



19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 294 159**

51 Int. Cl.:  
**A61K 31/565** (2006.01)  
**C07J 31/00** (2006.01)  
**A61P 35/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Número de solicitud europea: **02762422 .0**  
86 Fecha de presentación : **01.08.2002**  
87 Número de publicación de la solicitud: **1418921**  
87 Fecha de publicación de la solicitud: **19.05.2004**

54 Título: **2-alcoxiestradiolsulfamatos con actividad antitumoral.**

30 Prioridad: **13.08.2001 DE 101 39 494**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**01.04.2008**

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**01.04.2008**

73 Titular/es: **Sterix Limited**  
**190 Bath Road**  
**Slough, Berkshire SL1 3XE, GB**

72 Inventor/es: **Scherlitz-Hofmann, Ina;**  
**Hoffmann, Jens;**  
**Hillisch, Alexander;**  
**Unger, Eberhard;**  
**Neumann, Tobias;**  
**Schwarz, Sigfrid;**  
**Peters, Olaf y**  
**Michel, Thomas**

74 Agente: **Curell Suñol, Marcelino**

ES 2 294 159 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

2-alcoxiestradiolsulfamatos con actividad antitumoral.

5 La presente invención se refiere a 2-alcoxiestradiolsulfamatos y a su utilización para la preparación de medicamentos que presentan una actividad antitumoral.

10 Los microtúbulos son organelas que se dan en la mayoría de las células eucariontes y desempeñan allí una serie de funciones, tales como mitosis, movimientos intracelulares, migración celular y el diseño de la forma celular. Los microtúbulos son polímeros de tubulina, que por su parte constituye un dímero constituido por una unidad  $\alpha$  y una unidad  $\beta$ . Dichos heterodímeros están unidos a dos moléculas de guanosintrifosfato (GTP), estando uno de los GTP unido fijamente y siendo el otro intercambiable. Los heterodímeros polimerizan en una disposición cabeza a cola para proporcionar macromoléculas filiformes, los denominados protofilamentos, que por su parte se agregan formando organelas tubulares, los microtúbulos. Los microtúbulos están sujetos a una formación y degradación continua. El equilibrio entre crecimiento y degradación depende de la disponibilidad de nuevas subunidades de GTP-tubulina y de la velocidad de hidrólisis del segundo GTP unido. Al extremo positivo, se unen nuevas subunidades, mientras que del extremo negativo se eliminan subunidades por difusión. Es conocido que las sustancias citotóxicas, tales como colchicina, vinblastina, vincristina, taxol, epotilonas, podofilotoxina, steganicina, combretastatina, metoxiestradiol afectan a la formación y degradación de los microtúbulos (polimerización de tubulina) y despolimerización de tubulina y pueden influenciar en la división celular con especificidad de fases. Esto se refiere en particular a células neoplásticas de rápido crecimiento cuyo crecimiento se ve sustancialmente inafectado por mecanismos de regulación intracelulares. Los principios activos de este tipo resultan básicamente adecuados para el tratamiento de tumores malignos.

25 Fotsis *et al. Nature* 1994, 368, 237-239 exponen que 2-metoxiestradiol inhibe el crecimiento de tumores y la angiogénesis.

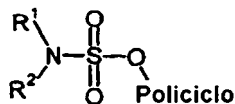
30 Cushman *et al. J. Med. Chem.* 1995 38, 2041-2049 han investigado el efecto citotóxico e inhibidor de la polimerización de tubulina de 2-metoxiestradiol y han expuesto en *J. Med. Chem.* 1997, 40, 2323-2334 que los derivados de 2-alcoxi-6-oximinoestradiol inhiben la polimerización de tubulina así como la unión al [<sup>3</sup>H]-colchicina en tubulina. Los derivados de 2-alcoxi-6-oximinoestradiol mencionados presentan, en relación a la inhibición de la polimerización de tubulina, una actividad similar a la del 2-etoxiestradiol, el cual presenta una mayor actividad que 2-metoxiestradiol.

35 Con el fin de aumentar la biodisponibilidad oral de 2-alcoxiestradiol, en particular de 2-metoxiestradiol, según la presente invención, se ha sulfamoylido la función 3-hidroxi de derivados de 2-alcoxiestradiol seleccionados. Durante esta investigación, se observó que los 2-alcoxiestradiolsulfamatos resultantes no sólo presentan una mejor biodisponibilidad, sino también sorprendentemente inhiben la polimerización de tubulina mejor que los mismos 2-alcoxiestradioles. Por consiguiente, los sulfamatos correspondientes según la invención presentan una actividad antitumoral también *in vivo*.

40 Especialmente para estradiol y los derivados estrechamente vinculados al mismo, ya era conocido que la introducción de un grupo sulfamato da lugar *in vivo* a una biodisponibilidad oral incrementada (Eiger *et al. J. Steroid Biochem. and Mol. Biol.* 1995, 55, 395). La mejor biodisponibilidad resulta de la unión de dichas sustancias a eritrocitos, en los que son metabolizadas más despacio y liberados sucesivamente. En cambio, los estrógenos no sulfamoylidos están sujetos a una metabolización hepática muy rápida, al ser administrados oralmente (first pass effect). La síntesis de sulfamatos de estrógeno fue descrita por Schwarz *et al. Steroids* 1996, 61, 710-717.

Por otro lado, los esteroide-3-sulfamatos se han descrito en la literatura como sustancias inhibitoras de la esteroide-sulfatasa:

50 El documento WO 93/05064 se refiere, entre otros, a compuestos de la fórmula



55 en la que R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> son, independientemente uno del otro, hidrógeno o un grupo metilo, con la condición de que por lo menos uno de los radicales R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> sea un átomo de H y el radical O-policiclo un 3-esterol cuyo éster sulfático puede ser hidrolizado por una enzima con actividad de esteroide-sulfatasa. En la posición 2 del esqueleto de esteroide, no se han descrito explícitamente compuestos sustituidos específicamente.

60 El documento US n° 6.011.024 se basa en el documento WO93/05064 y comprende por ejemplo todos los compuestos en los que la función primaria de sulfamato está unida a un anillo hexagonal. En la posición 2 del esqueleto del esteroide, otra vez no se han descrito explícitamente compuestos sustituidos específicamente.

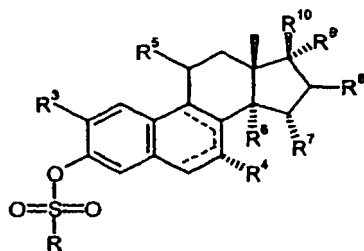
65 El documento WO 96/05216 se refiere a derivados de estra-1,3,5(10)-trienosulfamato no sustituidos en C2.

## ES 2 294 159 T3

El documento WO 96/05217 se refiere a composiciones farmacéuticas que contienen principios activos de la fórmula general

5

10



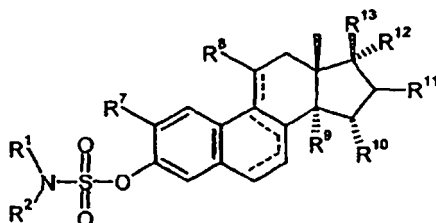
15

en la que R es NH<sub>2</sub>, R<sup>3</sup> es un grupo C<sub>1-5</sub>-alcoxi, OH; R<sup>8</sup>, R<sup>9</sup> y R<sup>10</sup>, el uno independientemente de los otros, son H, O, R<sup>9</sup> y R<sup>10</sup> juntos pueden significar O. Las composiciones farmacéuticas conocidas por dicho documento pueden utilizarse para el control de la fertilidad femenina, HRT climatérico y para el tratamiento de cuadros clínicos ginecológicos y andrológicos, tales como el carcinoma de mama o próstata.

20

El documento WO 97/14712 se refiere a derivados de esteroidesulfamatos de la fórmula general

25



30

en la que R<sup>1</sup> es un grupo acilo, alcoxicarbonilo, aminocarbonilo, sulfonilo o sulfonamidilo, R<sup>2</sup> puede representar un átomo de hidrógeno o de un metal, R<sup>7</sup> y R<sup>8</sup>, independientemente el uno del otro, pueden representar H, OH y C<sub>1-5</sub>-alcoxi; R<sup>13</sup>, R<sup>12</sup>, R<sup>11</sup>, el uno independientemente de los otros, pueden representar H u OH.

