

(11) *Número de Publicação:* PT 92113 B

(51) *Classificação Internacional:* (Ed. 6)

C07J001/00 A

A61K031/565 B

(12) *FASCÍCULO DE PATENTE DE INVENÇÃO*

(22) *Data de depósito:* 1989.10.26

(30) *Prioridade:* 1988.10.27 US 263091

(43) *Data de publicação do pedido:*
1990.04.30

(45) *Data e BPI da concessão:*
12/94 1994.12.06

(73) *Titular(es):*

MERRELL DOW PHARMACEUTICALS, INC.
2110 EAST GALBRAITH ROAD CINCINNATI, OHIO
45215 US

(72) *Inventor(es):*

JOHN O'NEAL JOHNSTON US
GENE WARWICK HOLBERT US

(74) *Mandatário(s):*

ANTÓNIO LUÍS LOPES VIEIRA DE SAMPAIO
RUA DE MIGUEL LUPI 16 R/C 1200 LISBOA PT

(54) *Epígrafe:* PROCESSO PARA A PREPARAÇÃO DE NOVOS DERIVADOS ESTERÓIDES 3BETA,
17BETA-HIDROXI--SUBSTITUÍDOS E DE COMPOSTOS ESTEROIDES RELACIONADOS

(57) *Resumo:*

[Fig.]

MERRELL DOW PHARMACEUTICALS INC

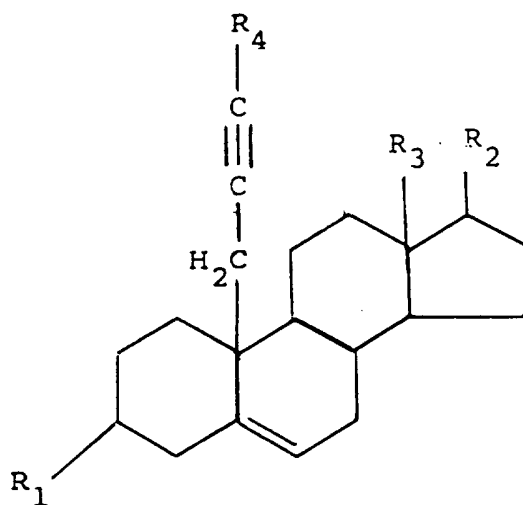
"PROCESSO PARA A PREPARAÇÃO DE NOVOS DERIVADOS ESTERÓIDES
3 β ,17 β -HIDROXI-SUBSTITUÍDOS E DE COMPOSTOS ESTERÓIDES RE-
LACIONADOS"

Antecedentes da Invenção

As hormonas do sexo feminino estrona e estradiol estão envolvidas em inúmeros processos fisiológicos. A formação destes esteróides é regulada por diversas enzimas. A enzima aromatase é a enzima que limita a velocidade na conversão não reversível de androgénios (as hormonas testosterona e androstenodiona) para estrogénios (as hormonas estradiol e estrona). As substâncias tais como os inibidores da aromatase regulam ou inibem a conversão de androgénios em estrogénios e, portanto, têm utilidade terapêutica no tratamento de situações clínicas potenciadas pela presença de estrogénios. Uma maior descrição dos inibidores da aromatase pode ver-se na patente de invenção norte-americana nº 4 322 416.

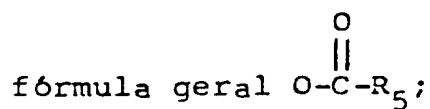
Resumo da Invenção

A presente invenção refere-se a novos esteróides 3 β ,17 β -hidroxi-substituídos e compostos relacionados de fórmula geral

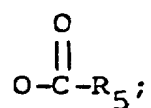


na qual

R_1 representa um grupo hidroxí ou um grupo de



R_2 representa um átomo de oxigénio, um grupo hidroxí ou um grupo de fórmula geral



R_3 representa um grupo metilo ou etilo;

R_4 representa um átomo de hidrogénio ou um grupo alquilo C_1-C_4 ; e

R_5 representa um grupo alquilo C_1-C_{10} .

