



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

⑪ Número de publicación: **2 317 312**

⑯ Int. Cl.:

C07J 1/00 (2006.01)

A61K 31/56 (2006.01)

A61P 5/00 (2006.01)

⑫

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

⑯ Número de solicitud europea: **05794597 .4**

⑯ Fecha de presentación : **05.09.2005**

⑯ Número de publicación de la solicitud: **1805201**

⑯ Fecha de publicación de la solicitud: **11.07.2007**

⑮ Título: **Esteroides 15 β -sustituidos que tienen actividad estrogénica selectiva.**

⑯ Prioridad: **08.09.2004 US 608501 P**
08.09.2004 EP 04104334

⑯ Titular/es: **N.V. Organon**
Kloosterstraat 6
5349 AB Oss, NL

⑯ Fecha de publicación de la mención BOP: **16.04.2009**

⑯ Inventor/es: **Loozen, Hubert, Jan, Jozef;**
Ederveen, Antonius, Gerardus, Hendrikus y
Dijcks, Fredericus, Antonius

⑯ Fecha de la publicación del folleto de la patente: **16.04.2009**

⑯ Agente: **Ungría López, Javier**

ES 2 317 312 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 15 β -sustituidos que tienen actividad estrogénica selectiva.

5 La presente invención se refiere a un compuesto esteroide 15 β -sustituido que tiene actividad estrógena selectiva, a una composición farmacéutica que comprende dicho compuesto, a dicho compuesto para su uso en terapia y al uso de dicho compuesto para la fabricación de un medicamento para el tratamiento y prevención de enfermedades relacionadas con receptor de estrógeno o la regulación o tratamiento o prevención de otros estados patológicos fisiológicos relacionados con receptor de estrógeno.

10 Los compuestos con afinidad para receptores de estrógeno se han venido utilizando de forma extendida durante muchos años para el tratamiento de diversos estados patológicos médicos. Dada la amplia distribución en el tejido de receptores de estrógeno, la utilidad terapéutica de los ligandos de receptor de estrógeno es significativa. En particular, su uso ha sido relacionado con la anticoncepción y la prevención o tratamiento de:

15 * Dolencias climatéricas: sofocos, sudores y cambios de humor;

* pérdida ósea debido a: osteoporosis, osteoartritis, hipocalcemia, hipercalcemia, enfermedad de Paget, osteomalacia, osteohalisteresis, mieloma múltiple;

20 * fracturas de huesos;

* incontinencia urinaria, atrofia urogenital, atrofia vaginal y cutánea, acné, melanoma, hirsutismo;

25 * enfermedad de pecho benigna, cáncer de pecho, ginecomastia; y

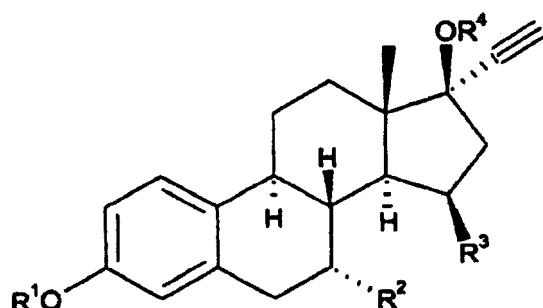
* enfermedad cardiovascular, niveles de colesterol altos, niveles de LDL altos, enfermedad de coagulación, restenosis, proliferación de células del músculo liso vascular.

30 A pesar de que los compuestos mencionados llevan estando disponibles mucho tiempo, en particular los esteroides, que se pueden utilizar para proporcionar alivio para dichos estados patológicos relacionados con receptor de estrógeno, sigue existiendo la necesidad de contar con nuevos tratamientos de fármaco seguros, efectivos y económicos.

35 Los compuestos que tienen actividad estrógena se están utilizando actualmente en mujeres como medicamentos para el tratamiento de dolencias post-menopáusicas (climaterio) y/o peri-menopáusicas, y osteoporosis. Para las mujeres con el útero intacto, sin embargo, estos estrógenos no selectivos, v.g. estrógenos equinos conjugados, 17 β -estradiol y 17 α -etinil-17 β -estradiol, no pueden ser prescritos para una terapia a largo plazo (> 3 meses), ya que estos compuestos inducen a un alto grado de proliferación endometrial (cambios de tipo fase folicular) que conducen a hemorragia, hiperplasia endometrial y/o cáncer de endometrio. La práctica clínica general consiste en combinar estos estrógenos 40 no selectivos con un compuesto progestágeno, un procedimiento que es muy conocido para reducir la estimulación del endometrio y desplazar el endometrio de una fase de tipo folicular a una fase de tipo luteal y/o endometrio atrófico. Desafortunadamente, la adición de un compuesto progestágeno a este tratamiento aumenta el riesgo de cáncer de pecho, tal como ha sido demostrado en los últimos estudios de la Iniciativa de Salud de la Mujer (WHI) (ver Writting Group for the Women's Health Initiative Investigators. Risks and benefits of estrogen plus progestin in health postmenopausal women: principal results from The Women's Health Initiative randomized controlled trial. JAMA 2002; 288: 321-333).

45 Tras el descubrimiento de dos subtipos distintos de receptores de estrógeno, representados como ER α y ER β , existe ahora la posibilidad de descubrir ligandos de receptor de estrógeno selectivos de subtipo. Dado que los dos subtipos tienen una distribución diferente en los tejidos humanos, dichos compuestos selectivos de subtipo pueden proporcionar un tratamiento o prevención efectivos de estados patológicos relacionados con receptor de estrógeno con efectos secundarios mínimos.