35

El documento WO 98/42729 se refiere a 16-halogenosustituidos 1,3,5-estratrien-3-monosulfamatos así como 3,17β-bis-sulfamatos, que pueden estar alcoxi-sustituidos en C2. La sustitución 16-halógeno aumenta tanto el efecto inhibidor de sulfatasa como la estrogenicidad de los derivados de sulfamato correspondientes.

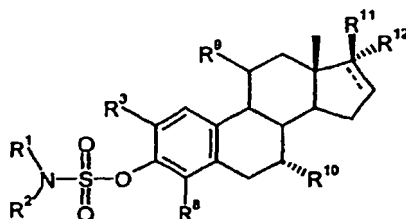
40

La incorporación de una función 17-sulfamato además de la función 3-sulfamato reduce drásticamente la estrogenicidad.

45

El documento WO 98/24802 se refiere a sulfamatos que inhiben la estronasulfatasa. Se menciona explícitamente 2-metoxiestronasulfamato. El campo de terapia potencial mencionado en la descripción es el carcinoma de mama, pero no el carcinoma de próstata. El documento WO 99/33858 describe asimismo inhibidores de la estronasulfatasa de la fórmula

50



55

en la que R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup>, independientemente uno del otro, representan H, alquilo, o juntos piperidino, morfolino, piperazino; R<sup>3</sup> representa H, CN, NO<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>R<sup>4</sup>; R<sup>8</sup> representa H, NO<sub>2</sub>, NR<sup>6</sup>R<sup>7</sup>. En la descripción, se menciona el carcinoma de mama como campo de terapia posible.

60

El documento WO 99/64013 se refiere a una composición farmacéutica de un derivado de sulfamato con un modificador de células señal (tal como, por ejemplo, TNFα). En esta combinación, 2-metoxiestronasulfamato se reivindica explícitamente como sulfamato preferido; sin embargo, un gran número de otros esteroide-3-sulfamatos se incluyen en el alcance de la fórmula general. Como mecanismo de acción para las composiciones farmacéuticas según la invención o para los esteroide-3-sulfamatos contenidos en las mismas (preferentemente con por lo menos un sustituyente 2-alcoxi) se describen 1) inhibición de la resorción de glucosa en células tumorales, 2) inhibición de la tumorangiogénesis, 3) degradación de los microtúbulos, 4) inducción de la apoptosis. El documento WO 00/76487 se refiere a sustancias que inhiben la actividad de aromatasa inducida por TNFα. Entre los sulfamatos reivindicados, se incluyen 2-alcoxiestrona-3-sulfamatos, preferentemente 2-metoxiestronasulfamato.

65

## ES 2 294 159 T3

El documento WO 01/18028 describe esteroide-3-sulfamatos N-acil-18 $\alpha$ -sustituidos no estrógenos que inhiben la estronasulfatasa, por ejemplo 16 $\alpha$ -fluoro-2-metoxi-18 $\alpha$ -homoestradiol-(N-acetil-sulfamato) o 16 $\alpha$ -fluoro-2-metoxi-18 $\alpha$ -homoestrone-(N-acetilsulfamato).

5 En *Cancer* 2000, 85, 983-994, se comparan la apoptosis inducida por 2-metoxiestradiol, docetaxel y pacitaxel en células de hepatoma y su correlación con especies de oxígeno reactivas.

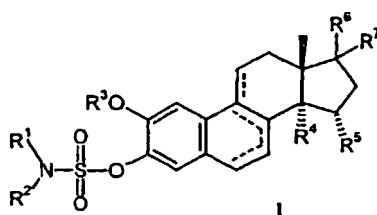
Potter *et al. Int. J. Cancer* 2000, 85, 584-589, han investigado la acción de 2-metoxiestronasulfamato en comparación con 2-metoxiestrona sobre el crecimiento de células cancerígenas de mama y tumores de mama inducidos y  
10 hallado que el 2-metoxiestronasulfamato presenta un potencial considerable terapéutico para el tratamiento del cáncer del mama.

Potter *et al. Molecular and Cellular Endocrinology* 2000, 160, 61-66 han investigado la inhibición de la absorción de la desoxiglucosa por células de cáncer de mama MCF-7 provocada por 2-metoxiestrona y 2-metoxiestrona-3-sulfamato, que inhiben la absorción de glucosa en un 25 a un 49% con 10  $\mu$ M (igualmente 2-metoxiestradiol y 2-metoxiestrona) y han llegado a la conclusión de que la capacidad de dichos compuestos de inhibir la absorción de glucosa podría conferirles un potencial terapéutico para la inhibición del cáncer de mama.

Potter *et al. Cancer Research* 2000, 60, 5441-5450 han descrito 2-metoxiestronasulfamato y 2-etoxiestronasulfamato como nuevos compuestos activos antimicrotúbulos, que presentan una actividad anticancerígena *in vitro* en células de carcinomas de mama y por tanto podrían ser activos también *in vivo*. En *J. Steroid Biochem. And Mol. Biol.* 1999, 69, 227-238, se describe que la inhibición de la actividad de la esteroidesulfatasa constituye un importante punto de partida para el tratamiento de carcinomas de mama dependientes de hormonas. Se mencionan explícitamente 2-metoxiestronasulfamato, 17-desoxiestronasulfamato y estronasulfamato. Aunque los sulfamatos monocíclicos o bicíclicos no esteroides inhiben la esteroidesulfatasa, no son tan eficaces como los derivados esteroides correspondientes.

El objetivo de la presente invención consiste en proporcionar compuestos que presenten una mayor inhibición de la polimerización de tubulina que 2-metoxiestradiol y simultáneamente una mayor biodisponibilidad oral.

Según la invención, dicho objetivo se consigue proporcionando compuestos de la fórmula general I para la preparación de un medicamento para el tratamiento de enfermedades tumorales, que pueden verse afectadas positivamente por medio de la inhibición de la polimerización de tubulina:



en la que

45  $R^1$  y  $R^2$ , independientemente uno del otro, representan H, metilo,  $C_1$ - $C_4$ -acilo, benzilo,

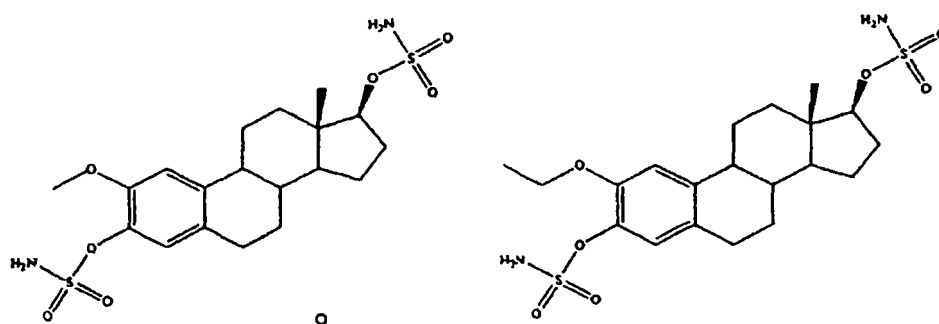
$R^3$  representa  $C_1$ - $C_4$ -alquilo o un radical de la fórmula  $C_nF_mH_o$ , en la que  $n = 1, 2, 3, 4, 5$  ó  $6$ ,  $m > 1$  y  $m+o = 2n+1$ ,

$R^4$  y  $R^5$  representan cada uno H o juntos un grupo metileno o un enlace doble adicional,

50  $R^6$  representa H,

$R^7$  representa OH,  $OC_1$ - $C_4$ -alquilo,  $OC_1$ - $C_{11}$ -acilo o  $OSO_2NR^1NR^2$ ,

55 en la que en los anillos B y C del esqueleto de esteroide las líneas discontinuas pueden ser además hasta dos enlaces dobles, con la condición de que el compuesto sea distinto de



## ES 2 294 159 T3

Se ha hallado que los 2-alcoxiestradiolsulfamatos según la invención inhiben la polimerización de tubulina *in vitro* sorprendentemente en mayor grado que el propio 2-metoxiestradiol. Los compuestos según la invención presentan también un efecto antitumoral *in vivo*.

