



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 305 306**

51 Int. Cl.:

C07J 1/00 (2006.01)

A61K 31/565 (2006.01)

A61P 5/26 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Número de solicitud europea: **02777036 .1**

86 Fecha de presentación : **06.09.2002**

87 Número de publicación de la solicitud: **1427748**

87 Fecha de publicación de la solicitud: **16.06.2004**

54 Título: **Esteroides 17α -hidroxi- 14β con efecto hormonal.**

30 Prioridad: **12.09.2001 EP 01203455**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
01.11.2008

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
01.11.2008

73 Titular/es: **N.V. Organon**
Kloosterstraat 6
5349 AB Oss, NL

72 Inventor/es: **Van der Louw, Jaap;**
Leysen, Dirk y
De Gooijer, Marcel Evert

74 Agente: **Ungría López, Javier**

ES 2 305 306 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

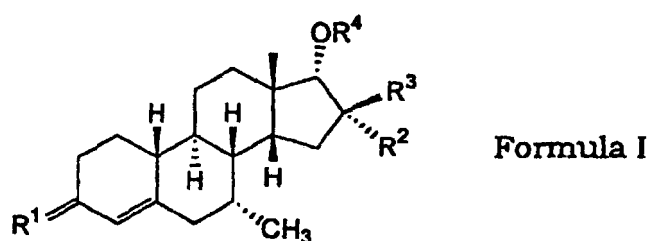
DESCRIPCIÓN

Esteroides 17α -hidroxi- 14β con efecto hormonal.

La presente invención se refiere a nuevos compuestos 17α -hidroxi- 14β -esteroides y a su uso en tratamiento relacionados con andrógeno.

Los compuestos esteroides para su uso en tratamientos relacionados con andrógeno son conocidos, por ejemplo por las descripciones de US 3.338.925 y Jacquesy y cols., Bull Soc. Chim. Francia vol. 5; 1975; pp. 2281-2288. En estas publicaciones, se describen derivados de 19-nor-androstano con una estereo configuración 17α -hidroxi- 14β . Dichos compuestos se pueden utilizar para producir efectos hormonales, algunos de ellos más específicamente para conseguir efectos androgénicos. Estos efectos son el objetivo para los tratamientos destinados a reparar las insuficiencias de testosterona o para conseguir esterilidad en hombres con fines anticonceptivos. Es importante mencionar que dichos compuestos se pueden utilizar para administración oral y que la duración de la acción es lo suficientemente larga como para reducir la necesidad de grandes cantidades de compuesto activo en formas de dosis unitaria.

La presente invención proporciona esteroides de este tipo que presentan la fórmula I:



en la que

R^1 es O, (H,H), (H,OH), NOH, estando OH eterificado o esterificado opcionalmente;

R^2 y R^3 son independientemente hidrógeno o alquilo (C_1 - C_4) y al menos uno entre R^2 y R^3 es alquilo de (C_1 - C_4);

R^4 es hidrógeno, o acilo (C_1 - C_{15}).

Se ha observado que estos compuestos no solamente tienen una alta potencia androgénica, sino que también son muy resistentes al metabolismo del hígado. La baja exposición al compuesto activo es importante para reducir el riesgo de efectos adversos. Su utilidad es inesperada, también a la vista de la publicación Heusser y cols. Helv. Chim. Acta vol. 22, 1949, pp. 1245-1251, en la que se describe que 17α -hidroxi- 14β -testosterona tiene actividad no androgénica.

Se describe un perfil particularmente favorable para su uso en medicinas orales para tratamientos relacionados con andrógeno a través de un compuesto representado por la fórmula I, en la que R^1 es oxo y al menos uno entre R^2 y R^3 es metilo y el otro es hidrógeno o metilo. Un compuesto específicamente preferible de la invención es ($7\alpha,14\beta,16\beta,17\alpha$)- 17 -hidroxi- $7,16$ -dimetilestr-4-en-3-ona.

El término alquilo de C_1 - C_4 , tal como se utiliza en la definición de la fórmula I significa un grupo alquilo ramificado o sin ramificar que tiene de 1 a 4 átomos de carbono, como por ejemplo metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, isobutilo, y terc-butilo. Los grupos alquilo preferibles son metilo y etilo.