Descrição Pormenorizada da Invenção

Os compostos preferidos da presente invenção são aqueles em que R_1 representa um grupo hidroxil, R_2 representa um átomo de oxigénio ou um grupo hidroxil, R_3 representa um grupo metilo e R_4 representa um átomo de hidrogénio.

Alguns compostos específicos e representativos de acordo com a presente invenção incluem mas não estão limitados aos compostos seguintes:

- (a) 10-(2-propinil)-19-norandrost-5-eno-3 β ,17 β -diol,
e
- (b) 3 β -hidroxil-10-(2-propinil)-19-norandrost-5-eno-
-17-ona.

Os compostos da presente invenção são opticamente activos. A estereoquímica das ligações de anel é a mesma que se observa nas séries de androstano naturais. Assim, a configuração do grupo alcinilo é β , como são o átomo de hidrogénio angular em C-8 e o substituinte angular em C-13. Ainda que os compostos que têm a configuração de esteróide natural sejam inibidores activos da aromatase, as misturas destes compostos com os seus antípodas ópticos são também abrangidos pelo âmbito da presente invenção.

Os compostos da presente invenção são inibidores da aromatase. Assim, são aplicáveis no tratamento de hiperestrogenémia. Os compostos são úteis para controlar os ní-

veis anormalmente elevados de estrogénios, quer quando os níveis elevados que se observam são relativamente estacionários, quer quando existem breves surtos de níveis de estrogénios elevados que ocorrem como parte das funções corporais cíclicas. Quer as fêmeas quer os machos podem ser tratados ainda que, obviamente, o nível de estrogénios que se deverá considerar elevado nos machos seja muito menor do que a quantidade considerada elevada nas fêmeas.

Estes compostos também são úteis como agentes anti-fertilidade para impedir a ovulação ou a implantação nas fêmeas ou para reduzir o comportamento de acasalamento nos machos quando é necessária a aromatização do cérebro para esse comportamento. Estes compostos têm ainda valor para o tratamento da ginecomastia, infertilidade masculina resultante de níveis elevados de estrogénios e hiper-estrogenémia que pode preceder o enfarte do miocárdio. Os compostos podem também ter utilidade no tratamento de doenças dependentes dos estrogénios. O termo "tratamento" também abrange o uso na prevenção das doenças em causa. As doenças incluem diversos tumores induzidos ou estimulados por estrogénios tais como os cancros da mama, do pâncreas, do endométrio ou do ovário, assim como a hiperplasia da próstata e doenças benignas da mama.

Pode determinar-se a acção de inibidores da aromatase dos compostos da presente invenção aplicando-se um ensaio rádio-enzimático. Utiliza-se uma preparação da enzima aromatase proveniente da fracção microssómica isolada da placenta humana.

A eliminação estereoespecífica de marcadores de trítio 1β e 2β de substratos de androgénios tais como da testosterona ou androstenodiona, e aparecimento subsequente de água triciada é utilizada para medir a velocidade da reacção enzima fica durante as incubações in vitro.

Na avaliação da inibição da actividade aromatase os compostos da presente invenção foram testados de acordo com os processos seguintes adaptados de Johnston et al., J Steroid Biochem., Vol. 20, Nº 6A, (1984), 1221 e Johnston, Steroids, Vol. 50, Nº 1-3 (1987), 105. Foram injectados por via subcutânea murganhos nús atímicos com $1,5 \times 10^6$ células trofoblásticas de coriocarcinoma humano (JAR), que desenvolveram massas tumorais de cerca de 1 g em 10 dias. Determinou-se a actividade de aromatase tumoral in vitro por medição de $^3\text{H}_2\text{O}$ resultante da libertação estereoespecífica de $1-\beta$ ^3H proveniente de $1-\text{[}^3\text{H}\text{]}$ -androstenodiona. A origem da actividade de aromatase e de 3β -esteróide desidrogenase (SDH): isomerase foi citisól (800xg) proveniente de 35 mg de tumor. Os compostos em ensaio incubaram-se a intervalos variáveis entre 0 e 3 horas com aromatase antes da adição de 34 pmoles de $1-\text{[}^3\text{H}\text{]}$ -androstenodiona para iniciar um ensaio da actividade de aromatase de 30 minutos.