5 La mejor inhibición de la polimerización de tubulina hace esperar una mayor inhibición del crecimiento de tumor.

Los grupos C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-alquilo para R<sup>3</sup> pueden ser generalmente un grupo metilo, etilo, n-propilo, iso-propilo, n-, iso- o terc-butilo. Se prefiere un grupo metilo o etilo.

10 El radical acilo R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> puede ser un radical formilo, acetilo, propionilo, butirilo o iso-butililo.

Entre los ejemplos del radical alquilo parcial o completamente fluorado en el sustituyente R<sup>3</sup>, se incluyen un radical trifluorometilo, pentafluoroetilo ó 2,2,2-trifluoroetilo.

15 El radical alcoxi R<sup>7</sup> puede ser un grupo metoxi, etoxi, n-propoxi, iso-propoxi, n-, iso- o terc-butoxi.

Entre los ejemplos del grupo alcoxi R<sup>7</sup>, se incluyen un grupo acetiloxi, propioniloxi, butiriloxi-iso-butililoxi, valeriloxi, deciloxi o undeciloxi.

20 Según la presente invención, resulta preferido utilizar los compuestos de la fórmula general I, en los que

R<sup>1</sup> representa H, metilo, acetilo, propionilo, butirilo,

25 R<sup>2</sup> representa H,

R<sup>3</sup> representa C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-alquilo o CH<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>,

R<sup>4</sup> y R<sup>5</sup> representan cada uno H o juntos un grupo metileno

30

R<sup>6</sup> representa H,

R<sup>7</sup> representa OH, OC<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-alquilo, OC<sub>1</sub>-C<sub>11</sub>-acilo o OSO<sub>2</sub>NR<sup>1</sup>NR<sup>2</sup>,

35 en la que en los anillos B y C del esqueleto de esteroide las líneas discontinuas pueden ser además un enlace doble en 8.

40 Según la invención, se prefieren en particular los compuestos mencionados a continuación y la utilización de los mismos:

1) 2-Metoxi-17β-hidroxiestra-1,3,5(10)-trien-3-il-sulfamato

45 2) 2-Metoxi-17α-hidroxiestra-1,3,5(10)-trien-3-il-sulfamato

3) 2-Metoxi-17β-hidroxiestra-1,3,5(10)-trien-3-il-N-acetil-sulfamato

4) 2-Metoxi-17α-hidroxiestra-1,3,5(10)-trien-3-il-N-acetil-sulfamato

50

5) 2-Metoxi-17β-hidroxi-14α,15α-metilenestra-1,3,5(10)-trien-3-il-sulfamato

6) 2-Metoxi-17α-hidroxi-14α,15α-metilenestra-1,3,5(10)-trien-3-il-sulfamato

55

7) 2-Metoxi-17β-hidroxi-14α,15α-metilenestra-1,3,5(10)-trien-3-il-N-acetil-sulfamato

8) 2-Metoxi-17α-hidroxi-14α,15α-metilenestra-1,3,5(10)-trien-3-il-N-acetil-sulfamato

9) 2-Metoxi-17β-hidroxi-14α,15α-metilenestra-1,3,5(10),8-tetraen-3-il-sulfamato

60

10) 2-Metoxi-17α-hidroxi-14α,15α-metilenestra-1,3,5(10),8-tetraen-3-il-sulfamato

11) 2-Metoxi-17β-hidroxi-14α,15α-metilenestra-1,3,5(10),8-tetraen-3-il-N-acetil-sulfamato

65

12) 2-Metoxi-17α-hidroxi-14α,15α-metilenestra-1,3,5(10),8-tetraen-3-il-N-acetil-sulfamato

13) 2-Etoxi-17β-hidroxiestra-1,3,5(10)-trien-3-il-sulfamato

## ES 2 294 159 T3

- 14) 2-Etoxi-17 $\alpha$ -hidroxiestra-1,3,5(10)-trien-3-il-sulfamato
- 15) 2-Etoxi-17 $\beta$ -hidroxiestra-1,3,5(10)-trien-3-il-N-acetil-sulfamato
- 5 16) 2-Etoxi-17 $\alpha$ -hidroxiestra-1,3,5(10)-trien-3-il-N-acetil-sulfamato
- 17) 2-Etoxi-17 $\beta$ -hidroxi-14 $\alpha$ ,15 $\alpha$ -metilene-1,3,5(10)-trien-3-il-sulfamato
- 18) 2-Etoxi-17 $\alpha$ -hidroxi-14 $\alpha$ ,15 $\alpha$ -metilene-1,3,5(10)-trien-3-il-sulfamato
- 10 19) 2-Etoxi-17 $\beta$ -hidroxi-14 $\alpha$ ,15 $\alpha$ -metilene-1,3,5(10)-trien-3-il-N-acetil-sulfamato
- 20) 2-Etoxi-17 $\alpha$ -hidroxi-14 $\alpha$ ,15 $\alpha$ -metilene-1,3,5(10)-trien-3-il-N-acetil-sulfamato
- 15 21) 2-Etoxi-17 $\beta$ -hidroxi-14 $\alpha$ ,15 $\alpha$ -metilene-1,3,5(10),8-tetraen-3-il-sulfamato
- 22) 2-Etoxi-17 $\alpha$ -hidroxi-14 $\alpha$ ,15 $\alpha$ -metilene-1,3,5(10),8-tetraen-3-il-sulfamato
- 23) 2-Etoxi-17 $\beta$ -hidroxi-14 $\alpha$ ,15 $\alpha$ -metilene-1,3,5(10),8-tetraen-3-il-N-acetil-sulfamato
- 20 24) 2-Etoxi-17 $\alpha$ -hidroxi-14 $\alpha$ ,15 $\alpha$ -metilene-1,3,5(10),8-tetraen-3-il-N-acetil-sulfamato
- 25) 2-(2',2',2'-Trifluoretoksi)-17 $\beta$ -hidroxiestra-1,3,5(10)-trien-3-il-sulfamato
- 25 26) 2-(2',2',2'-Trifluoretoksi)-17 $\alpha$ -hidroxiestra-1,3,5(10)-trien-3-il-sulfamato
- 27) 2-(2',2',2'-Trifluoretoksi)-17 $\beta$ -hidroxiestra-1,3,5(10)-trien-3-il-N-acetil-sulfamato
- 28) 2-(2',2',2'-Trifluoretoksi)-17 $\alpha$ -hidroxiestra-1,3,5(10)-trien-3-il-N-acetil-sulfamato
- 30 29) 2-(2',2',2'-Trifluoretoksi)-17 $\beta$ -hidroxi-14 $\alpha$ ,15 $\alpha$ -metilene-1,3,5(10)-trien-3-il-sulfamato
- 30) 2-(2',2',2'-Trifluoretoksi)-17 $\alpha$ -hidroxi-14 $\alpha$ ,15 $\alpha$ -metilene-1,3,5(10)-trien-3-il-sulfamato
- 35 31) 2-(2',2',2'-Trifluoretoksi)-17 $\beta$ -hidroxi-14 $\alpha$ ,15 $\alpha$ -metilene-1,3,5(10),8-tetraen-3-il-sulfamato
- 32) 2-(2',2',2'-Trifluoretoksi)-17 $\alpha$ -hidroxi-14 $\alpha$ ,15 $\alpha$ -metilene-1,3,5(10),8-tetraen-3-il-sulfamato
- 33) 2-(2',2',2'-Trifluoretoksi)-17 $\beta$ -hidroxi-14 $\alpha$ ,15 $\alpha$ -metilene-1,3,5(10)-trien-3-il-N-acetil-sulfamato
- 40 34) 2-(2',2',2'-Trifluoretoksi)-17 $\alpha$ -hidroxi-14 $\alpha$ ,15 $\alpha$ -metilene-1,3,5(10)-trien-3-il-N-acetil-sulfamato
- 35) 2-(2',2',2'-Trifluoretoksi)-17 $\beta$ -hidroxi-14 $\alpha$ ,15 $\alpha$ -metilene-1,3,5(10),8-tetraen-3-il-N-acetil-sulfamato
- 45 36) 2-(2',2',2'-Trifluoretoksi)-17 $\alpha$ -hidroxi-14 $\alpha$ ,15 $\alpha$ -metilene-1,3,5(10),8-tetraen-3-il-N-acetil-sulfamato.