50 Se ha observado ahora que una serie de derivados de estradiol 15 β -sustituidos son potentes esteroides que poseen buenos niveles de selectividad funcional para el subtipo α de receptor de estrógeno. La presente invención proporciona compuestos de fórmula I:



ES 2 317 312 T3

en la que:

5 R¹ es H, alquilo de C₁-C₅, acilo de C₁-C₁₂, di(alquil(C₁-C₅))aminocarbonilo, (alquil(C₁-C₅))oxicarbonilo o sulfamofilo;

R² es H, alquilo de C₁-C₃, alquenilo de C₂-C₃ o alquinilo de C₂-C₃, pudiendo estar cada uno de ellos sustituido opcionalmente con un halógeno;

10 R³ es alquilo de C₁-C₂, etenilo o etinilo, pudiendo estar cada uno de ellos sustituido opcionalmente con halógeno, y

R⁴ es H o acilo de C₁-C₁₂.

15 Los esteroides en los que R¹ y/o R⁴ no son hidrógeno son los llamados profármacos.

20 El término alquilo de C₁-C₅ tal como se utiliza en la definición de la fórmula I, representa un grupo alquilo ramificado o sin ramificar que tiene de 1 a 5 átomos de carbono. Entre los ejemplos de dichos grupos se incluyen metilo, etilo, isopropilo, butilo terciario y pentilo. De manera similar, el término alquilo de C₁-C₃ y alquilo de C₁-C₂ se refiere a un grupo alquilo (ramificado o sin ramificar) que tiene de 1 a 3 y de 1 a 2 átomos de carbono, respectivamente.

25 El término alquenilo de C₂-C₃ representa un grupo alquenilo ramificado o sin ramificar que tiene de 2 a 3 átomos de carbono y un enlace doble. Entre los ejemplos de dichos grupos se incluyen etenilo y propen-2-ilo.

30 El término alquinilo de C₂-C₃ representa un grupo alquinilo que tiene de 2 a 3 átomos de carbono y un enlace triple. Entre los ejemplos de dichos grupos se incluyen etinilo y propinilo.

35 El término acilo de C₁-C₁₂ representa un grupo acilo derivado de un ácido carboxílico que tiene de 1 a 12 átomos de carbono. El grupo acilo puede comprender un hidrocarburo que puede estar ramificado, sin ramificar y puede ser saturado o insaturado. Entre los ejemplos de dichos grupos se incluyen formilo, acetilo, propanoilo, propenoilo, pivaloilo, heptanoilo, decanoilo y undecanoilo. Se incluyen asimismo dentro de la definición de acilo de C₁-C₁₂ grupos derivados de ácidos dicarboxílicos como semi-maloilo, semi-succinoilo y semi-glutarilo.

40 Un ejemplo de un grupo di(alquilo C₁-C₅)amino carbonilo es dimetilcarbamofilo. Un ejemplo de (alquil(C₁-C₅))oxicarbonilo es etoxicarbonilo.

45 El halógeno puede consistir en uno o más átomos de halógeno, como por ejemplo uno o más átomos de cloro o flúor.

En un modo de realización de la presente invención, R² es alquilo de C₁-C₃, alquenilo de C₂-C₃, alquinilo de C₂-C₃, pudiendo estar cada uno de ellos sustituido con un halógeno.

50 En otro modo de realización, R¹ y R⁴ son ambos H.

55 En otro modo de realización, R¹ es H, R² es H, alquilo de C₁-C₃, alquenilo de C₂-C₃, alquinilo de C₂-C₃, R³ es alquilo de C₁-C₂, etenilo o etinilo y R⁴ es H.

60 En otro modo de realización, R¹ es H, R² es H o alquilo de C₁-C₃ sustituido opcionalmente con un halógeno, R³ es alquilo de C₁-C₂ sustituido opcionalmente con un halógeno y R⁴ es H.

65 En otro modo de realización, R¹ es H, R² es H o alquilo de C₁-C₃; R³ es alquilo de C₁-C₂ y R⁴ es H.

En otro modo de realización, R¹ es H, R² es H o alquilo de C₁-C₂, R³ es metilo, y R⁴ es H.

70 En otro modo de realización, el compuesto es un 7 α -etil-15 β -metil-19-nor-17 α -pregna-1,3,5(10)-trien-20-ine-3,17 β -diol.

75 En otro modo de realización, R¹ es H, alquilo de C₁-C₅, acilo de C₁-C₁₂, R² es H o alquilo de C₁-C₃, R³ es alquilo de C₁-C₂, y R⁴ es H o acilo de C₁-C₁₂.

80 En otro modo de realización, R¹ es H, alquilo de C₁-C₅ o acilo de C₁-C₁₂, R² es alquilo de C₁-C₃, R³ es metilo y R⁴ es H o acilo de C₁-C₁₂.

85 En otro modo de realización, R¹ es H, alquilo de C₁-C₅ o acilo de C₁-C₁₂, R² es etilo, R³ es metilo y R⁴ es H o acilo de C₁-C₁₂.

90 En otro modo de realización, R¹ es H o acilo de C₁-C₁₂, R² es H o alquilo de C₁-C₃, R³ es alquilo de C₁-C₂ y R⁴ es H o acilo de C₁-C₁₂.

En otro modo de realización, R¹ es H o acilo de C₁-C₁₂, R² es H o alquilo de C₁-C₃, R³ es metilo y R⁴ es H o acilo de C₁-C₁₂.