El término acilo de C_1 - C_{15} significa un grupo acilo derivado de un ácido carboxílico que tiene de 1 a 15 átomos de carbono, como formilo, acetilo, propanoilo, butirilo, 2-metilpropanoilo, pentanoilo, pivaloilo, hexanoilo, etc. Asimismo, se incluyen dentro de la definición de acilo de C_1 - C_{15} grupos acilo derivados de ácidos dicarboxílicos, como hemi-maloilo, hemi-succinoilo, hemi-glutarilo, etc. Es preferible hemi-succinoilo.

La invención se refiere asimismo a los compuestos que se han descrito hasta el momento como medicina. Dichos compuestos se pueden utilizar, entre otras cosas, en anticoncepción masculina y en terapia de reemplazo hormonal masculino y femenino. En general, el objetivo de dicho tratamiento es obtener un efecto androgénico en un organismo, como por ejemplo un animal o un ser humano. Por lo tanto, se hace referencia a dicho tratamiento en la presente memoria descriptiva como un tratamiento relacionado con andrógeno. Por consiguiente, la invención se refiere también a un método para el tratamiento de un animal o un ser humano que necesita un estímulo androgénico para conseguir un efecto androgénico, a través de la administración de una cantidad efectiva de cualquiera de los compuestos mencionados a un animal o ser humano. Más específicamente, la invención se refiere a un método para el tratamiento de insuficiencia andrógena, a través de la administración a un ser humano masculino o femenino de una cantidad efectiva de cualquiera de los compuestos anteriores. La invención se refiere también al uso de cualquiera de los compuestos anteriores para la preparación de una medicina para el tratamiento de insuficiencia andrógena. En el contexto de la invención, el término "insuficiencia andrógena" debe entenderse como un término que engloba todos los tipos de en-

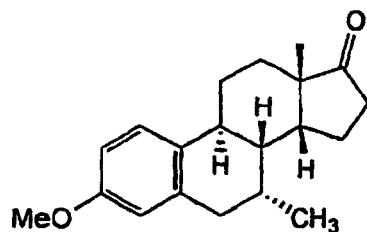
fermedades, trastornos y síntomas en los que un hombre o una mujer padece de un nivel de testosterona muy bajo, como por ejemplo hombre hipogonadal. En particular, la insuficiencia andrógena que se ha de tratar a través del compuesto de la invención consiste en la reducción del nivel de testosterona que afecta a un hombre como resultado de la edad (el compuesto de la invención se utiliza entonces para terapia de reemplazo hormonal masculino), o cuando se le somete anticoncepción masculina. En el contexto de la anticoncepción masculina, el compuesto de la invención sirve de manera especial para neutralizar el efecto de regímenes de anticoncepción hormonal masculina en los que se administra regularmente un agente de esterilización como progestágeno o LHRH (hormona de liberación de hormona luteinizante), v.g., diariamente, o se utiliza como una sustancia anticonceptiva masculina en solitario.

Los andrógenos se pueden administrar principalmente a través de cualquier ruta adecuada disponible para las personas especializadas. Tal como se ha indicado anteriormente, es preferible la administración oral, siendo sobre todo preferible en la forma de una dosis unitaria sólida, como por ejemplo una tableta o una cápsula. La invención se refiere asimismo a formulaciones farmacéuticas que comprenden un compuesto tal como se ha descrito anteriormente y un vehículo farmacéuticamente aceptable. Por lo tanto, el vehículo puede encontrarse en forma sólida o en forma líquida y la formulación puede presentarse en una dosis unitaria oral, como una tableta o una solución oral, v.g., en una cápsula. Los métodos y composiciones para obtener dichas dosis unitarias son muy conocidos entre las personas especializadas en la técnica. Por ejemplo, se describen técnicas convencionales para la fabricación de tabletas y píldoras que contienen ingredientes activos en el documento de referencia normal, Gennaro y cols., Remington's Pharmaceutical Sciences (18ª edición, Mack Publishing Company, 1990, ver especialmente la parte 8: Preparaciones farmacéuticas y su Fabricación). El compuesto se puede administrar también a través un implante, un parche y cualquier otro dispositivo adecuado para la liberación sostenida de una composición andrógena.