Quando se ensaiou 10-(2-propinil)-19-norandrost-5-eno- $3\beta,17\beta$ -diol in vitro por este processo, obtiveram-se os resultados seguintes:

Actividade de aromatase de tumor JAr dependente do tempo

Composto	Conc. (μ M)	<u>Percentagem de Inibição Relativa</u> Tempo de pré-incubação em horas			
		0	1	2	3
10-(2-propinil)-19-norandrost-5-eno-3 β ,17 β -diol	5	15,1	0,0	66,9	71,9
10-(2-propinil)-19-norandrost-5-eno-3 β ,17 β -diol	25	33,4	0,0	86,5	84,9

A resposta bifásica observada sugere que a inibição de aromatase competitiva inicial era o resultado do processamento enzimático de 10-(2-propinil)-19-norandrost-5-eno-3 β ,17 β -diol para um componente mais reactivo que produzia uma inibição da aromatase dependente do tempo.

O composto 10-(2-propinil)-19-norandrost-5-eno-3 β ,17 β -diol também se avaliou in vivo por tratamento de murganhos nus com tumores trofoblásticos. A intervalos de 6 horas após o tratamento, determinou-se a actividade de aromatase num ensaio in vitro como descrito anteriormente. O veículo para a dosagem oral foi o PEG-200.

Inibição in vivo da actividade de aromatase
de xeno enxertos de tumores JAr em murganhos nus

Composto	Dose (mg/kg)	Via	Nº de murganhos	Percentagem de Inibição Relativa 6 horas pós- -tratamento
10-(2-propinil)-19- norandrost-5-eno-3 β ,17 β - -diol	1	oral	6	5,9 $\pm$ 3,0
10-(2-propinil)-19- norandrost-5-eno-3 β ,17 β - -diol	10	oral	6	27,5 $\pm$ 1,5
10-(2-propinil)-19- norandrost-5-eno-3 β ,17 β - -diol	30	oral	6	53,4 $\pm$ 7,8

Esta resposta indica um aumento da actividade inibi-
dora de aromatase quando a dose aumenta.

No tratamento da hiperestrogenémia, os compostos da
presente invenção podem ser administrados de várias formas a
um doente a tratar para se obter o efeito desejado.

Como aqui se utiliza no tratamento da hiperestrogené-
mia, a designação "doente" refere-se a mamíferos tais como
primatas incluindo seres humanos, cães e roedores. Os compos-
tos podem administrar-se isoladamente, em associação uns com
os outros ou em associação com outros antagonistas dos recep-
tores hormonais. Também se podem administrar os compostos sob

a forma de uma composição farmacêutica.

Os compostos podem administrar-se por via oral ou parentérica, por exemplo endovenosa, intraperitonial, intramuscular ou subcutânea incluindo a injeção do ingrediente activo directamente no tecido ou nos sítios de tumores tais como na glândula mamária. Os compostos podem também administrar-se incorporados em dispositivos de libertação prolongada. A quantidade de composto administrado variará entre largos limites e poderá ser qualquer quantidade eficaz. Dependente do doente a tratar, da condição a tratar, da forma de administração, a quantidade eficaz do composto administrado variará entre cerca de 1 e 1000 mg/kg de massa corporal e por dia, de preferência entre cerca de 40 e 200 mg/kg de massa corporal e por dia.