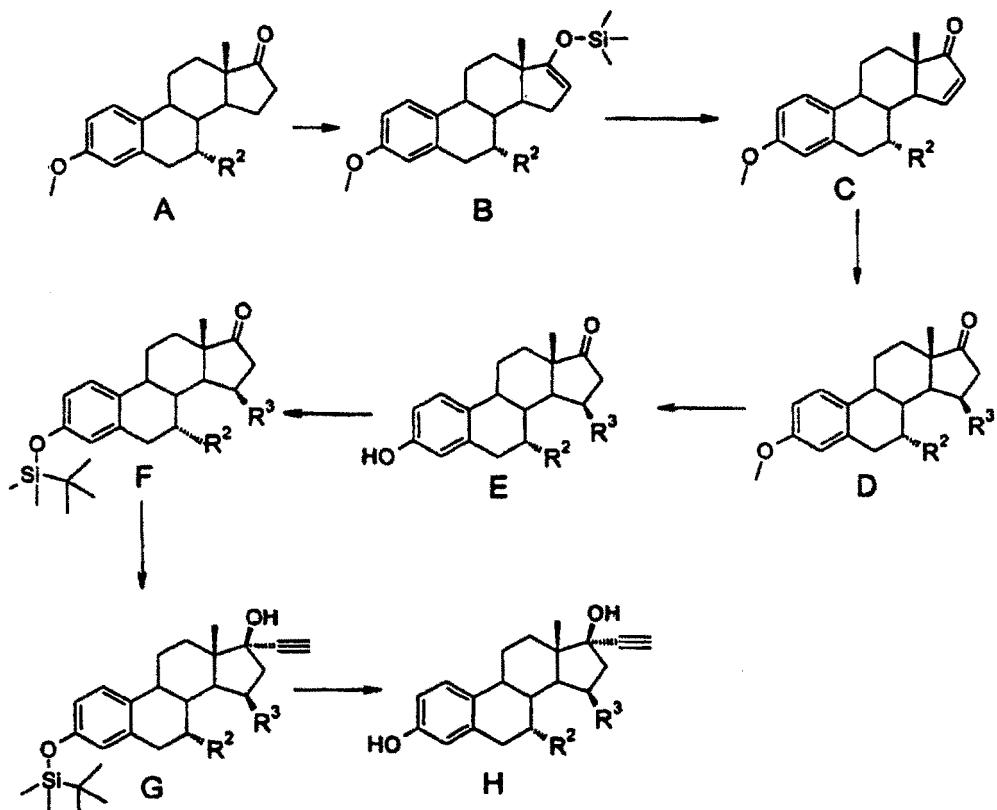
En otro modo de realización, R¹ es H o acilo de C₁-C₁₂, R² es etilo, R³ es metilo y R⁴ es H o acilo de C₁-C₁₂.

5

Los compuestos de la presente invención se pueden sintetizar con arreglo a los métodos conocidos dentro de la especialidad de la química orgánica en general y, en particular, en la especialidad de química de esteroides. Ver por ejemplo, Fried, J. y Edwards, J.A. "Organic Reactions in Steroid Chemistry" volúmenes I y II, van Nostrand Reinhold Company, Nueva York 1972; y C. Djerassi, "Steroid Reactions" Holden-Day, Inc., San Francisco, 1963. En el esquema I se representa el procedimiento de síntesis general utilizado para preparar los compuestos descritos en los ejemplos que se exponen a continuación. Las personas especializadas en este campo podrán introducir fácilmente variaciones en este esquema.

15

Esquema I



20

25

30

35

40

45

55

Se sintetiza el sustrato A, el material de partida para el procedimiento de síntesis que se muestra en el esquema I, en 4 etapas. En primer lugar, las adiciones de conjugado de especies organometálicas (v.g., cupratos) a estra-4,6-dien-3-onas C17 protegidas proporciona las estr-4-en-3-onas 17 α sustituidas requeridas. Se puede separar cantidades menores de los isómeros 7 β formados o bien por cromatografía o bien por cristalización en esta etapa de síntesis u, ocasionalmente, en etapas posteriores. Se aromatizan fácilmente las estrenonas 7 α -sustituidas utilizando v.g., procedimientos de halogenación/deshalogenación, en 7 α -estronas, que tras la alquilación en C3 y la desprotección en C17 proporcionan el sustrato A.

50 I

Se obtiene la cetona C α, β -insaturada tras la oxidación del éter silil enólico B utilizando v.g., diacetato de paladio. La adición de Michael a C utilizando una especie organometálica, v.g., cuprato de dialquilo, proporciona entonces el aducto D. La metil estrona D tras la desprotección utilizando, v.g., complejo de trifluoruro de boro-dimetilsulfuro proporciona después el fenol E, que se vuelve a proteger v.g., como el éter de sililo F. La adición v.g., de acetiluro de litio a la cetona F para dar el aducto G seguido de la eliminación del grupo protector éter de sililo utilizando v.g., fluoruro de tetrabutil amonio puede proporcionar el producto deseado H.

60 Los derivados (profármacos) de los grupos hidroxi libres de los compuestos G o H se pueden obtener fácilmente a partir de estos compuestos a través de procedimientos muy conocidos en la especialidad, v.g., por acilación utilizando un cloruro de ácido carboxílico en presencia de una base o por acilación utilizando un ácido carboxílico en presencia de un reactivo de copulación como carbodiimida de diciclohexilo etc, seguido de la eliminación del grupo protector de éter de sililo en el caso de los compuestos G.