La dosis y el régimen de administración de los compuestos de la invención, o una composición farmacéutica del mismo, que se administren, dependerán evidentemente del efecto terapéutico que se desee conseguir y variará según la ruta de administración y la edad y estado del sujeto individual al que se le administre el medicamento, y/o el régimen anticonceptivo o HRT en particular en el que se utilice. Las cantidades de dosis típicas son de 0,001 a 5 mg por kg de peso corporal.

Los compuestos de la invención se pueden producir a través de diversos métodos conocidos dentro de la especialidad de la química orgánica en general, y especialmente, en la especialidad de la química de los esteroides (ver, por ejemplo, Fried, J. y cols., *Organic Reactions in Steroid Chemistry*, volúmenes I y II, Van Nostrand Reinhold Company, Nueva York, 1972).

Un material de partida conveniente para la preparación de los compuestos de fórmula I en la que R^1 es oxo, R^2 y R^3 tienen el significado que se ha dado antes; y R^4 es hidrógeno, es por ejemplo un compuesto que presenta la fórmula general II, cuya síntesis se describe en WO 00/53619.



Formula II

Una posible ruta de síntesis de los compuestos de la invención parte de la alquilación de los compuestos de fórmula II en C-16, normalmente con el resultado de una formación predominante o específica del isómero 16 β [para las reacciones de alquilación, consultar v.g., Carey F. A. Sundberg, R.J. "Advanced Organic Chemistry", parte B: Reactions and Synthesis, capítulo 1, Plenum Press, NY, 1990]. Opcionalmente, se puede invertir la estereoquímica en C-16 por desprotonación seguido de hidrólisis. Si se desea, la alquilación en C-16 puede ir seguida de una segunda reacción de alquilación en la misma posición, utilizando el mismo agente de alquilación, u otro, con el resultado de compuestos 16,16-dialquilados.

Se reduce el grupo carbonilo en C-17 utilizando NaBH_4 , LiAlH_4 , u otros reactivos donadores de hidruro, lo que lleva a la formación predominante o específica del compuesto 17 α -hidroxi.

La reducción de Brich [Caine, D. en Org. Reactions 23, p. Wiley, Nueva York, 1976] del (14 β ,17 α)-3-metoxiestra-1,3,5(10)-trien-17-ol 16-sustituido, finalmente, la hidrólisis del 2,5-(10)-dieno resultante produce un derivado de (14 β ,17 α)-17-hidroxiestra-4-en-3-ona 16-sustituido de la invención.

Los compuestos de la invención en los que R^1 es (H,H), (H,OH) o NOH, estando OH opcionalmente eterificado o esterificado, se obtienen a través del uso de los métodos conocidos en la especialidad, a partir de compuestos de fórmula I, en la que R^1 es oxo.

A continuación, se explicará con mayor detalle la invención haciendo referencia a los siguientes ejemplos.

ES 2 305 306 T3

Ejemplo 1

(7 α ,14 β ,16 β ,17 α)-17-hidroxi-7,16-dimetilestr-4-en-3-ona

5 i) Se enfrió una solución de bis(trimetilsilil)amida de litio (55,5 mmoles) en tetrahidrofurano (96 ml) a -40°C. Se añadió una solución de (7 α ,14 β)-3-metoxi-7-metilestra-1,3,5(10)-trien-17-ona (WO 00/53619; 15,0 g) en tetrahidrofurano deshidratado (66 ml) gota a gota y se agitó la mezcla de reacción durante 45 minutos. A continuación, se añadió yodometano (6,3 ml) a -30°C, y se continuó agitando durante 1 hora (-30 < T-20°C). Se vertió la mezcla en una solución acuosa saturada de cloruro de amonio y se extrajo el producto en acetato de etilo. Se lavaron las fases orgánicas combinadas con agua y salmuera, se secaron sobre sulfato sódico y se concentraron a presión reducida, para dar (7 α ,14 β ,16 β)-3-metoxi-7,16-dimetilestra-1,3,5(10)trien-17-ona (17,33 g). Se utilizó el producto en la siguiente etapa sin posterior purificación.