Para administração parentérica, podem administrar-se os compostos em doses injectáveis de uma solução ou de uma suspensão do composto em um dissolvente compatível fisiologicamente com o veículo farmacêutico que pode ser um líquido estéril tal como água em óleo com ou sem adição de um agente tensioactivo ou de outros adjuvantes aceitáveis sob o ponto de vista farmacêutico. Exemplos de óleos utilizados nestas composições são os derivados do petróleo ou de origem animal, vegetal ou sintética, por exemplo óleo de amendoim, óleo de soja e óleo mineral. Em geral os veículos líquidos preferidos são a água, a solução de cloreto de sódio, soluções aquosas de dextrose e de açúcares afins e etanois e glicóis tais como propilenoglicol ou polietilenoglicol, particularmente para soluções injectáveis.

Os compostos da presente invenção exibem um início de acção mais lento e uma maior semi-vida relativamente aos inibidores da aromatase esteróides de 10-(2-alcinilo) descritos na patente de invenção norte americana 4 322 416. Portanto, estes compostos podem administrar-se sob a forma de uma injeção-depósito ou de um implante. Estas composições são formuladas de modo a permitirem a libertação prolongada do ingrediente activo. O ingrediente activo pode ser também comprimido em peletes ou em pequenos cilindros e implantados subcutaneamente ou intramuscularmente sob a forma de injeções-depósitos ou implantes. Os implantes podem utilizar substâncias inertes, tais como os polímeros biodegradáveis e silícões sintéticos, por exemplo, Silastic[®], borracha de silicone fabricada pela Dow-Corning Corporation. Veículos farmacêuticos apropriados e técnicas de formulação estão descritos nos textos convencionais tais Remington's Pharmaceutical Sciences, Eaton Pennsylvania, Mack Publishing Company.

Os compostos da presente invenção podem preparar-se a partir de um composto conhecido, 3,3,17,17-bis(etilenodioxi)-10-(2-propinil)-19-norandroster-5-eno. Dissolve-se este composto inicial em ácido acético, aquece-se, trata-se com água, verte-se numa solução de hidrogeno carbonato de sódio e extrai-se para se obter uma mistura de 3,3-etilenodioxi-10-(2-propinil)-19-norandroster-5-en-17-ona e 10-(2-propinil)-19-norandroster-5-en-3,17-diona. Dissolve-se esta dicetona em etanol, trata-se com um agente redutor boro-hidreto para se obter o composto 3 β ,17 β -di-hidroxi da presente invenção.

Pode preparar-se o composto 17-ceto mediante tratamento de uma solução de 3,3,17,17-bis(etilenodioxi)-10-(2-propinil)-19-norandrost-5-eno com uma quantidade catalítica de um ácido tal como o ácido perclórico. Reduz-se o composto 17-ceto obtido, com um agente redutor boro-hidreto, tal como o boro-hidreto de sódio para se obter um 17-álcool. Protege-se este composto sob a forma do seu acetato, por métodos convencionais, para se obter um composto 17-acetoxi. Dissolve-se o composto 17-acetoxi em ácido acético, aquece-se trata-se com água, verte-se numa solução de hidrogeno carbonato de sódio e extrai-se para se obter 17-acetoxi-10-(2-propinil)-19-norandrost-5-en-3-ona. Esta cetona desconjugada é submetida a uma redução com boro-hidreto para se obter o composto 3-ol. Este composto 3-ol é convertido no correspondente éter t-butildimetil-silílico mediante processos convencionais. Submete-se este composto a uma hidrólise básica ou trata-se com um alquil-lítio ou um reagente de Grignard para se obter 3-t-butildimetilsililoxi-10-(2-propinil)-19-norandrost-5-eno-17-ol que em seguida se oxida para fornecer o composto 3 β -hidroxi-10-(2-propinil)-19-norandrost-5-eno-17-ona.

Podem preparar-se os ésteres de 10-(2-propinil)-19-norandrost-5-eno-3 β ,17 β -diol mediante reacção do diol anteriormente citado com um cloreto de ácido apropriado ou com um anidrido de ácido com ou sem adição de dissolvente, (isto é cloreto de metileno). Esta reacção é, eventualmente, tratada com uma quantidade catalítica de 4-dimetilaminopiridina.

Assim, por exemplo a reacção de 10-(2-propinil)-19-norandrost-5-eno-3 β ,17 β -diol com anidrido acético dá 10-(2-propinil)-19-norandrost-5-eno-3 β ,17 β -diacetato.