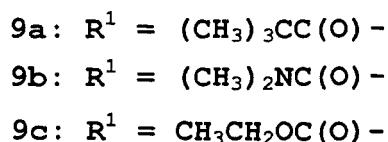
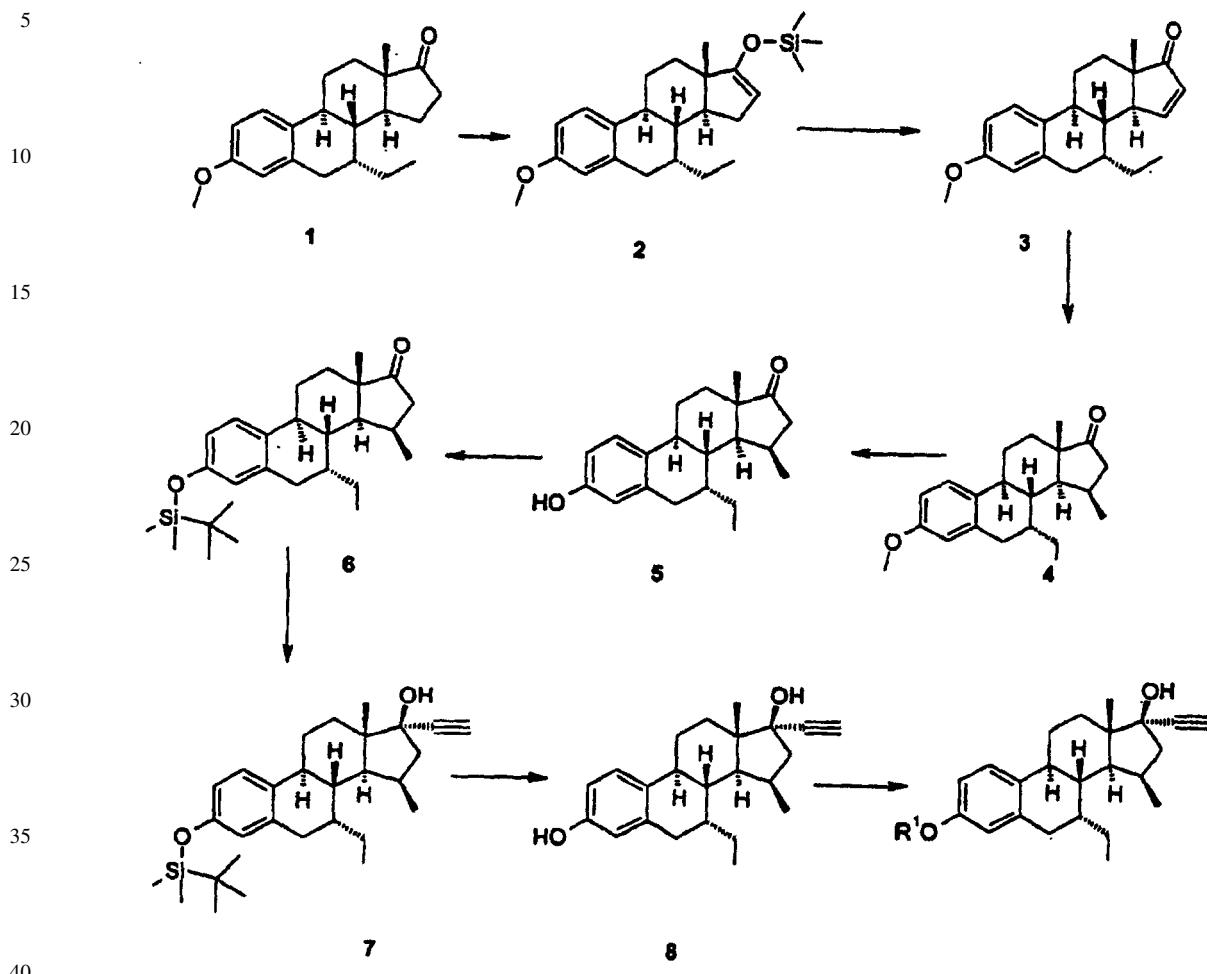
- Se observó que los compuestos de fórmula I, que tienen los grupos tal como se definen en la reivindicación 1 y en los que R¹ y R⁴ son hidrógeno, tenían una selectividad sólidamente mejor para el subtipo α de receptor de estrógeno combinado con una alta potencia de receptor α de estrógeno, es decir, combinado con una potencia igual o superior a 1,0% (en relación con el 17 β -estradiol que tiene una EC₅₀ de aproximadamente 4×10^{-11} M y, por definición, una potencia de 100%). Dicho compuesto es un agonista en el receptor α de estrógeno y es al menos 10 veces menos activo en el receptor β de estrógeno y/o es un agonista parcial en el receptor β de estrógeno, con una eficacia igual o inferior a 60% de la activación máxima tal como se induce por 17 β -estradiol. Esto tiene como resultado una alta selectividad funcional para el receptor α de estrógeno, es decir, selectividad que activa el receptor α de estrógeno al mismo tiempo que no activa, o sólo lo hace parcialmente, el receptor β de estrógeno.
- 10 Los esteroides de fórmula I en los que R¹ y/o R⁴ no es hidrógeno, son profármacos, que no tienen por qué satisfacer necesariamente las definiciones anteriores. Dichos profármacos se convierten a través de procesos metabólicos dentro del organismo en compuestos en los que R¹ y R⁴ son hidrógeno, compuestos que sí satisfacen dichas definiciones.
- 15 Por otra parte, los ligandos selectivos (estrógenos) de la presente invención no inducen de manera sorprendente un alto grado de proliferación endometrial (cambios de tipo fase folicular) y pueden utilizarse por lo tanto como medicamento para un tratamiento y/o prevención (a largo plazo) de dolencias peri- y/o post-menopáusicas y osteoporosis sin adición de un compuesto progestágeno.
- 20 El perfil de activación del receptor de estrógeno selectivo de los compuestos de la presente invención los hace adecuados para su aplicación en terapia.
- 25 La presente invención se refiere asimismo al uso de un compuesto según la fórmula I para la fabricación de un medicamento para el tratamiento o prevención de enfermedades relacionadas con receptor de estrógeno o para la regulación o tratamiento o prevención de otros estados patológicos fisiológicos relacionados con receptor de estrógeno.
- 30 En otro aspecto más, la invención se refiere al uso de un compuesto de fórmula I para la fabricación de un medicamento para una terapia de reemplazamiento de hormona o tratamiento hormonal. Dicho uso es particularmente adecuado en mujeres para las indicaciones de dolencias peri- y/o post-menopáusicas (climatéricas) y osteoporosis.
- 35 En otro aspecto más, la invención se refiere al uso de un compuesto de fórmula I para la fabricación de un medicamento para su uso en anticoncepción. Para este propósito, se puede administrar un compuesto según la presente invención como parte de un régimen de tratamiento que implique también la administración de una cantidad apropiada de progestágeno. Dichos regímenes son muy conocidos en el campo de la anticoncepción.
- 40 La administración de un compuesto según la invención se verá favorecida enormemente con la fabricación de formas de dosis adecuadas. La presente invención, por lo tanto, se refiere también a una composición farmacéutica o a una forma de dosis que comprende un compuesto según la presente invención mezclado con (a) un excipiente(s) farmacéuticamente aceptable(s), como por ejemplo los descritos en Gennaro y cols., Remington: The Science and Practice of Pharmacoy, 20^a edición, Lippincott, Williams and Wilkins, 2000; consultar especialmente la parte 5: fabricación farmacéutica. Los excipientes adecuados se describen v.g., en el manual Handbook of Pharmaceutical Excipients, 2^a edición; editores A. Wade and P. J. Weller, American Pharmaceutical Association, Washington, The Pharmaceutical Press, Londres, 1994. Las mezclas de un compuesto según la presente invención y (a) excipiente(s) farmacéuticamente aceptable(s) puede comprimirse en dosis unitarias sólidas, como tabletas, o se pueden procesar en cápsulas o supositorios. Mediante líquidos farmacéuticamente aceptable, se pueden aplicar también los compuestos como una preparación para inyección en forma de una solución, suspensión, emulsión, o como un pulverizador, v.g., pulverizador nasal o bucal. Para las formas de dosis unitarias v.g., tabletas, se contempla el uso de aditivos convencionales como cargas, colorantes, aglutinantes poliméricos y similares. En general, se puede utilizar cualquier aditivo farmacéuticamente aceptable. Los compuestos de la invención se pueden incluir en un implante, un anillo vaginal, un apósito, un gel o cualquier otra preparación para liberación inmediata y/o sostenida.
- 45 Las cargas adecuadas con las que se pueden preparar y administrar las composiciones farmacéuticas incluyen lactosa, almidón, celulosa y derivados de ellos, así como similares, o mezclas de ellos, utilizados en cantidades adecuadas.
- 50 Las cantidades de dosis de la presente invención se encontrarán en el orden normal para los compuestos estrógenos, v.g. en el orden de 0,01 a 100 mg, más en particular, entre 0,1 y 10 mg por administración.