### Datos farmacológicos

Los compuestos según la invención se han ensayado en varios modelos.

Los compuestos según la invención de la fórmula general I están caracterizados porque inhiben la polimerización de tubulina en mayor grado que 2-metoxiestradiol. El ensayo *in vitro* del efecto sobre la polimerización de tubulina se realizó de la siguiente manera:

Una proteína microtubular se purificó según Shelanski *et al.* (Shelanski *et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1973, 70, 765-8) a través de ensamblaje/desensamblado cíclico a partir del cerebro de cerdo. Se utilizó un sistema de tampón de la siguiente composición: PIPES 20 mM (ácido 1,4-piperazinodietanosulfónico, pKa 6,8), NaCl 80 mM, MgCl<sub>2</sub> 0,5 mM, EGTA 1 mM (ácido etilenglicol-bis(2-aminotetil)-tetraacético).

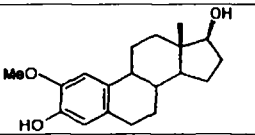
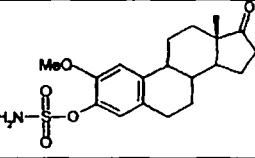
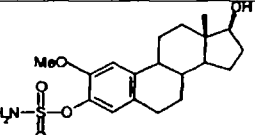
Para el ensayo del principio activo, se utilizaron concentraciones de proteína de 1 mg/ml (aproximadamente tubulina 10<sup>-5</sup> mM). La determinación de proteína se realizó según el método de Lowry (Lowry *et al. J. Biol. Chem.* 1951, 193, 265-75) con albúmina de suero bovino como estándar. El ensamblaje de los microtúbulos se llevó a cabo en presencia de GTP 0,25 mM y por calentamiento de las muestras a 37°C.

La formación de microtúbulos se comprobó por medio de turbidimetría a una longitud de onda de 340 nm. El estado de equilibrio en el que la proteína microtubular ya no presenta un aumento de la concentración de ensamblado (según la concentración de microtúbulos) y el valor de turbidez ya no se ve incrementado, se alcanza típicamente tras 20 minutos.

## ES 2 294 159 T3

El ensayo de los principios activos se llevó a cabo por adición de los mismos al principio del ensamblaje o en el estado de equilibrio. Las desviaciones de las curvas de turbidez del control caracterizan su eficacia. Para el control de su acción y la evaluación de los valores de turbidez medidos, se realizó siempre una investigación con un microscopio electrónico de transmisión (CEM 902 A, Zeiss/Oberkochen, Alemania) de los ensamblados tras una coloración negativa con acetato de uranilo acuoso al 1%.

TABLA 1

Nombre	Estructura	Inhibición de la polimerización de tubulina IC50 [μM]
2-Metoxiestradiol		>3
2-Metoxiestrona-3-sulfamato		1,6
2-Metoxi-17β-estradiol-3-sulfamato		1,0

En los esquemas presentados en la presente memoria, se utilizaron las abreviaturas siguientes:

Casodex: N-[4'-ciano-3-(trifluorofenil)-3-[(4-fluorofenil)sulfonil]-2-hidroxi-2-metilpropanamida

A: 2-Metoxi-17β-estradiol-3-sulfamato (Ejemplo 1)

B: 2-Metoxi-17β-estradiol-3-(N-acetil)sulfamato (Ejemplo 6)

En la presente invención, se investigó el efecto de los 2-alcoxiestradiolsulfamatos según la invención sobre el crecimiento de tumores *in vivo* por medio de modelos xenoinjerto del ratón, en los que se administraron los compuestos según la invención continuamente por vía subcutánea.

El modelo de tumor PC82 (G. Steenbrugge, University of Rotterdam, Holanda, referencia: Steenbrugge *et al. J. Urology* 131:812-817, 1984) es un modelo del carcinoma de próstata humano dependiente de hormonas. El modelo de tumor se estableció sobre ratones desnudos inmunodeficientes por medio de pases en serie de un tejido de un carcinoma de próstata, que se había retirado durante una operación, y se propagó. El modelo de carcinoma LNCaP dependiente de andrógeno se estableció también a partir de un tumor de paciente. Dicho modelo de tumor crece tanto en un cultivo de células como en forma de un xenotrasplante sobre ratones inmunodeficientes (Culig, Hoffmann *Brit. J. Cancer*, 1999, 242-251). Para los ensayos de terapia, a ratones desnudos de 6 semanas de edad (ratón NMRI, M&B, Bomholdtgard, Dinamarca) se administró un suplemento de pellets de testosterona (12,5 mg, 90 días de liberación; IRA, Sarasota, FL). A los animales, se les implantaron (por vía subcutánea en el flanco izquierdo) o bien células LNCaP ( $1,5 \times 10^6$  células) o bien fragmentos de tumor PC82 pequeños (2x2 mm). Después de que los tumores hubieran alcanzado un tamaño de 20-25 mm<sup>2</sup>, se inició el tratamiento con las sustancias según la invención.

Los resultados se han recopilado en los esquemas 1 y 2.

Mientras que en los animales de control sin tratar el tumor creció rápidamente, el tratamiento con las sustancias según la invención llevó a una inhibición del crecimiento clara de los tumores de próstata. En el modelo PC82, dicha inhibición del crecimiento es comparable a los efectos de un antiandrógeno o de una castración.

En el modelo LNCaP, puede detectarse también una inhibición del crecimiento del tumor dependiente de la dosis. El efecto es asimismo comparable a una castración y incluso superior al tratamiento con el antiandrógeno Casodex.

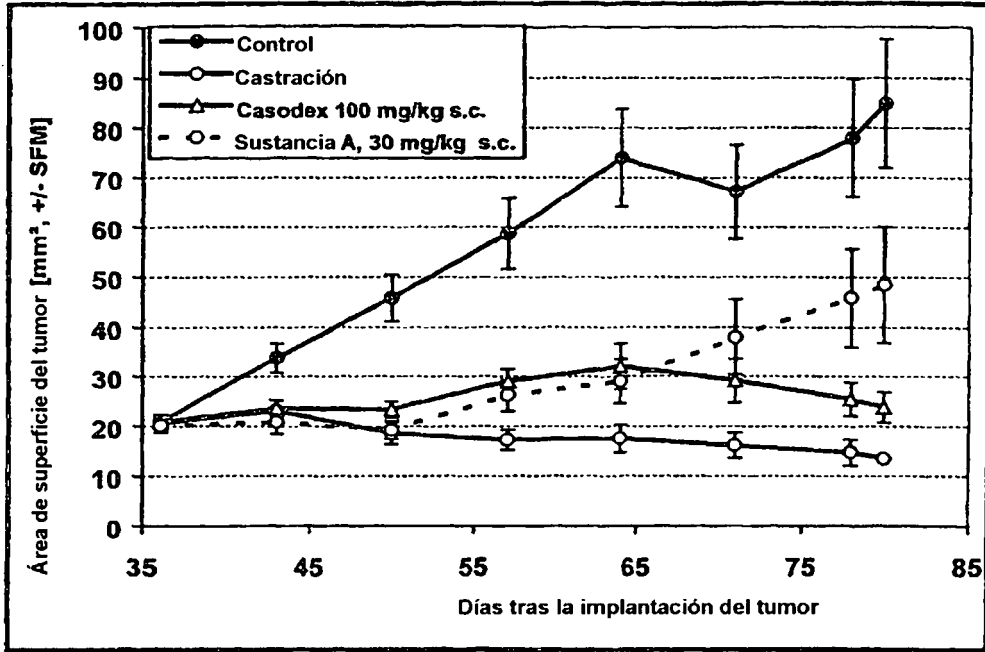
Los resultados de los ensayos en los modelos del carcinoma de próstata muestran una inhibición del crecimiento del tumor causada por los compuestos según la invención.