Utilizando-se a descrição anterior, considera-se que um técnico pode aplicar a presente invenção na sua extensão mais completa.

Os exemplos específicos que se seguem devem ser, portanto, considerados como meramente exemplificativos, e não limitativos da invenção em qualquer sentido.

Exemplo 1

Colocou-se num banho de óleo a 65°C uma suspensão de 1,3 g de 3,3,17,17-bis(etilenodioxi)-10-(2-propinil)-19-norandrost-5-eno em 13 ml de ácido acético glacial e agitou-se até dissolução completa do esteróide. Adicionaram-se 3,3 ml de água e agitou-se a mistura durante 8 minutos, após o que se verteu a solução numa solução de hidrogeno carbonato de sódio arrefecida com gelo. Extraíu-se o produto resultante com éter. Lavou-se o extracto com solução de hidrogenocarbonato de sódio, solução concentrada de cloreto de sódio e secou-se com sulfato de magnésio. Após filtração e concentração submeteu-se o resíduo a cromatografia em gel de sílica, eluindo-se com acetato de etilo em hexano a 40% para se obter 0,69 g de uma mistura de 3,3-etilenodioxi-10-(2-propinil)-19-norandrost-5-en-17-ona e 10-(2-propinil)-19-norandrost-5-eno-3,17-diona.

Sem purificação posterior, dissolveu-se a dicetona anteriormente referida em 30 ml de etanol absoluto, tratou-se com 0,074 g de boro-hidreto de sódio e agitou-se durante 30 minutos à temperatura ambiente. Ocorreu alguma precipitação e adicionaram-se 20 ml de tetra-hidrofurano. Após mais 2,5 horas de agitação, adicionou-se 0,5 ml de ácido acético e concentrou-se a solução. Retomou-se o resíduo com uma mistura de éter e acetato de etilo, lavou-se com água, solução saturada de hidrogenocarbonato de sódio e solução saturada de cloreto de sódio e secou-se com sulfato de magnésio. Após filtração e concentração submeteu-se o resíduo duas vezes a cromatografia em gel de sílica, primeiro eluindo com acetato de etilo em hexano a 50% e em seguida com metanol em cloreto de metileno a 5% para se obter 0,21 g de 10-(2-propinil)-19-norandrost-5-eno-3 β ,17 β -diol; p.f. 164°-166°C.

Exemplo 2

Tratou-se com ácido perclórico a 0,3% uma solução de 3,3,17,17-bis(etilenodioxi)-10-(2-propinil)-19-norandrost-5-eno numa mistura de t-butanol e diclorometano e aqueceu-se a solução sob refluxo durante 2 horas. Após arrefecimento à temperatura ambiente, verteu-se a mistura numa solução saturada de carbonato de sódio e extraiu-se com éter. Lavou-se o extracto com água, solução saturada de cloreto de sódio, secou-se com sulfato de magnésio, filtrou-se e concentrou-se para se obter 3,3-etilenodioxi-10-(2-propinil)-19-norandrost-5-en-17-ona. A substância analiticamente pura pode obter-se