60

65

A continuación, se ilustrará la presente invención a través de ejemplos:

Esquema II



Ejemplo 1

50 *Preparación de 7α-ethyl-15β-metil-19-nor-17α-pregna-1,3,5(10)-trien-20-ine-3,17β-diol (8) (ver esquema II)*

Preparación de 7α-ethyl-3-metoxi-estra-1,3,5(10),15-tetraen-17-ona (3)

55 Se preparó 7α-ethyl-3-metoxiestrona 1 a partir de 17β-17-(acetoxi)-estra-4,6-dien-3-ona y bromuro de etil magnesio en analogía al método descrito en EP 0869132 A1 (ver ejemplo I, y esquema I, compuestos 1-5). Se añadió una solución de 7α-ethyl-3-metoxiestrona 1 (1 g) en THF (3 ml), gota a gota, a -60°C, a una solución de LDA (preparada por adición de una solución 1,6 M de n-BuLi en heptano (4,7 ml) a -50°C a diisopropilamina (2,1 ml) en THF (15 ml)]. Se agitó la mezcla durante media hora a -60°C y después se trató con cloruro de trimetilsililo (2 ml). Se templó la mezcla de reacción a 0°C durante un período de media hora y a continuación se vertió en una solución de NH₄Cl acuosa al 10% (100 ml) y se extrajo con acetato de etilo. El lavado, secado (Na₂SO₄) seguido de concentración proporcionó sililenolato en bruto 2 (1,1 g) que se utilizó en la siguiente etapa sin purificación.

65 Se añadió a una solución de éster de sililenol bruto 2 (1,1 g) en acetonitrilo (15 ml) Pd(OA)₂ (750 mg). Se calentó a reflujo la mezcla durante 15 minutos. A continuación se añadieron agua y acetato de etilo, se filtró la mezcla orgánica a través de Celite y se extrajo el producto en acetato de etilo. Se purificó el material orgánico así aislado pasándolo a través de una columna de silice corta, eluyendo con heptano/acetato de etilo, para dar el compuesto 3 (710 mg) como un aceite incoloro.

ES 2 317 312 T3

R_f (1) 0,47, R_f (2) 0,80, R_f (3) 0,46, eluyente heptano/acetato de etilo 8/2.

RMN ($CDCl_3$) δ 7,58 (1H), 7,21 (1H), 6,74 (1H), 6,66 (1H), 3,79 (3H, CH_3O), 1,11 (s, 3H, 18- CH_3), 1,00 (t, 3H- etilo).

5

Preparación de 7 α -etil-15 β -metil-3-metoxi-estra-1,3,5(10)-trien-17-ona (4)

Se añadió a una solución de 3 (300 mg) en THF deshidratado (5 ml) $Cu(OAc)_2$ anhídrico (100 mg). Se agitó la mezcla durante 2 minutos a -70°C seguido de la adición gota a gota de cloruro de metil magnesio (1 M en THF, 5 ml).