# ES 2 294 159 T3

Esquema 1

Inhibición del crecimiento de un carcinoma de próstata xenotrasplantado, dependiente de hormonas (PC82) por tratamiento con la sustancia A en comparación con la castración y el antiandrógeno Casodex

5



10

15

20

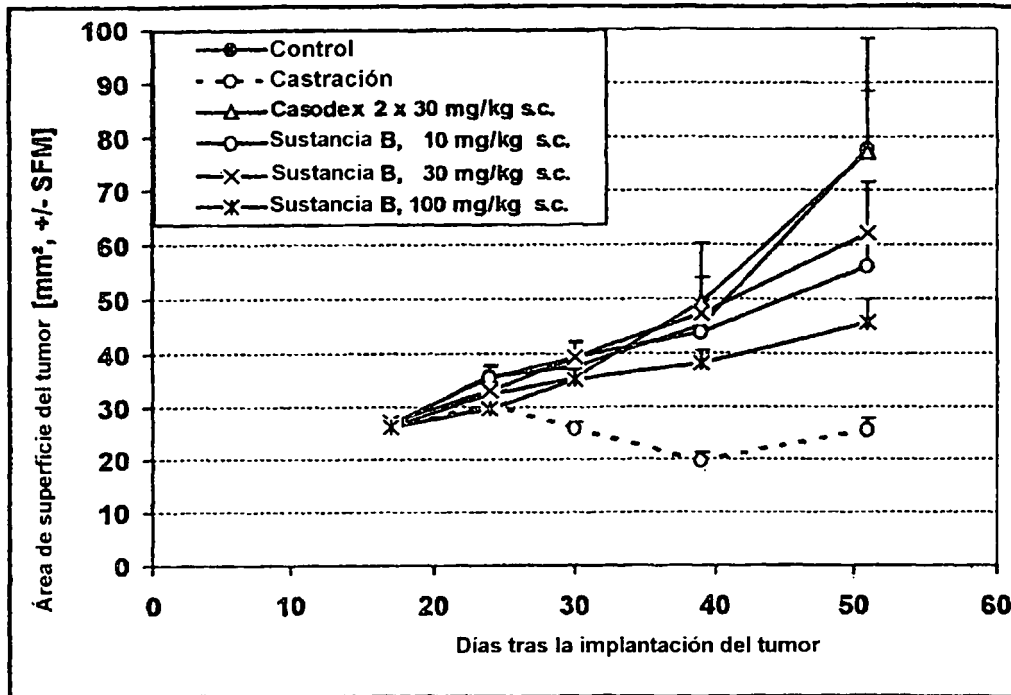
25

30

Esquema 2

Inhibición del crecimiento de un carcinoma de próstata xenotrasplantado, dependiente de hormonas (LNCaP) por tratamiento con la sustancia B en comparación con la castración y el antiandrógeno Casodex

35



40

45

50

55

60

65 En la presente invención, se investigó el efecto de los 2-alcoxiestradiosulfamatos según la invención sobre el crecimiento de tumores *in vivo* por medio de un modelo xenoinjerto del ratón, en el que los compuestos según la invención se administraron continuamente por vía subcutánea. En comparación con los animales de control, el resultado era una

inhibición del crecimiento del tumor. El retardo del crecimiento del tumor resultó significativo en ratones castrados. El tratamiento fue bien tolerado. Al contrario del modelo de castración, no se apreció un encogimiento de la próstata del ratón y de la vesícula seminal.

5 La presente invención ha demostrado que los compuestos según la invención provocan una inhibición del crecimiento del tumor de próstata.

#### 10 *Dosificación*

Por lo general, pueden esperarse resultados satisfactorios cuando las dosis diarias están comprendidas entre 5  $\mu\text{g}$  y 50 mg de los compuestos según la invención por kg de peso corporal. En mamíferos más grandes, por ejemplo el hombre, la dosis diaria recomendada está comprendida entre 10  $\mu\text{g}$  y 30 mg por peso corporal.

15 Las dosificaciones adecuadas para los compuestos según la invención están comprendidas entre 0,005 mg y 50 mg por día por kg de peso corporal, según la edad y constitución del paciente, pudiendo administrarse la dosis diaria necesaria por medio de un suministro único o múltiple.

20 Sin embargo, debido al efecto de depósito específico de los sulfamatos de estrógeno, los compuestos según la invención pueden asimismo administrarse a intervalos superiores a una vez al día (WO 00/06175).

25 La formulación de los preparados farmacéuticos a base de los nuevos compuestos se lleva a cabo de manera de por sí conocida, procesando el principio activo con los excipientes, cargas, agentes que afectan a la desintegración, aglutinantes, humectantes, lubricantes, absorbentes, diluyentes, correctores del sabor, colorantes, etc., convencionales en la galénica y convirtiendo la mezcla resultante en la forma de administración deseada. Para ello, se hace referencia a Remington's Pharmaceutical Science, 15ª Edición Mack Publishing Company, East Pennsylvania (1980).

30 Para la administración oral, resultan particularmente adecuados comprimidos, grageas, cápsulas, píldoras, polvos, granulados, pastillas, suspensiones, emulsiones o soluciones.

Para la administración parenteral, son posibles preparaciones por inyección o infusión.

Para la inyección intraarticular, pueden utilizarse suspensiones cristalinas preparadas de forma adecuada.

35 Para la inyección intramuscular, pueden utilizarse soluciones de inyección o suspensiones acuosas y aceitosas y las preparaciones de depósito correspondientes.

40 Para la administración rectal, los nuevos compuestos pueden utilizarse en forma de supositorios, cápsulas, soluciones (por ejemplo en forma de lavativas) y ungüentos tanto para la terapia sistémica como la local.

Para la administración pulmonar de los nuevos compuestos, los mismos pueden utilizarse en forma de aerosoles e inhalados.

45 Para la aplicación tópica, son posibles formulaciones en geles, ungüentos, ungüentos grasos, cremas, pastas, polvos, leche y tinturas. La dosificación de los compuestos de la fórmula general I en dichas preparaciones debería estar comprendida entre un 0,01% y un 20% para conseguir un efecto farmacológico suficiente.

50 La presente invención comprende la utilización de los compuestos según la invención de la fórmula general I para la preparación de un medicamento para el tratamiento de enfermedades tumorales que pueden ser afectadas favorablemente por la inhibición de la polimerización de tubulina.

55 Los compuestos según la invención de la fórmula general I se utilizan preferentemente para la preparación de un medicamento para el tratamiento de enfermedades tumorales de las gónadas masculina y femenina, de los órganos sexuales masculino y femenino, incluidas las glándulas mamarias, en particular de carcinoma de próstata y carcinoma de mama.

60 Además, la presente invención se refiere a composiciones farmacéuticas que contienen por lo menos un compuesto particularmente preferido según la invención, si se desea, en forma de una sal farmacéutica/farmacológicamente aceptable, sin o con sustancias auxiliares o excipientes farmacéuticamente aceptables. Dichas composiciones farmacéuticas y medicamentos pueden estar previstos para la administración oral, rectal, vaginal, subcutánea, percutánea, intravenosa o intramuscular. Contienen, además de los excipientes y/o diluyentes convencionales, por lo menos un compuesto particularmente preferido según la invención. Los medicamentos según la invención se preparan de manera conocida con los excipientes o diluyentes sólidos o líquidos convencionales y las sustancias auxiliares farmacéutico-técnicas utilizadas convencionalmente según el tipo de administración deseado con una dosificación adecuada. Las preparaciones 65 preferidas consisten en una forma de administración apta para la administración oral. Entre los ejemplos de formas de administración de este tipo, se incluyen comprimidos, comprimidos recubiertos, grageas, cápsulas, píldoras, polvos, soluciones o suspensiones o también formas de depósito.

## ES 2 294 159 T3

Las composiciones farmacéuticas que contienen por lo menos uno de los compuestos según la invención se administran preferentemente por vía oral.

Resultan asimismo adecuadas preparaciones parenterales tales como soluciones de inyección. Entre los ejemplos de preparaciones, se incluyen también supositorios y agentes para la administración vaginal.