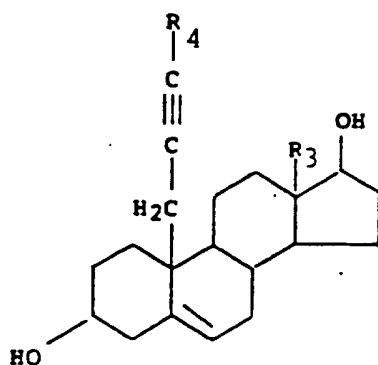
após recristalização em acetato de etilo. Dissolveu-se em etanol composto 17-ceto obtido e tratou-se com boro-hidreto de sódio para se obter 3,3-etilenodioxo-10-(2-propinil)-19-norandrost-5-en-17-ol. Protegeu-se o 17-álcool obtido sob a forma do seu acetato por métodos convencionais. Dissolveu-se o 17-acetoxi-3,3-etilenodioxo-10-(2-propinil)-19-norandrost-5-eno resultante em ácido acético glacial, aqueceu-se a 65°C e tratou-se com éter. Após 8 minutos verteu-se a solução numa solução de hidrogenocarbonato de sódio saturada arrefecida com gelo e extraiu-se com éter. Lavou-se o extracto com água e solução saturada de cloreto de sódio, secou-se com sulfato de magnésio, filtrou-se e concentrou-se. Submeteu-se o resíduo a uma cromatografia em gel de sílica para se obter 17-acetoxi-10-(2-propinil)-19-norandrost-5-en-3-ona. Submeteu-se a cetona desconjugada obtida a uma redução com boro-hidreto de sódio para produzir 17-acetoxi-10-(2-propinil)-19-norandrost-5-en-3-ol. Converteu-se o 3-ol para o éter t-butildimetil-silílico correspondente por meio de técnicas convencionais. O 17-álcool é posto em evidência quer por hidrólise básica quer por tratamento com um alquil-lítio ou um reagente de Grignard apropriado para se produzir 3-t-butildimetilsililoxi-10-(2-propinil)-19-norandrost-5-en-17-ol. Este composto é submetido a um processo de oxidação de Swern e é eliminado o grupo protector do radical éter silílico para se obter 3 β -hidroxí-10-(2-propinil)-19-norandrost-5-en-17-ona.

Exemplo 3

Quando se faz reagir 3,3,17,17-bis(etilenodioxi)-10-(2-butinil)-19-norandrosta-5-eno e 3,3,17,17-bis(etilenodioxi)-18-metil-10-(2-propinil)-19-norandrosta-5-eno de acordo com o processo descrito no Exemplo 1, obtêm-se os compostos 10-(2-butinil)-19-norandrosta-5-eno-3 β ,17 β -diol e 10-(2-propinil)-18-metil-19-norandrosta-5-eno-3 β ,17 β -diol, respectivamente.

REIVINDICAÇÕES

1.- Processo para a preparação de compostos de fórmula
geral



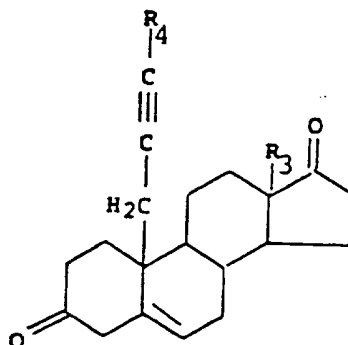
I

na qual

R_3 representa um grupo $-CH_3$ ou $-CH_2CH_3$ e

R_4 representa um átomo de hidrogênio ou um grupo
alquilo C_1-C_4 ,

caracterizado pelo facto de se fazer reagir um composto de fórmula geral



na qual R_3 e R_4 têm os significados definidos antes, com borohidreto de sódio.

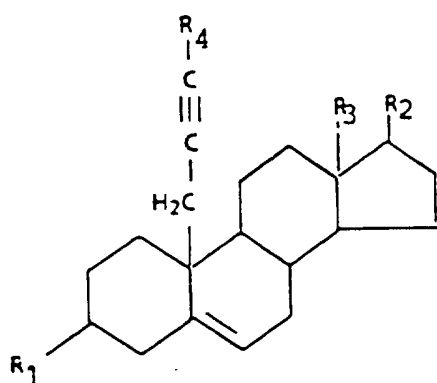
2.- Processo de acordo com a reivindicação 1, para a preparação de compostos de fórmula geral I na qual R_3 representa um grupo metilo, caracterizado pelo facto de se utilizarem compostos iniciais correspondentemente substituídos.

3.- Processo de acordo com a reivindicação 2, para a preparação de compostos de fórmula geral I na qual R_4 representa um átomo de hidrogénio, caracterizado pelo facto de se utilizarem compostos iniciais correspondentemente substituídos.