10 Se templó la reacción durante media hora a 0°C y se apagó mediante la adición de solución de NH_4Cl acuosa al 10%. Se extrajo el producto con acetato de etilo y a continuación se purificó por cromatografía sobre gel de sílice, utilizando heptano/acetato de etilo como eluyente para proporcionar 4 como un sólido blanco (280 mg).

15 p.f. 120-122°C; RMN ($CDCl_3$) δ 7,22 (1H), 6,73 (1H), 6,65 (1H), 3,79 (1H), 1,20 (3H, s, 18 CH_3), 0,98, 0,96 (6H, 2t, 7 α y 15 β etilo).

Preparación de 7 α -etil-15 β -metil-3-(trimetilsilil)oxi]-estra-1,3,5(10)-trien-17-ona (6)

Se añadió a una solución de 4 (270 mg) en diclorometano (1 ml) complejo BF_3 .DMS (800 μ l). Se agitó la mezcla

20 durante 1,5 horas y a continuación se vertió en agua con hielo y se extrajo con acetato de etilo. Se trituró el residuo así obtenido con éter/heptano (1/1) para proporcionar 5 (250 mg) como un sólido amorfo rosa claro; R_f 0,27 (heptano/acetato de etilo 8/2). Se disolvió el material en DMF (3 ml), se añadió imidazol (300 mg), seguido de cloruro de t-butil dimetilsililo. Después de agitar durante 2 horas a temperatura ambiente, se completó la silylación. Se apagó la reacción mediante la adición de agua con hielo, seguido de extracción del producto con acetato de etilo. La purificación por cromatografía sobre una columna de sílice corta (heptano/acetato de etilo 9/1) dio 6 (220 mg) como un aceite incoloro rígido; R_f 0,60 (heptano/acetato de etilo 8/2). RMN ($CDCl_3$) δ 7,12 (1H), 6,62 (1H), 6,18 (1H), 1,03 (s 3H, 18- CH_3), 0,98 (s, 9H, terc-butilsililo), 0,97, 0,95 (2t, 6H, 7 α y 15 β etilo), 0,20 (s, 6H, CH_3 -siliéter).

Preparación de 7 α -etil-15 β -metil-19-nor-17 α -pregna-1,3,5(10)-trien-20-ine-3,17 β -diol (8)

30

Se generó una solución de Li-acetiluro por adición gota a gota de n-butil litio (1,6 M en hexano, 5 ml) a 1,2-dibromoetano (300 μ l) en THF deshidratado (6 ml) a -60°C. Tras la agitación durante 20 minutos, se añadió una solución de 6 (220 mg) en THF (2 ml), se extrajo el dispositivo de enfriado y se agitó la reacción durante 1 hora a 0°C. A continuación, se añadió NH_4Cl al 5% (50 ml) seguido de la extracción con acetato de etilo. Después de hacer pasar el producto bruto a través de una columna de sílice corta (eluyendo con heptano/acetato de etilo 8/2), se obtuvo el compuesto 7 (180 mg) como una espuma blanca en una forma esencialmente pura; R_f 0,28 (heptano/acetato de etilo 8/2), R_f material de partida 0,48.

40 RMN ($CDCl_3$) δ 7,14 (1H), 6,62 (1H), 6,57 (1H, 2,60, acetileno), 0,99 (s, 12H, 18- CH_3 y terc-butil sililo), 0,95 y 0,86 (2xt, 3H, etilo), 0,20 (s, 6H, dimetilsililo).

45 Se añadió a una solución de 7 (180 mg) en THF (1 ml) TBAF (1 M en THF; 0,7 ml). Se agitó la mezcla durante 15 minutos y se vertió en NH_4Cl acuoso al 10% (20 ml). Se extrajo el producto con acetato de etilo y se pasó a través de una columna de sílice corta, utilizando heptano/acetato de etilo 7/3 como eluyente para dar 8 (120 mg) como un material amorfo.

RMN (DMSO D₆) δ 8,89 (s, OH fenólico), 7,08 (1H), 6,5 (1H), 6,43 (1H), 5,34 (s, 1H, 17-OH), 0,84 (s, 3H, 18- CH_3), 0,80 y 0,90 (2x t, 6H, 15 β y 7 α -etilo).

50 Ejemplo 2

Preparación de 3-pivaloiloxy-7 α -etil-15 β -metil-19-nor-17 α -pregna-1,3,5(10)-trien-20-ine-17 β -ol (9a)

55 Se disolvió el compuesto 8 (300 mg) en piridina (10 ml). Se añadió gota a gota cloruro de pivaloilo (1,5 eq.). Al cabo de 2 horas, se apagó la mezcla de reacción con agua. Se concentró la mezcla de reacción, se volvió a disolver en acetato de etilo y se extrajo con bicarbonato sódico acuoso y agua. Se secó la capa orgánica (Na_2SO_4) y se concentró. Se purificó el residuo por cromatografía sobre gel de sílice (heptano/acetato de etilo 1:0 -> 4:1) para dar 9a puro (347 mg).

60 RMN ($CDCl_3$) δ 1,35 (s, 9H, pivaloilo), 1,08 (d, 3H, 15 β -Me), 1,02 (s, 3H, 18-Me), 0,94 (t, 3H, 7-etilo). Se prepararon los compuestos 9b (289 mg: RMN ($CDCl_3$) δ 3,0 y 3,08 (2 x s, 6H, NMe_2), 1,08 (d, 3H, 15 β -Me), 1,02 (s, 3H, 18-Me), 0,93 (t, 3H, 7-etilo) y 9c (283 mg, RMN ($CDCl_3$) δ 4,32 (q, 2H, OCH_2CH_3), 1,38 (d, 3H, OCH_2CH_3), 1,08 (d, 3H, 15 β -Me), 1,02 (s, 3H, 18-Me), 0,93 (t, 3H, 7-etilo)) de manera similar, pero utilizando cloruro de N,N-dimetilcarbamol y cloruro de etiloxicarbonilo, respectivamente.