15 ii) Se trató una solución del producto obtenido en la etapa anterior (1,0 g) en tetrahidrofurano (19 ml), metanol (9,5 ml) y agua (5,6 ml), se enfrió a -7°C, se trató con borohidruro sódico (0,35 g). Al cabo de 1 hora de agitación a 0°C, se añadió otra porción de borohidruro sódico (0,35 g) y se continuó agitando durante 1 hora. Se vertió la mezcla de reacción en agua y se extrajo el producto en acetato de etilo. Se lavaron las fases orgánicas combinadas con solución acuosa saturada de hidrogen carbonato sódico y salmuera, se secó sobre sulfato sódico y se concentró a presión reducida. La cromatografía de columna dio (7 α ,14 β ,16 β ,17 α)-3-metoxi-7,16-dimetilestra-1,3,5(10)-trien-17-ol (1,06 g).

20 iii) Se añadió el producto obtenido en la etapa anterior (0,98 g) en tetrahidrofurano deshidratado (34 ml) a una solución de litio (2,15 g) en amoniaco líquido (244 ml), se enfrió a -50°C. Se agitó la mezcla de reacción a una temperatura comprendida entre -50°C y -40°C durante 5 horas. Se añadió etanol y se dejó evaporar el amoniaco. Se añadió agua y se extrajo el producto en acetato de etilo. Se lavaron las fases orgánicas combinadas con agua y salmuera, se secaron sobre sulfato sódico y se concentraron a presión reducida, para dar (7 α ,14 β ,16 β ,17 α)-3-metoxi-7,16-dimetilestra-2,5(10)-dien-17-ol (1,03 g). Se utilizó el producto en la siguiente etapa sin posterior purificación.

30 (iv) Se trató una solución del producto obtenido en la etapa anterior (1,03 g) en acetona (57 ml) con ácido clorhídrico concentrado (2,9 ml). Al cabo de 2 horas de agitación a temperatura ambiente, se vertió la mezcla de reacción en agua. Se extrajo el producto en acetato de etilo; se lavaron las fases orgánicas combinadas con solución acuosa saturada de hidrogen carbonato sódico y salmuera, se secó sobre sulfato sódico y se concentró a presión reducida. La cromatografía de columna dio (7 α ,14 β ,16 β ,17 α)-17-hidroxi-7,16-dimetilestr-4-en-3-ona (0,54 g) [α]_D²⁰ = +98,0°C (c = 0,50, dioxano).

Ejemplo 2

(7 α ,14 β ,16 α ,17 α)-17-hidroxi-7-16-dimetilestr-4-en-3-ona

40 i) Se enfrió una solución de bis(trimetilsilil)amida de litio (29 mmoles) en tetrahidrofurano (45 ml) a -40°C. Se añadió una solución de (7 α ,14 β ,16 β)-3-metoxi-7,16-dimetilestra-1,3,5(10)-trien-17-ona (ejemplo 1, etapa i, 6,0 g) en tetrahidrofurano deshidratado (24 ml) gota a gota y se agitó la mezcla de reacción durante 1 hora. A continuación, se apagó mediante la adición de una solución acuosa saturada de cloruro de amonio y se extrajo el producto en acetato de etilo. Se lavaron las fases orgánicas combinadas con solución acuosa saturada de cloruro de amonio, agua y salmuera, se secaron sobre sulfato sódico y se concentraron a presión reducida para dar (7 α ,14 β ,16 α)-3-metoxi-7,16-dimetilestra-1,3,5(10)-trien-17-ona (6,82 g). Se utilizó el producto en la siguiente etapa sin posterior purificación.

50 ii) Siguiendo un procedimiento análogo al descrito en ii del ejemplo 1, se convirtió el producto obtenido en la etapa anterior (1,0 g) a (7 α ,14 β ,16 α ,17 α)-3-metoxi-7,16-dimetilestra-1,3,5(10)-trien-17-ol (0,62 g).

iii) Siguiendo un procedimiento análogo al descrito en iii del ejemplo 1, se convirtió el producto obtenido en la etapa anterior (0,58 g) a (7 α ,14 β ,16 α ,17 α)-3-metoxi-7,16-dimetilestra-2,5(10)-dien-17-ol (0,59 g).

55 iv) Siguiendo un procedimiento análogo al descrito en iv del ejemplo 1, se convirtió el producto obtenido en la etapa anterior (0,59 g) a (7 α ,14 β ,16 α ,17 α)-17-hidroxi-7,16-dimetilestr-4-en-3-ona (0,29 g), [α]_D²⁰ = +91,3° (c = 0,48 dioxano).

