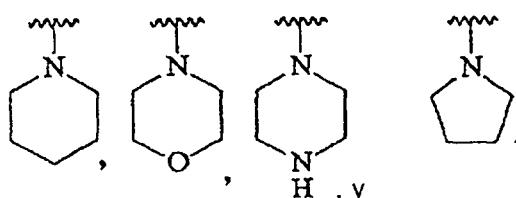
15



o R¹ y R² pueden enlazarse junto con el nitrógeno al que están unidos y formar un heterociclo seleccionado entre:

20

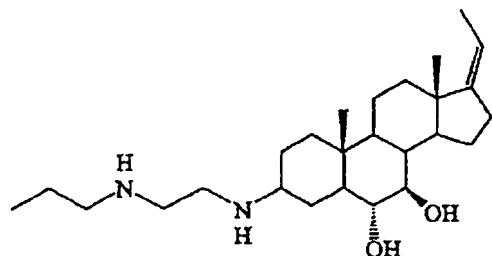
25



40

45. Un compuesto de las reivindicaciones 1 ó 41, de la fórmula

30

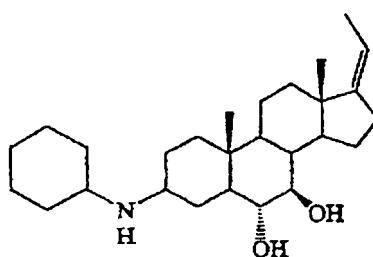


35

46. Un compuesto de las reivindicaciones 1 ó 41, de la fórmula

45

50

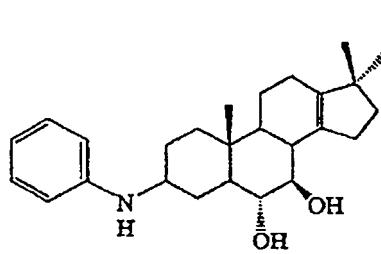


55

47. Un compuesto de las reivindicaciones 1 ó 41, de la fórmula

60

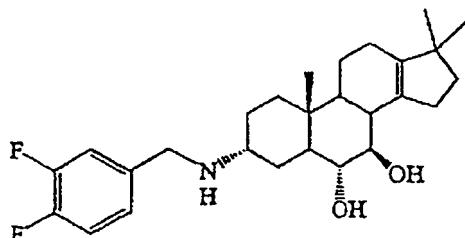
65



48. Un compuesto de las reivindicaciones 1 ó 41, de la fórmula

5

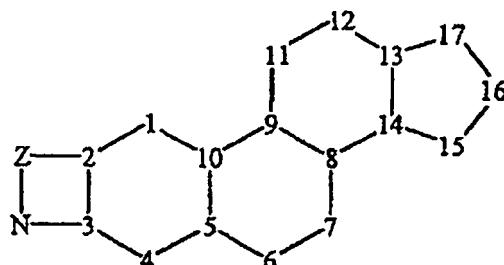
10



49. Un compuesto de la reivindicación 1, en el que R^1 es una cadena de 2 ó 3 átomos unida al número 2 de forma que $-N-R^1-$ forme parte de una estructura bicíclica condensada con el anillo A, teniendo el compuesto la fórmula:

20

25



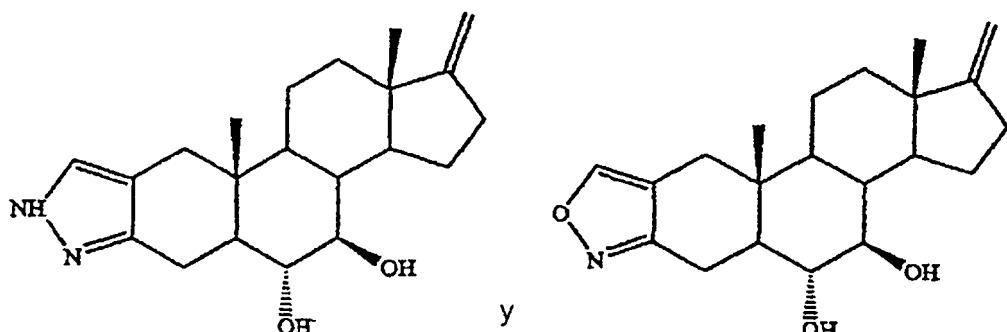
en la que Z representa 2 ó 3 átomos, seleccionados independientemente entre C, N y O siempre que dé como resultado una estructura estable, y el anillo que incluye Z puede estar saturado o insaturado.