65

Ejemplo 3

Se determinó la actividad agonista de los compuestos en los receptores de estrógeno en un bioensayo *in vitro* con células de ovario de hámster chino (CHO) recombinantes co-transfектadas establemente con receptor α de estrógeno

5 humano (hER α) o β (hER β), el promotor de oxitocina de rata (RO) y gen informador de luciferasa (LUC). La potencia de un compuesto de ensayo para estimular la transactivación de la enzima luciferasa mediada a través de receptores de estrógeno hER α y hER β , es decir, trans-activación agonista estrógena, se expresa como el porcentaje (%) en relación con la EC₅₀ del estrógeno 17 β -estradiol normal (potencia de compuesto de ensayo = (EC₅₀ 17 β -estradiol/EC₅₀ de compuesto de ensayo) x 100%). La eficacia, es decir, la cantidad de activación máxima del receptor a través de un compuesto se expresa como el porcentaje (%) en relación con la activación máxima tal como es inducida por el estrógeno 17 β -estradiol normal (eficacia de compuesto de ensayo = (activación máxima del compuesto de ensayo/activación máxima de 17 β -estradiol) x 100%). Se puede encontrar una descripción más detallada de la metodología en De Gooyer M.E. Deckers G.H. Schoonen W.G.E.J., Verheul H.A.M. y Kloosterboer H.J. *Steroids*, vol., 68, 2003, pp. 21-30.

10 15 La selectividad ER α /ER β se define como la relación potencia ER α /potencia ER β . Los compuestos de la invención son agonistas en el receptor α de estrógeno, con una potencia igual o superior a 1,0% (en relación con 17 β -estradiol) y son al menos 10 veces menos activas en el receptor β de estrógeno (selectividad ER α /ER β es igual o superior a 10) y/o son agonistas parciales en el receptor β de estrógeno, con una eficacia igual o inferior a 60% de la activación máxima según se induce a través de 17 β -estradiol.

20 25 El patólogo realizó la evaluación histopatológica de tejido uterino de mono cinomolgo después de tratamiento por vía oral de 8 semanas con el compuesto de ensayo en cuatro animales, por grupo de tratamiento. Se administró una dosis del compuesto comparativo X una vez al día a 40 μ g/kg, el compuesto comparativo Y a 200 μ g/kg y el compuesto 8 a 40 y 200 μ g/kg. Se examinaron las características morfológicas en secciones manchadas H&E, en función de las fases uterinas del ciclo menstrual normal en monos cinomolgos.

A. Cambios de tipo fase folicular

- 30 * estroma endometrial suelto
* glándulas endometrials rectas
* hipertrofia del epitelio endometrial
35 * Figuras mitóticas
* hipertrofia de miometrio
40 * angiogénesis tempranas (brote o proliferación temprana)
* secreción basal.

45 *B. Cambios de tipo fase luteal*

- * células estromáticas agrandadas pseudodecidualmente
* arrollamiento de glándulas endometriales
50 * angiogenesis tardía (formación de arteria espiral)
* vaculación de epitelio endometrial
55 * secreción luminal.

C. Endometrio ovariectomizado o no estimulado (atrófico)

- 60 * estroma endometrial compacto
* atrofia de epitelio endometrial
* atrofia de glándulas endometriales
65 * atrofia de miometrio.

ES 2 317 312 T3

La gravedad de cada una de estas características halladas fue valorada aplicando una escala de calificación:

- * calificación 0: característica no presente
- 5 * calificación 1: mínima, muy escasa, muy reducida
- * calificación 2: ligera, escasa, reducida
- 10 * calificación 3: moderada, número moderado, tamaño moderado
- * calificación 4: marcada, muchas, grande
- * calificación 5: masiva, número extenso, tamaño extenso.

15 Se realizó esta calificación para cada uno de los animales. A continuación, se calculó la puntuación media por grupo de tratamiento para cada una de las características. Finalmente, se calculó una puntuación media por categoría, de tipo fase atrófica, folicular o luteal, a partir de las características individuales medias. Un perfil de seguridad endometrial favorable para un compuesto se caracteriza por menos actividad de tipo fase folicular inducida por compuesto en combinación con más características de tipo fase luteal y/o endometrio atrófico.

20 En la tabla 1 (datos celulares *in vitro*) y en la tabla 2 (datos *in vivo*) se presentan los datos para el compuesto 8 y para los compuestos comparativos X (17 α -etinil-17 β -estradiol, fórmula I en los que R¹-R⁴ son todos ellos H) e Y (17 β -estradiol).

25 TABLA 1

30	Compuesto	Potencia ER α (%)	Potencia ER β (%)	Eficacia ER β - (%)	Selectividad ER α /ER β (potencia)
35	8	23,45	1,54	40	15,2
	X	102,8	20,70	104	5,0
	Y	100,0	100,0	100	1,0

40 Los resultados de la tabla 1 demuestran que los compuestos de la invención tienen una selectividad funcional consistentemente mejor para el subtipo α de receptor de estrógeno en combinación con una alta potencia de receptor α de estrógeno, es decir activan selectivamente el receptor α de estrógeno, al tiempo que no se activa, o solo se activa parcialmente, el receptor β de estrógeno. El compuesto 8 presenta una potencia de receptor α de estrógeno de 23,45% y es 15,2 más selectivo para el receptor α de estrógeno con respecto al receptor β de estrógeno y se un agonista parcial en el receptor β de estrógeno con una eficacia del 40%. Los compuestos íntimamente relacionados 17 α -etinil-17 β -estradiol (compuesto X) y 17 β -estradiol (compuesto Y) presentan una preferencia equivalente para ambos subtipos de receptor de estrógeno y son agonistas plenos en el receptor β de estrógeno.