Los comprimidos adecuados pueden obtenerse por ejemplo mezclando el principio activo con sustancias auxiliares conocidas, por ejemplo diluyentes inertes, tales como dextrosa, azúcar, sorbitol, manitol, polivinilpirrolidona, agentes de desintegración, tales como almidón de maíz o ácido algínico, aglutinantes, tales como almidón o gelatina, lubricantes, tales como estearato de magnesio o talco y/o agentes para conseguir un efecto de depósito, tales como carboxipolimetileno, carboximetilcelulosa, acetato y ftalato de celulosa o acetato de polivinilo. Los comprimidos pueden estar asimismo constituidos por varias capas.

Por tanto, las grageas pueden prepararse recubriendo los núcleos preparados de forma análoga a los comprimidos con agentes utilizados convencionalmente en los recubrimientos de grageas, por ejemplo polivinilpirrolidona o goma laca, goma arábiga, talco, óxido de titanio o azúcar. La envoltura de dichas grageas puede estar asimismo constituida por varias capas, para las cuales pueden utilizarse las sustancias auxiliares mencionadas para los comprimidos.

Las soluciones o suspensiones que contienen los compuestos según la invención de la fórmula general I pueden contener adicionalmente agentes que mejoran el sabor, tales como sacarina, ciclamato o azúcar así como por ejemplo sustancias aromáticas, tales como vainilla o extracto de naranja. Además, pueden contener agentes auxiliares de suspensión, tales como carboximetilcelulosa sódica o conservantes, tales como p-hidroxibenzoatos.

Las cápsulas que contienen los compuestos de la fórmula general I pueden prepararse, por ejemplo, mezclando el (los) compuesto(s) de la fórmula general I con un excipiente inerte, tal como lactosa o sorbitol y encapsulando la mezcla en cápsulas de gelatina.

Pueden prepararse supositorios adecuados, por ejemplo, mezclando los compuestos con excipientes previstos para tal fin, tales como grasas neutras o polietilenglicol o sus derivados.

Los compuestos según la invención pueden administrarse combinados con uno o más de los principios activos siguientes para la terapia de carcinomas de próstata:

- 1) Antiandrógenos, tales como CPA, flutamida, Casodex, etc.
- 2) Agonistas de la hormona liberadora de gonadotropina (GnRH)
- 3) Inhibidores de la 5 $\alpha$ -reductasa, tal como finastride
- 4) Citostáticos
- 5) Inhibidores de la VEGF-cinasa
- 6) Antigestágenos
- 7) Antiestrógenos
- 8) Oligonucleótidos antisentido
- 9) Anticuerpos EGF
- 10) Estrógenos

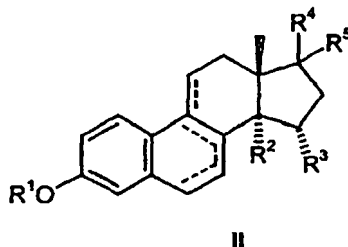
Además, los compuestos según la invención de la fórmula general I pueden utilizarse para la terapia y profilaxis de otros estados clínicos no mencionados anteriormente.

Los compuestos según la invención de la fórmula general I pueden prepararse de la manera descrita a continuación:

La sustitución electrófilo del átomo C2 de un derivado de estra-1,3,5(19)-trien-17-ona, por ejemplo los compuestos 1-3, se realiza preferentemente por acilación según Friedel-Crafts, tal como se ha descrito en la literatura (T. Nambara, S. Honma, S. Akiyama, *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* 1979, 18, 474-480). Después de cambiar el grupo protector en la posición 3 se genera un 2-carboxiestra-1,3,5(10)-trien-17-ona por medio de una oxidación según Bayer-Villiger (March, *Advanced Organic Chemistry*, 3ª Edición, J. Wiley & Sons 1985, 990-991 y las referencias mencionados en el mismo). El éster se saponifica y se convierte en un éter 2-alquilo, haciéndolo reaccionar con un haluro de alquilo en presencia de una base. La eliminación del grupo protector en la posición 3 se lleva a cabo tal como se ha descrito en la literatura (T. W. Greene, P. G. M. Wuts, *Protective Groups in Organic Synthesis*, J. Wiley & Sons 1999, p. 249-275).

## ES 2 294 159 T3

La 2-acilación, a partir de los compuestos de la fórmula general II en la que R<sup>2</sup> y R<sup>3</sup> forman conjuntamente un puente metileno o que poseen enlaces dobles adicionales en el esqueleto de esteroide, se realiza por medio de ortometalización (D. J. Pert, D. D. Ridley, *Australian Journal of Chemistry* 1989, 42, 405-419; V. Snieckus, *Chemical Reviews*, 1990, 90, 879-933; P. Beak, R. A. Brown, *Journal of Organic Chemistry*, 1982, 47, 34-46).



Para R<sup>1</sup> como grupo protector orto-dirigente en la posición 3, se utiliza preferentemente un grupo carbamato. Tras 2-litiación, la sustitución electrófila se realiza con dimetilformamida. El derivado de 2-formilestradiol se oxida al éster fórmico y se convierte en un compuesto 2-alcoxi de manera conocida (WO 98/40398). La preparación de los compuestos de la fórmula general II en la que R<sup>2</sup> y R<sup>3</sup> forman conjuntamente un puente metileno o que poseen enlaces dobles adicionales en el esqueleto de esteroide forma parte del estado de la técnica (por ejemplo DE 4239945; DE 4239946; R. Prousa, B. Schönecker, D. Tresselt, K. Ponsold, *Journal für Praktische Chemie* 1986, 328, 55-70; H.-J. Siemann, P. Droscher, B. Undeutsch, S. Schwarz, *Steroids* 1995, 60, 308-315).

A continuación, la presente invención se ilustrará con mayor detalle haciendo referencia a los siguientes ejemplos no limitativos:

### *Procedimiento de preparación*

#### 1) *Procedimiento general para la preparación de estra-1,3,5(10)-trien-3il-sulfamatos o estra-1,3,5(10),8-tetraen-3-il-sulfamatos*

Se suspenden 7 mmol de un derivado de estra-1,3,5(10)-trien-17-ona en 100 ml de cloruro de metileno con agitación y se le añaden 35 mmol de 2,6-di-terc-butilpiridina así como 70 mmol de cloruro de sulfamoilo a temperatura ambiente. Se forma una suspensión blanca a amarillenta, que se continúa agitando durante 2 horas. A la preparación se le añade agua, la mezcla resultante se extrae con acetato de etilo, y los extractos se lavan con agua y una solución saturada de bicarbonato sódico hasta la neutralidad. La fase orgánica se seca sobre sulfato sódico, se elimina el disolvente por destilación, y se aísla el producto crudo. Tras cromatografía en gel de sílice con un eluyente constituido por tolueno/acetato de etilo (v/v = 10/1), se aísla el producto con un rendimiento comprendido entre un 70 y un 85%.

#### 2) *Procedimiento general para la acetilación de estra-1,3,5(10)-trien-3il-sulfamatos o estra-1,3,5(10),8-tetraen-3-il-sulfamatos*

Se disuelven 10,5 mmol de un sulfamato de esteroide preparado tal como se ha descrito en 50 ml de piridina y a la mezcla resultante se le añaden 115 mmol de anhídrido acético a una temperatura comprendida entre 0 y 5°C. Se produce una solución clara, que se continúa agitando durante 1 hora a temperatura ambiente. La preparación se vierte sobre hielo y se extrae con acetato de etilo. Tras acidificar los extractos con ácido clorhídrico 6N, la mezcla se lava con agua y una solución de cloruro sódico. La fase orgánica se seca, y el disolvente se elimina por destilación. El producto crudo secado se utiliza para las reacciones posteriores sin purificarlo.

#### 3) *Procedimiento general para la reducción de los 3-sulfamatos así como de los N-acetil-sulfamatos*

12 mmol de esteroide se disuelven en 120 ml de una mezcla de THF/metanol (1:1) y a la mezcla resultante se adicionan 100 mmol de borohidruro sódico en porciones a temperatura ambiente. La solución de reacción se agita a temperatura ambiente durante 1 hora y, a continuación, se acidifica, tras adición de agua, con ácido clorhídrico 1M. Tras extracción con acetato de etilo, la fase orgánica se lava con una solución de cloruro sódico hasta la neutralidad, se seca, y el disolvente se elimina por destilación. Tras purificación del producto crudo en gel de sílice con tolueno/acetato de etilo (v/v = 3/1), el producto de reacción se obtiene en un rendimiento bueno hasta muy bueno (60-95% de la teoría).