Ejemplo 3

(7 α ,14 β ,17 α)-17-hidroxi-7,16,16-trimetilestr-4-en-3-ona

60 i) Siguiendo un procedimiento análogo al que se ha descrito en i del ejemplo 1, se convirtió (7 α ,14 β ,16 β)-3-metoxi-7,16-dimetilestra-1,3,5(10)-trien-17-ona (ejemplo 1, etapa i, 6,0 g) a (7 α ,14 β)-3-metoxi-7,16,16-trimetilestra-1,3,5(10)-trien-17-ona (5,99 g).

65 ii) Siguiendo un procedimiento análogo al descrito en ii del ejemplo 1, se convirtió el producto obtenido en la etapa anterior (1,0 g) a (7 α ,14 β ,17 β)-3-metoxi-7-16,16-trimetilestra-1,3,5(10)-trien-17-ol (0,39 g).

ES 2 305 306 T3

iii) Siguiendo un procedimiento análogo al descrito en iii del ejemplo 1, se convirtió el producto obtenido en la etapa anterior (0,32 g) a (7 α ,14 β ,17 β)-3-metoxi-7,16,16-trimetilestra-2,5(10)-dien-17-ol (0,38 g).

iv) Siguiendo un procedimiento análogo al descrito en iv del ejemplo 1, se convirtió el producto obtenido en la etapa anterior (0,38 g) a (7 α ,14 β ,17 α)-17-hidroxi-7,16,16-trimetilestr-4-en-3-ona (0,10 g), $[\alpha]_D^{20} = +81,1^\circ$ (c = 0,55, dioxano).

Ejemplo 4

De manera análoga a los procedimientos que se han descrito en los ejemplos 1 y 3 y utilizando (7 α ,14 β)-3-metoxi-7-metilestra-1,3,5(10)-trien-17-ona (WO 00/53619) como material de partida, se prepararon los siguientes productos:

(a) (7 α ,14 β ,16 β ,17 α)-16-etil-17-hidroxi-7-metilestr-4-en-3-ona, $[\alpha]_D^{20} = +109^\circ$ (c = 1,00, dioxano)

(b) (7 α ,14 β ,16 β ,17 α)-16-etil-17-hidroxi-7,16-di-metilestr-4-en-3-ona, $[\alpha]_D^{20} = +89^\circ$ (c = 1,00, dioxano) [a través de la alquilación del material de partida con yodometano seguido de alquilación con yodoetano].

Ejemplo 5

(7 α ,14 β ,17 α)-17-hidroxi-7-metilestr-4-en-3-ona, (compuesto de referencia 2)

i) Se trató una solución de (7 α ,14 β)-3-metoxi-7-metilestra-1,3,5(10)-trien-17-ona (WO 00/53619; 2,8 g) en etanol deshidratado (100 ml), enfriada a 4°C, con borohidruro sódico (0,70 g). Tras 1 hora de agitación, se añadió otra porción de borohidruro sódico (0,35 g) y se continuó agitando durante 3 horas. Se añadió ácido acético acuoso (50%, 10 ml) gota a gota y se vertió la mezcla de reacción en agua. Se extrajo el producto en diclorometano; se lavaron las fases orgánicas combinadas con solución acuosa saturada de hidrogen carbonato sódico y salmuera, se secó sobre sulfato sódico y se concentró a presión reducida para dar (7 α ,14 β ,17 α)-3-metoxi-7-metilestra-1,3,5(10)-trien-17-ol (2,93 g). Se utilizó el producto en la siguiente etapa sin posterior purificación.

ii) Siguiendo un procedimiento análogo al descrito en iii del ejemplo 1, se convirtió el producto obtenido en la etapa anterior (3,40 g) a (7 α ,14 β ,17 α)-3-metoxi-7-metilestr-2,5(10)-dien-17-ol (3,50 g).

iii) Siguiendo un procedimiento análogo al descrito en iv del ejemplo 1, se convirtió el producto obtenido en la etapa anterior (3,30 g) a (3,40 g) a (7 α ,14 β ,17 α)-17-hidroxi-7-metilestr-4-en-3-ona (1,50 g), p.f. 148,5-149,3°C, $[\alpha]_D^{20} = +102^\circ$ (c = 1,00, dioxano).