50. Un compuesto de la reivindicación 49, seleccionado entre

35

40

45



51. Una sal hidrocloruro o acetato del compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1-50.

50

52. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1-50 y un vehículo, excipiente o diluyente farmacéuticamente aceptable.

55

53. El compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1-51 para uso en un método para tratar terapéuticamente la inflamación.

60

54. El compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1-51 para uso en un método para tratar profilácticamente la inflamación.

65

55. El compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1-51 para uso en el tratamiento del asma.

56. El compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1-51 para uso en un método para tratar una enfermedad alérgica incluyendo pero sin limitación indicaciones dérmicas y oculares.

65

57. El compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1-51 para uso en un método para tratar una enfermedad pulmonar obstructiva crónica.

58. El compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1-51 para uso en el tratamiento de dermatitis atópica.

ES 2 282 247 T3

- 59. El compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1-51 para uso en el tratamiento de tumores sólidos.
- 60. El compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1-51 para uso en el tratamiento de SIDA.
- 5 61. El compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1-51 para uso en el tratamiento de lesión por isquemia-reperfusión.
- 62. El compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1-51 para uso en el tratamiento de arritmias cardíacas.

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

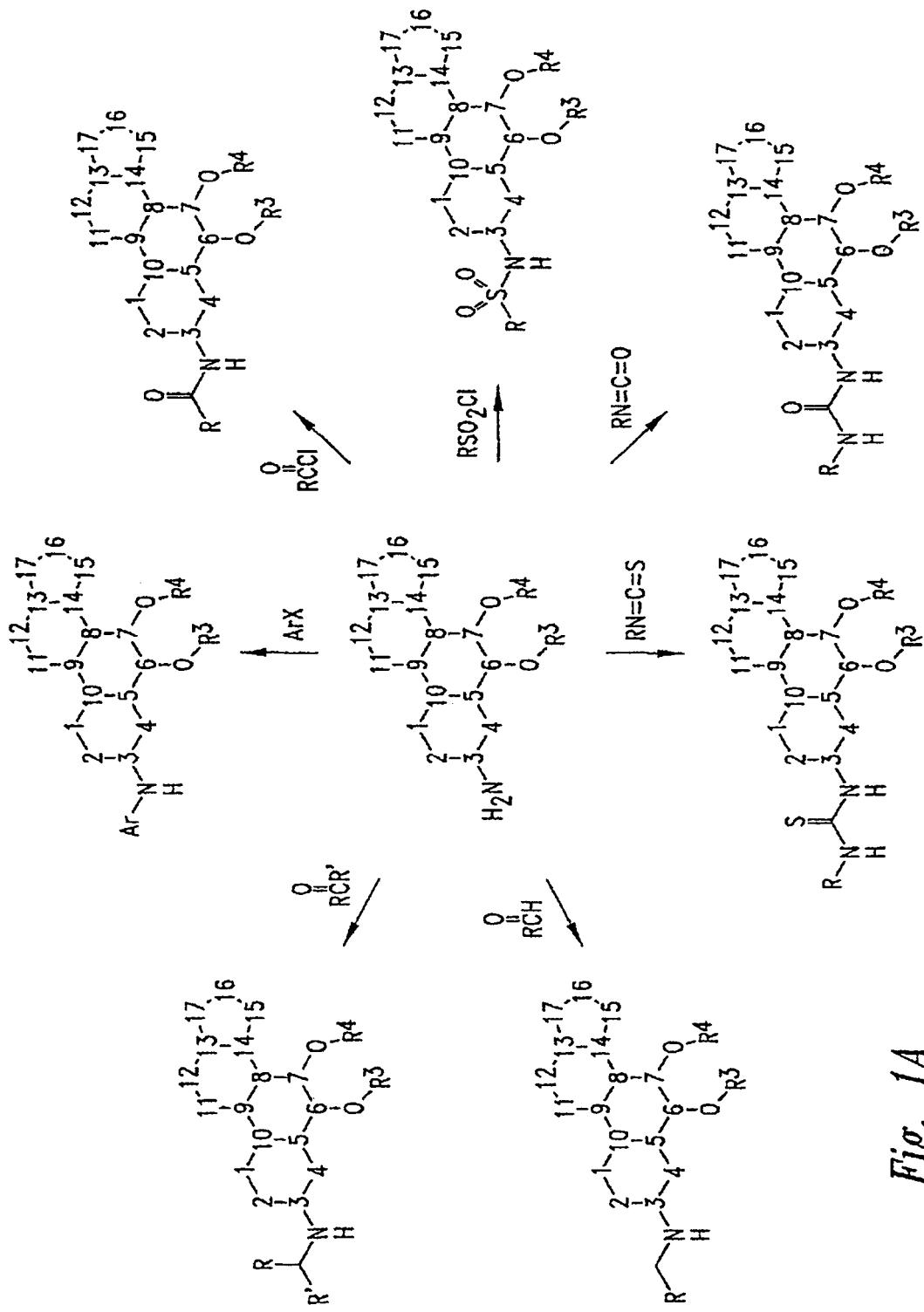


Fig. 1A

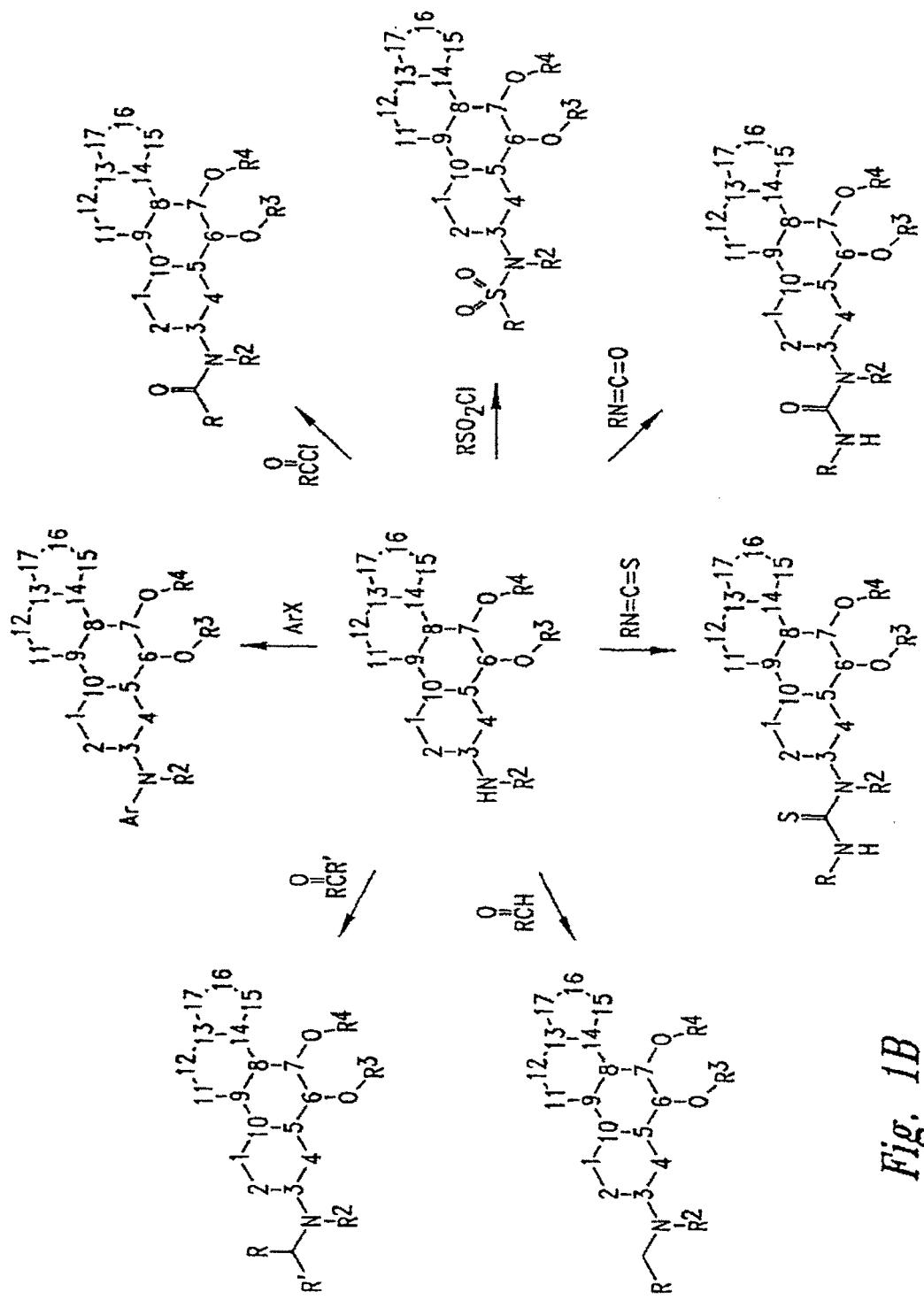


Fig. 1B

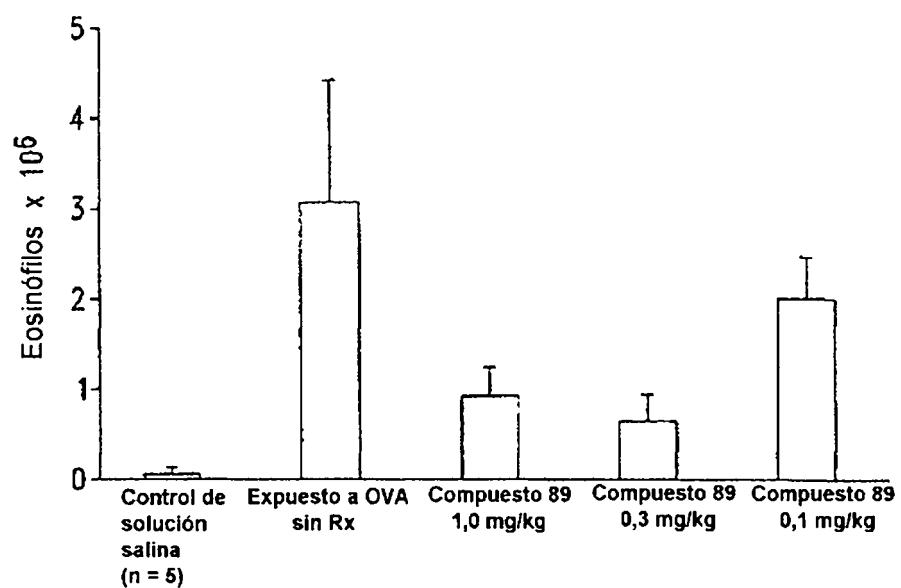


Fig. 2A

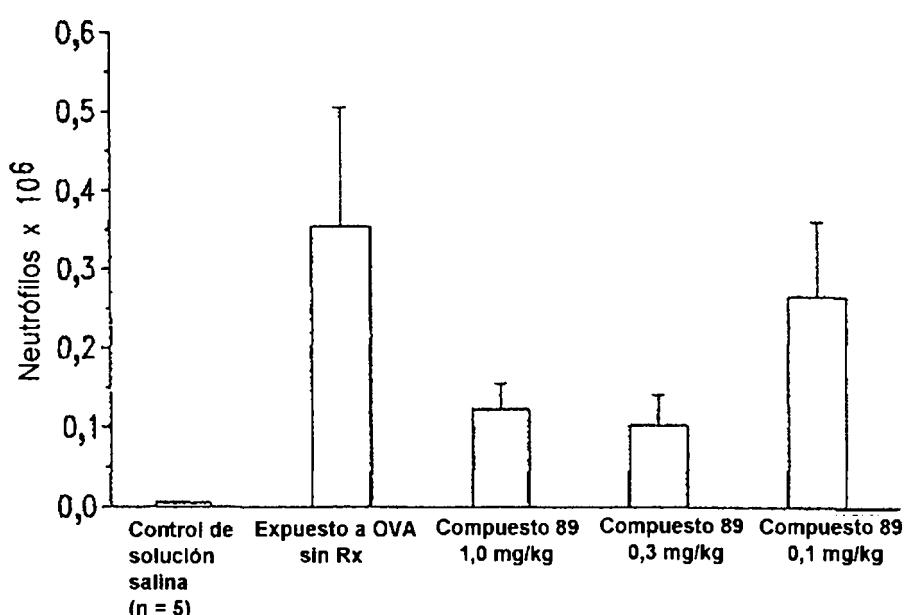


Fig. 2B

ES 2 282 247 T3

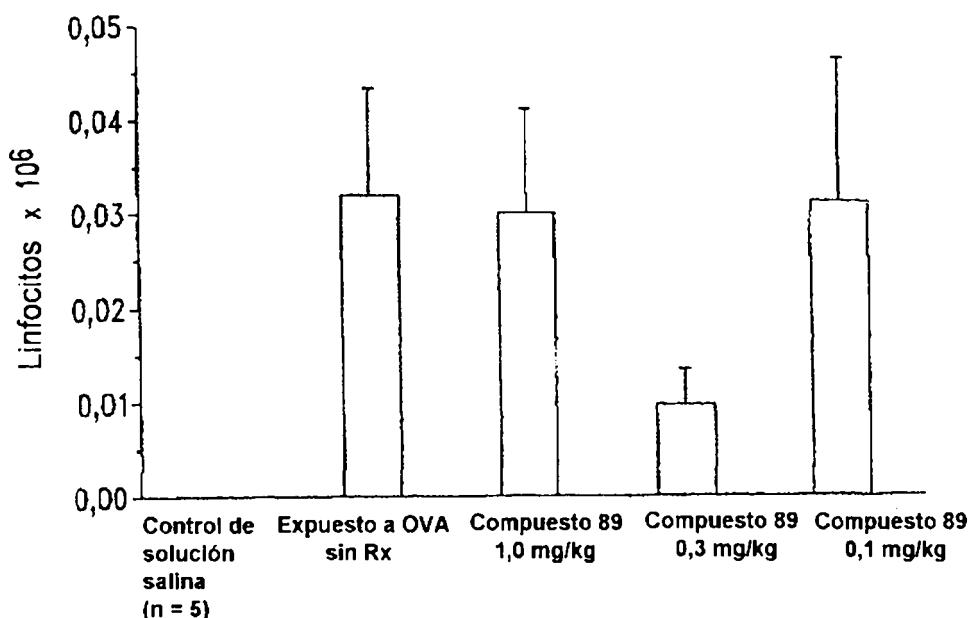


Fig. 2C