Los siguientes compuestos según la invención se prepararon utilizando los procedimientos citados:

### *Ejemplo 1*

#### *2-Metoxi-17β-hidroxiestra-1,3,5(10)-trien-3-il-sulfamato 1*

Utilizando los procedimientos de síntesis generales 1 y 3, se obtuvieron, a partir de 13,98 mmol de 2-metoxi-17-oxoestra-1,3,5(10)-trien-3-ol, 10,44 mmol de 1 (75% de la teoría).

## ES 2 294 159 T3

RMN 1H (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>, TMS)  $\delta$  (ppm): 7,80 (s, 2H, -NH<sub>2</sub>), 6,97 (s, 1H, H-1), 6,96 (s, 1H, H-4), 4,52 (d, J = 4,7 Hz, 1H, 17 $\beta$ -OH), 3,76 (s, 3H, 2-OCH<sub>3</sub>), 3,58-3,49 (m, 1H, H-17 $\alpha$ ), 2,77-2,68 (m, 2H, H-6), 0,68 (s, 3H, H-18).

### 5 Ejemplo 2

#### *2-Metoxi-17 $\beta$ -hidroxi-14 $\alpha$ ,15 $\alpha$ -metilenestra-1,3,5(10)-trien-3-il-sulfamato 2*

10 Utilizando el procedimiento de síntesis general 1, seguido de la eliminación del grupo protector terc-butildimetilsililo (T. W. Greene, P. G. M. Wuts, *Protective Groups in Organic Synthesis*, J. Wiley & Sons 1999, p. 273-276), se obtuvieron, a partir de 2,33 mmol de 17 $\beta$ -terc-butildimetilsililoxi-2-metoxi-14 $\alpha$ ,15 $\alpha$ -metilenestra-1,3,5(10)-trien-3-ol, 1,42 mmol de 2 (61% de la teoría).

15 RMN 1H (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>, TMS)  $\delta$  (ppm): 7,80 (s, 2H, -NH<sub>2</sub>), 6,95 (s, 1H, H-1), 6,94 (s, 1H, H-4), 5,67 (s, 1H, 17 $\beta$ -OH), 3,74 (s, 3H, 2-OCH<sub>3</sub>), 3,56-3,50 (m, 1H, H-17 $\alpha$ ), 2,80-2,62 (m, 2H, H-6), 0,89 (s, 1H, H-18), 0,28-0,20 (m, 2H, 14 $\alpha$ ,15 $\alpha$ -CH<sub>2</sub>).

### Ejemplo 3

20

#### *2-Etoxi-17 $\beta$ -hidroxiestra-1,3,5(10)-trien-3-il-sulfamato 3*

Utilizando los procedimientos de síntesis generales 1 y 3, se obtuvieron, a partir de 1,64 mmol de 2-etoxi-17-oxoestra-1,3,5(10)-trien-3-ol, 1,23 mmol de 3 (75% de la teoría).

25

RMN 1H (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>, TMS)  $\delta$  (ppm): 7,76 (s, 2H, -NH<sub>2</sub>), 6,96 (s, 1H, H-1), 6,95 (s, 1H, H-4), 4,53 (d, J = 3,9 Hz, 1H, 17 $\beta$ -OH), 4,07-3,99 (m, 2H, 2-OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 3,59-3,48 (m, 1H, H-17 $\alpha$ ), 2,76-2,69 (m, 2H, H-6), 1,31 (t, J = 7,0 Hz, 3H, 2-OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 0,71 (s, 3H, H-18).

30

### Ejemplo 4

#### *2-Metoxi-17 $\beta$ -hidroxiestra-1,3,5(10)-trien-3-il-N-acetil-sulfamato 4*

35 Utilizando los procedimientos de síntesis generales 1, 2 y 3, se obtuvieron, a partir de 1,43 mmol de 2-metoxi-17-oxoestra-1,3,5(10)-trien-3-ol, 1,05 mmol de 6 (73% de la teoría).

40 RMN 1H (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>, TMS)  $\delta$  (ppm): 12,20 (s, 1H, -NH), 6,97 (s, 1H, H-1), 6,92 (s, 1H, H-4), 4,51 (d, J = 3,5 Hz, 1H, 17 $\beta$ -OH), 3,73 (s, 3H, 2-OCH<sub>3</sub>), 3,57-3,48 (m, 1H, H-17 $\alpha$ ), 2,75-2,67 (m, 2H, H-6), 1,99 (s, 3H, -NCOCH<sub>3</sub>), 0,68 (s, 3H, H-18).

### Ejemplo 5

#### *2-Metoxi-17 $\beta$ -hidroxi-14 $\alpha$ ,15 $\alpha$ -metilenestra-1,3,5(10)-trien-3-N-acetil-sulfamato 5*

45 Utilizando los procedimientos de síntesis generales 1 y 2, seguido de la eliminación del grupo protector terc-butildimetilsililo (T. W. Greene, P. G. M. Wuts, *Protective Groups in Organic Synthesis*, J. Wiley & Sons 1999, p. 273-276), se obtuvieron, a partir de 2,33 mmol de 17 $\beta$ -terc-butildimetilsililoxi-2-metoxi-14 $\alpha$ ,15 $\alpha$ -metilenestra-1,3,5(10)-trien-3-ol, 1,19 mmol de 7 (51% de la teoría).

50 RMN 1H (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>, TMS)  $\delta$  (ppm): 12,20 (s, 1H, -NH), 6,95 (s, 1H, H-1), 6,92 (s, 1H, H-4), 5,67 (s, 1H, 17 $\beta$ -OH), 3,74 (s, 3H, 2-OCH<sub>3</sub>), 3,56-3,50 (m, 1H, H-17 $\alpha$ ), 2,80-2,62 (m, 2H, H-6), 1,97 (s, 3H, -NCOCH<sub>3</sub>), 0,89 (s, 1H, H-18), 0,28-0,20 (m, 2H, 14 $\alpha$ ,15 $\alpha$ -CH<sub>2</sub>).

55

### Ejemplo 6

#### *2-Etoxi-17 $\beta$ -hidroxiestra-1,3,5(10)-trien-3-il-N-acetil-sulfamato 6*

60

Utilizando los procedimientos de síntesis generales 1, 2 y 3, se obtuvieron, a partir de 1,40 mmol de 2-etoxi-17-oxoestra-1,3,5(10)-trien-3-ol, 0,94 mmol de 8 (67% de la teoría).

65 RMN 1H (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>, TMS)  $\delta$  (ppm): 12,20 (s, 1H, -NH), 6,99 (s, 1H, H-1), 6,86 (s, 1H, H-4), 4,53 (d, J = 4,7 Hz, 1H, 17 $\beta$ -OH), 4,07-3,96 (m, 2H, 2-OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 3,56-3,50 (m, 1H, H-17 $\alpha$ ), 2,74-2,68 (m, 2H, H-6), 1,97 (s, 3H, -NCOCH<sub>3</sub>), 1,29 (t, 3H, 2-OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 0,68 (s, 3H, H-18).

## ES 2 294 159 T3

### Ejemplo 7

#### *2-Metoxi-17 $\alpha$ -hidroxi-14 $\alpha$ ,15 $\alpha$ -metilenestra-1,3,5(10),8-tetraen-3-il-sulfamato 7*

5 Utilizando el procedimiento de síntesis general 1, seguido de la eliminación del grupo protector terc-butildimetilsililo (T. W. Greene, P. G. M. Wuts, *Protective Groups in Organic Synthesis*, J. Wiley & Sons 1999, p. 273-276), se obtuvieron, a partir de 1,67 mmol de 17 $\alpha$ -terc-butildimetilsililoxi-2-metoxi-14 $\alpha$ ,15 $\alpha$ -metilenestra-1,3,5(10),8-tetraen-3-ol, 1,08 mmol de 11 (65% de la teoría).