50 TABLA 2

55	Compuesto	Perfil endometrial de mono (puntuaciones)		
		Folicular	Luteal	Atrófico
60	8:40 μ g/kg	0,0	0,0	3,0
	8:200 μ g/kg	0,5	0,2	2,3
	X:40 μ g/kg	2,8	0,4	0
65	Y:200 μ g/kg	3,6	0,2	0

ES 2 317 312 T3

El perfil de seguridad endometrial favorable de los compuestos de la invención es sorprendente ya que los compuestos íntimamente relacionados 17α -etinil- 17β -estradiol y 17β -estradiol, estimulan ambos el endometrio, tal como se demuestra en la tabla 2 según los signos claros de actividad de tipo fase folicular con una actividad de tipo fase luteal únicamente marginal y por lo tanto endometrio no atrófico.

5

Ejemplo 4

La conducta sexual femenina de rata depende de hormona. En ratas hembra cebadas con estrógeno la progesterona claramente potencia la conducta sexual femenina o lordosis. No obstante, la progesterona no es efectiva en la inducción de lordosis en hembras ovariectomizadas que no han recibido estrógeno (consultar también J. B. Becker, S.M. Breedlove and D. Crews (Eds.), Behavioral Endocrinology, 1992, pp. 82-84).

10 Se utilizó la capacidad de los compuestos de ensayo para facilitar la conducta de lordosis inducida por progesterona en ratas hembra ovariectomizadas para demostrar la actividad estrógena *in vivo* tras la administración de dosis oral de dichos compuestos. Se trató a las hembras previamente durante tres días con el compuesto de ensayo seguido de un tratamiento con un progestágeno el cuarto día. Cuatro horas después del tratamiento con progesterona, se midió la conducta sexual de la rata hembra en presencia de una rata macho haciendo el recuento del número de respuestas de lordosis durante 10 minutos.

15 20 Los profármacos del compuesto 8, en los que R^1 es pivaloílo (compuesto 9a), R^1 es dimetilcarbamooílo (compuesto 9b) o R^1 es etoxicarbonilo (compuesto 9a) demostraron ser compuestos estrogénicos activos tras la administración de la dosis oral de 1 mg/kg/día.

25

30

35

40

45

50

55

60

65

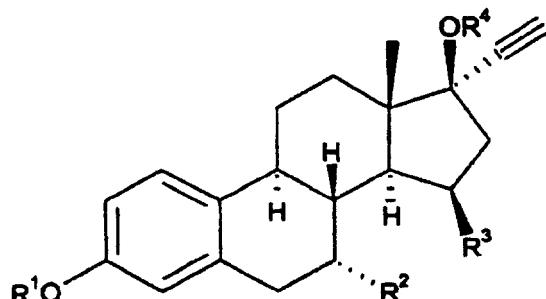
REIVINDICACIONES

1. Un compuesto esteroide 15 β -sustituido de fórmula I:

5

10

15



en la que:

20

R¹ es H, alquilo de C₁-C₅, acilo de C₁-C₁₂, di(alquil(C₁-C₅))aminocarbonilo, (alquil(C₁-C₅))oxicarbonilo o sulfamofilo;

25

R² es H, alquilo de C₁-C₃, alquenilo de C₂-C₃ o alquinilo de C₂-C₃, pudiendo estar cada uno de ellos sustituido opcionalmente con halógeno;

30

R³ es alquilo de C₁-C₂, etenilo o etinilo, pudiendo estar cada uno de ellos sustituido opcionalmente con halógeno, y

R⁴ es H o acilo de C₁-C₁₂.

2. Un compuesto según la reivindicación 1, **caracterizado** porque R² es alquilo de C₁-C₃, alquenilo de C₂-C₃, alquinilo de C₂-C₃, pudiendo estar cada uno de ellos sustituido con un halógeno.

35

3. Un compuesto según la reivindicación 1 ó 2, **caracterizado** porque R¹ y R⁴ son ambos H.

4. Un compuesto según la reivindicación 1, **caracterizado** porque R¹ es H, R² es H o alquilo de C₁-C₃, R³ es alquilo de C₁-C₂ y R⁴ es H.

40

5. Un compuesto según la reivindicación 1, **caracterizado** porque R¹ es H, R² es H o alquilo de C₁-C₂, R³ metilo, y R⁴ es H.

6. Un compuesto según la reivindicación 1, **caracterizado** porque el compuesto es un 7 α -etil-15 β -metil-19-nor-17 α -pregna-1,3,5(10)-trien-20-ine-3,17 β -diol.

45

7. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 y un excipiente farmacéuticamente aceptable.

8. Un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 para su uso en terapia.

50

9. Uso de un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 para la fabricación de un medicamento para el tratamiento o prevención de enfermedades relacionadas con receptor de estrógeno o la regulación o tratamiento o prevención de otros estados patológicos fisiológicos relacionados con receptor de estrógeno.

55

10. Uso según la reivindicación 9 para la fabricación de un medicamento para el tratamiento hormonal.

11. Uso según la reivindicación 10, **caracterizado** porque el tratamiento hormonal es para dolencias climatéricas.

12. Uso según la reivindicación 10, **caracterizado** porque el tratamiento hormonal es para osteoporosis.

60

13. Uso según la reivindicación 9 para la fabricación de un medicamento para su uso en anticoncepción.

65