4.- Processo para a preparação de 10-(2-propinil)-19-norandrost-5-eno-3 β ,17 β -diol, caracterizado pelo facto de se fazer reagir uma mistura de 3,3-etilenodioxi-10-(2-propinil)-19-norandrost-5-eno-17-ona e de 10-(2-propinil)-19-norandrost-5-eno-

-3,17-diona com borohidreto de sódio.

5.- Processo para a preparação de compostos de fórmula geral



II

na qual

R₁ representa um grupo hidroxí ou um grupo de fórmula geral-O-C(=O)-R₅;

R₂ representa um átomo de oxigênio, um grupo hidroxí ou um grupo de fórmula geral -O-C(=O)-R₅;

R₃ representa um grupo metilo ou etilo;

R₄ representa um átomo de hidrogênio ou um grupo alquilo C₁-C₄; e

R₅ representa um grupo alquilo C₁-C₁₀,

caracterizado pelo facto de se tratar uma solução de um derivado esteróide apropriado com uma quantidade catalítica de um ácido tal como, por exemplo, o ácido perclórico e, eventualmente, de se fazer reagir com borohidreto de sódio.

6.- Processo de acordo com a reivindicação 5, para a preparação de compostos de fórmula geral II na qual R_3 representa um grupo metilo, caracterizado pelo facto de se utilizarem compostos iniciais correspondentemente substituídos.

7.- Processo de acordo com a reivindicação 6, para a preparação de compostos de fórmula geral II na qual R_4 representa um átomo de hidrogénio, caracterizado pelo facto de se utilizarem compostos iniciais correspondentemente substituídos.

8.- Processo de acordo com a reivindicação 7, para a preparação de compostos de fórmula geral II na qual R_1 representa um grupo hidroxí, caracterizado pelo facto de se utilizarem compostos iniciais correspondentemente substituídos.

9.- Processo de acordo com a reivindicação 7, para a preparação de compostos de fórmula geral II na qual R_2 representa um grupo hidroxí, caracterizado pelo facto de se utilizarem compostos iniciais correspondentemente substituídos.

10.- Processo de acordo com a reivindicação 1, para a preparação de 10-(2-propinil)-19-norandrost-5-eno 3 β , 17 β -diol, caracterizado pelo facto de se utilizarem compostos iniciais correspondentemente substituídos.

11.- Processo de acordo com a reivindicação 1, para a preparação de 3 β -hidroxi-10-(2-propinil)-19-norandrost-5-eno-17-ona, caracterizado pelo facto de se utilizarem compostos iniciais correspondentemente substituídos,

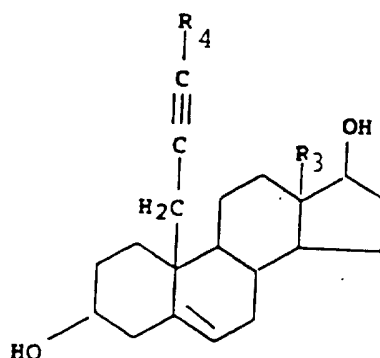
Lisboa, 26 de Outubro de 1989
O Agente Oficial da Propriedade Industrial



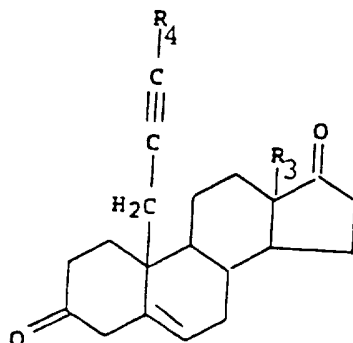
R E S U M O

"Processo para a preparação de novos derivados esteróides
3 β , 17 β -hidroxi-substituídos e de compostos esteróides
relacionados"

A presente invenção diz respeito a um processo para a
preparação de compostos de fórmula geral



que consiste em fazer reagir um composto de fórmula geral



com borohidreto de sódio.

Aplicação em farmácia como agentes inibidores da aromatase.

O Agente Oficial da Propriedade Industrial

Lisboa, 26 de Outubro de 1989

Ag. Garin