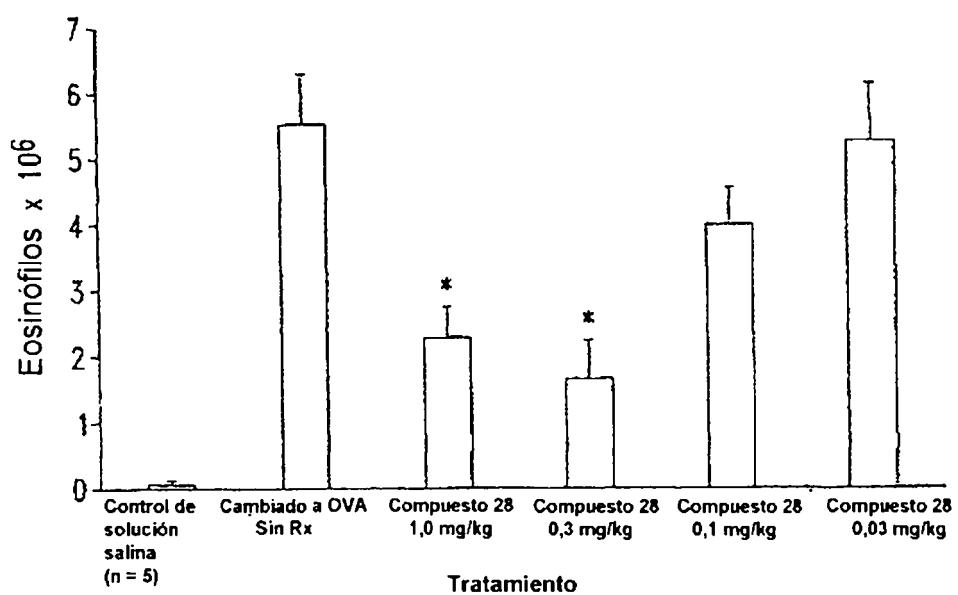


Fig. 3A

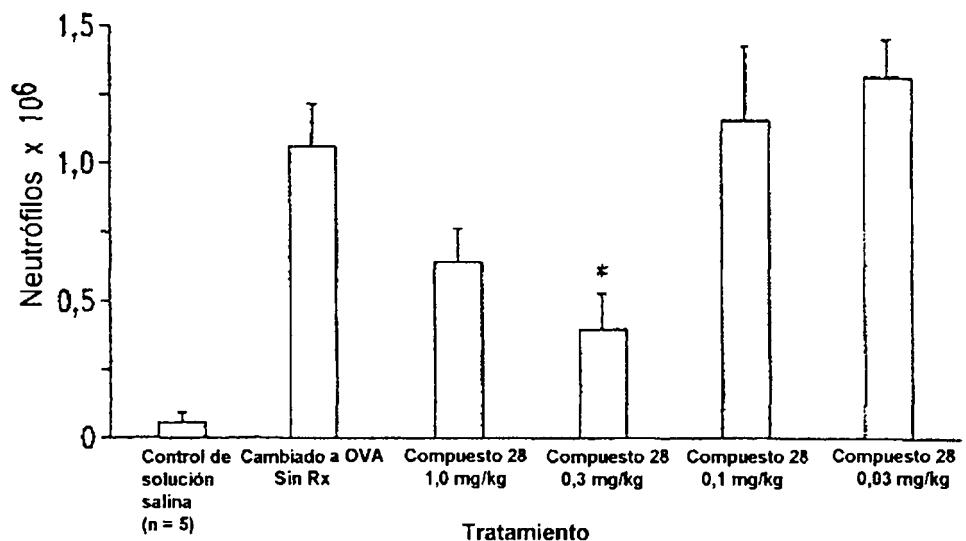


Fig. 3B

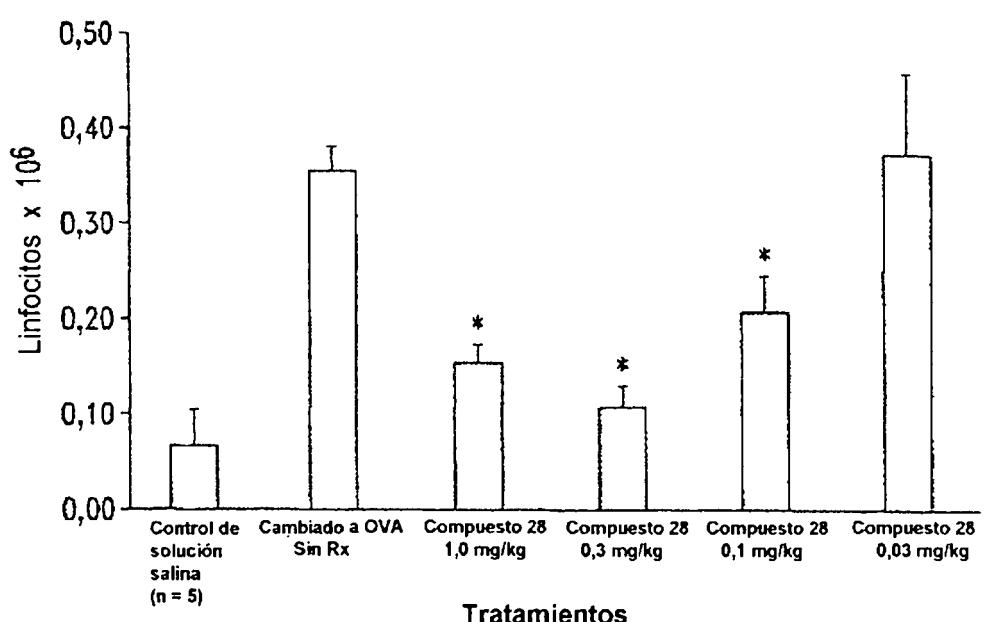


Fig. 3C

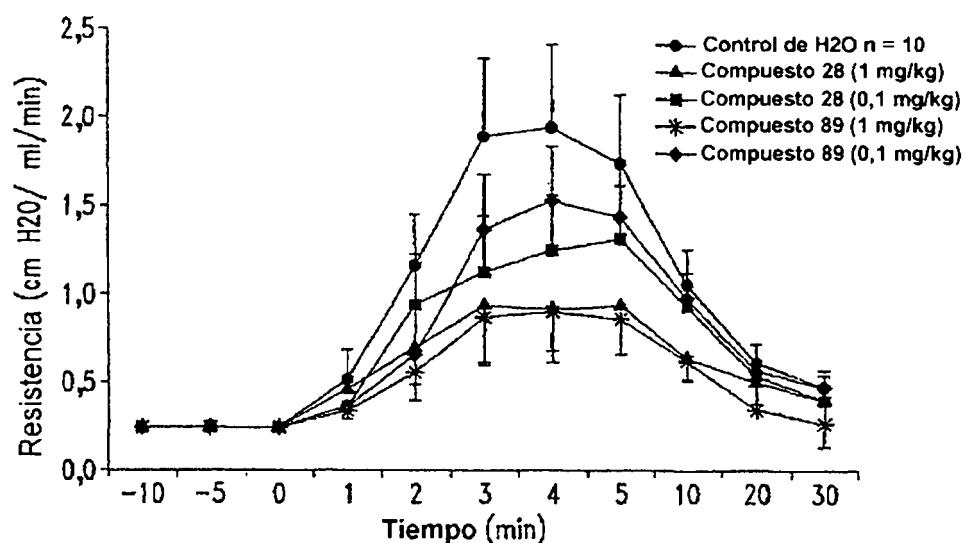


Fig. 4

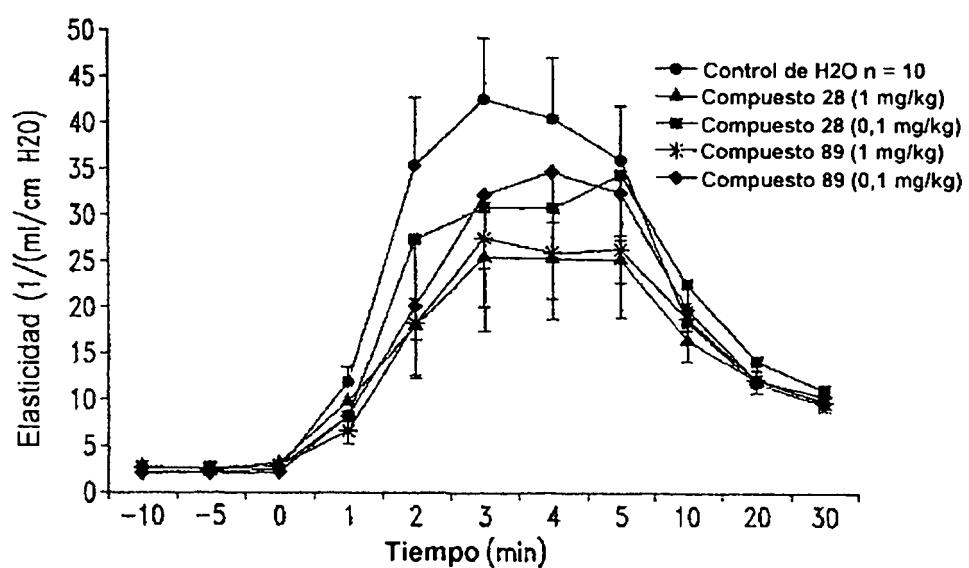


Fig. 5

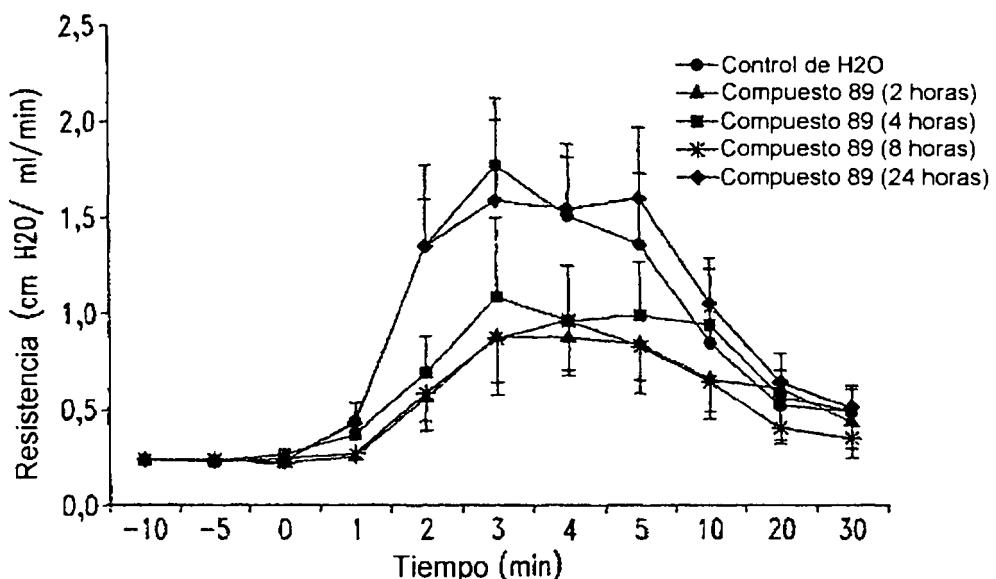


Fig. 6

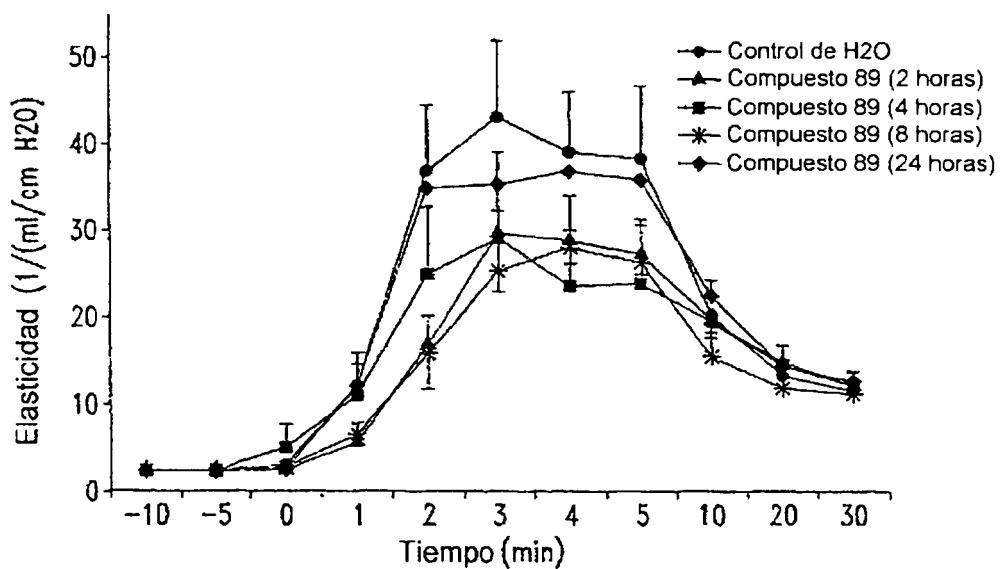


Fig. 7