Ejemplo 6

Actividad androgénica

Se midió la actividad andrógena transactiva de los compuestos de la invención en células de ovario de hámster chino (CHO) transfectadas con el receptor de andrógeno humano (hAR), en combinación con un virus de tumor de mama de ratón (MMTV), y gen receptor de luciferasa (tiempo de incubación 16 h, temperatura 37°C) y se comparó con la actividad de 5 α -dihidrotestosterona [Schoonen, W.G.E.J.; de Ries, R.J.H.; Joosten, J.W.H.; Mathijssen-Mommers, G.J.W.; Kloosterboer, H.J. *Analyt. Biochem.* 261, 222-224 (1998)]. En la tabla 1 se recogen los resultados.

Ejemplo 7

Determinación de t_{1/2} de andrógenos de la invención tras la incubación con hepatocitos humanos

La vida media de un compuesto como resultado del contacto con hepatocitos se sostiene como una indicación fiable de estabilidad metabólica. Dado que se sabe que la absorción de esta clase de esteroides es alta, este ensayo proporciona un modelo *in vitro* para la actividad oral en seres humanos. Debe entenderse que una vida media más corta indica que el compuesto será metabolizado más rápidamente o, al contrario, cuanto más larga sea la vida media, mejor ejercerá el compuesto su efecto en el organismo humano cuando se administre por vía oral.

Se criopreservaron hepatocitos recogidos de donantes de órganos masculinos jóvenes y sanos (25 a 45 años) en nitrógeno líquido y se mantuvieron ahí hasta su uso. Se descongelaron a 37°C en un baño con agua, se colocaron inmediatamente en hielo, se lavaron dos veces en un volumen de medio de incubación frío (4°C) [medio de William E (sin rojo de fenol) con Glutamax I[®], gentamicina 50 μ g/ml, insulina 2 μ M, suero de becerro fetal 0% (v/v)], se hizo el recuento y se comprobó la viabilidad por exclusión con azul de tripano. Se incubaron las células como suspensiones en placas de 96 pocillos (sin recubrir) a una densidad nominal de 3 x 10⁴ células/pocillo en 300 μ l de medio a 37°C con una mezcla de aire/CO₂ (95/5).

Se incubaron los hepatocitos con una concentración final de 100 nM del compuesto que se iba a ensayar. Se detuvieron las incubaciones al cabo de 0,5, 1 y 2 horas por centrifugado a 200 g. Se recogió el sobrenadante para cromatografía de líquidos acoplada a análisis espectroscópico de masa inmediato (análisis LC-EM/EM= y para el bioensayo. Para éste último se utilizaron 10 μ l para la determinación de la actividad androgénica. Se determinó la

ES 2 305 306 T3

androgenicidad tal como se ha descrito en el ejemplo 6. La concentración del compuesto final para la determinación de la actividad androgénica fue 1 nmoles/l.

Resultados

Se clasificó la estabilidad metabólica ($t_{1/2}$) de los compuestos de la invención con arreglo al siguiente esquema:

(+++) estabilidad metabólica < 17α -metiltestosterona (MT)

(++) 17α -metiltestosterona > estabilidad metabólica > 80% de 17α -metiltestosterona

(+) 80% de 17α -metiltestosterona > estabilidad metabólica > testosterona

(-) estabilidad metabólica < testosterona

En la tabla 1 se recogen los resultados.

TABLA 1

Actividad andrógena y estabilidad metabólica ($t_{1/2}$) de los compuestos de la invención

Ejemplo	Actividad andrógena (%)	$t_{1/2}$ LC-EM/EM	Bioensayo
1	99,0	(++)	(++)
2	38,7	(+)	(++)
3	78,5	*a)	(+)
4a	20,0	*	(-)
4b	24,0	*	(+)
a)* significa que no existen datos o que no se dispone de datos fiables.			
Ref. comp 1 ^b	0,5	(-)	
Ref. compl 2 ^c	60,5	(-)	
^b (14 β ,17 α)-17-hidroxiestr-4-en-3-ona (US 3.338.925).			
^c (17 α ,14 β ,17 α)-17-hidroxi-7-metilestr-4-en-3-ona (ejemplo 5).			