10 RMN 1H (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>, TMS)  $\delta$  (ppm): 7,81 (s, 2H, -NH<sub>2</sub>), 6,98 (s, 1H, H-1), 6,93 (s, 1H, H-4), 3,90 (d, J = 6,2 Hz, 1H, H-17 $\beta$ ), 3,80 (s, 3H, 2-OCH<sub>3</sub>), 2,80-2,62 (m, 2H, H-6), 1,28-1,25 (m, 1H, 14 $\alpha$ ,15 $\alpha$ -CH<sub>2</sub>), 0,93 (s, 1H, H-18), 0,47-0,43 (m, 1H, 14 $\alpha$ ,15 $\alpha$ -CH<sub>2</sub>).

### 15 Ejemplo 8

#### *2-Metoxi-17 $\alpha$ -hidroxi-14 $\alpha$ ,15 $\alpha$ -metilenestra-1,3,5(10),8-tetraen-3-il-N-acetil-sulfamato 8*

20 Utilizando los procedimientos de síntesis generales 1 y 2, seguido de la eliminación del grupo protector terc-butildimetilsililo (T. W. Greene, P. G. M. Wuts, *Protective Groups in Organic Synthesis*, J. Wiley & Sons 1999, p. 273-276), se obtuvieron, a partir de 1,89 mmol de 17 $\alpha$ -terc-butildimetilsililoxi-2-metoxi-14 $\alpha$ ,15 $\alpha$ -metilenestra-1,3,5(10),8-tetraen-3-ol, 0,91 mmol de 12 (48% de la teoría).

25 RMN 1H (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>, TMS)  $\delta$  (ppm): 12,20 (s, 1H, -NH), 6,98 (s, 1H, H-1), 6,90 (s, 1H, H-4), 3,89 (d, J = 6,1 Hz, 1H, H-17 $\beta$ ), 3,80 (s, 3H, 2-OCH<sub>3</sub>), 2,80-2,62 (m, 2H, H-6), 1,96 (s, 3H, -NCOCH<sub>3</sub>), 1,28-1,24 (m, 1H, 14 $\alpha$ ,15 $\alpha$ -CH<sub>2</sub>), 0,93 (s, 1H, H-18), 0,47-0,40 (m, 1H, 14 $\alpha$ ,15 $\alpha$ -CH<sub>2</sub>).

30

35

40

45

50

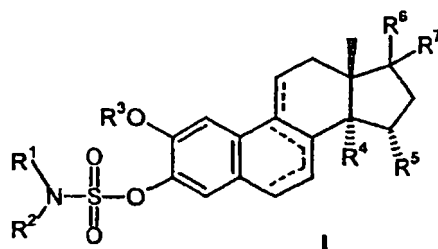
55

60

65

REIVINDICACIONES

1. Utilización de compuestos de fórmula general



en la que

R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup>, independientemente uno del otro, representan H, metilo, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-acilo, bencilo,

R<sup>3</sup> representa C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-alquilo o un radical de fórmula C<sub>n</sub>F<sub>m</sub>H<sub>o</sub>, en la que n = 1, 2, 3, 4, 5 ó 6, m > 1 y m+o = 2n+1,

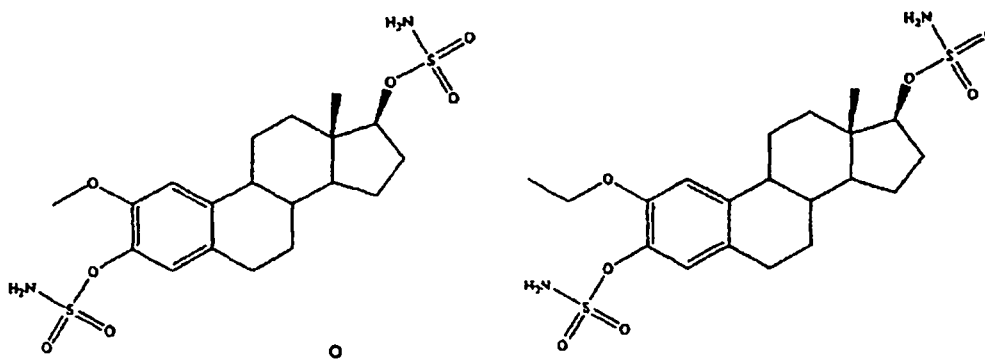
R<sup>4</sup> y R<sup>5</sup> representan cada uno H o conjuntamente un grupo metileno o un enlace doble adicional,

R<sup>6</sup> representa H,

R<sup>7</sup> representa OH, OC<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-alquilo, OC<sub>1</sub>-C<sub>11</sub>-acilo u OSO<sub>2</sub>NR<sup>1</sup>NR<sup>2</sup>,

en la que en los anillos B y C del esqueleto de esteroide las líneas discontinuas pueden ser además hasta dos enlaces dobles,

para la preparación de medicamentos destinados al tratamiento de enfermedades tumorales, que pueden resultar influidas positivamente por la inhibición de la polimerización de tubulina, con la condición de que el compuesto sea distinto de



2. Utilización según la reivindicación 1, **caracterizada** porque R<sup>3</sup> representa metilo, etilo ó 2,2,2-trifluoroetilo.

3. Utilización según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 2, **caracterizada** porque R<sup>1</sup> representa H.

4. Utilización según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, **caracterizada** porque R<sup>2</sup> representa H.

5. Utilización según la reivindicación 4, **caracterizada** porque R<sup>3</sup> representa un grupo metilo.

6. Utilización según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, a saber,

1) 2-Metoxi-17β-hidroxiestra-1,3,5(10)-trien-3-il-sulfamato

2) 2-Metoxi-17α-hidroxiestra-1,3,5(10)-trien-3-il-sulfamato

3) 2-Metoxi-17β-hidroxiestra-1,3,5(10)-trien-3-il-N-acetil-sulfamato

4) 2-Metoxi-17α-hidroxiestra-1,3,5(10)-trien-3-il-N-acetil-sulfamato

## ES 2 294 159 T3

- 5) 2-Metoxi-17 $\beta$ -hidroxi-14 $\alpha$ ,15 $\alpha$ -metilenestra-1,3,5(10)-trien-3-il-sulfamato
- 6) 2-Metoxi-17 $\alpha$ -hidroxi-14 $\alpha$ ,15 $\alpha$ -metilenestra-1,3,5(10)-trien-3-il-sulfamato
- 5 7) 2-Metoxi-17 $\beta$ -hidroxi-14 $\alpha$ ,15 $\alpha$ -metilenestra-1,3,5(10)-trien-3-il-N-acetil-sulfamato
- 8) 2-Metoxi-17 $\alpha$ -hidroxi-14 $\alpha$ ,15 $\alpha$ -metilenestra-1,3,5(10)-trien-3-il-N-acetil-sulfamato
- 9) 2-Metoxi-17 $\beta$ -hidroxi-14 $\alpha$ ,15 $\alpha$ -metilenestra-1,3,5(10),8-tetraen-3-il-sulfamato
- 10 10) 2-Metoxi-17 $\alpha$ -hidroxi-14 $\alpha$ ,15 $\alpha$ -metilenestra-1,3,5(10),8-tetraen-3-il-sulfamato
- 11) 2-Metoxi-17 $\beta$ -hidroxi-14 $\alpha$ ,15 $\alpha$ -metilenestra-1,3,5(10),8-tetraen-3-il-sulfamato
- 15 12) 2-Metoxi-17 $\alpha$ -hidroxi-14 $\alpha$ ,15 $\alpha$ -metilenestra-1,3,5(10),8-tetraen-3-il-N-acetil-sulfamato
- 13) 2-Etoxi-17 $\beta$ -hidroxiestra-1,3,5(10)-trien-3-il-sulfamato
- 14) 2-Etoxi-17 $\alpha$ -hidroxiestra-1,3,5(10)-trien-3-il-sulfamato
- 20 15) 2-Etoxi-17 $\beta$ -hidroxiestra-1,3,5(10)-trien-3-il-N-acetil-sulfamato
- 16) 2-Etoxi-17 $\alpha$ -hidroxiestra-1,3,5(10)-trien-3-il-N-acetil-sulfamato
- 25 17) 2-Etoxi-17 $\beta$ -hidroxi-14 $\alpha$ ,15 $\alpha$ -metilenestra-1,3,5(10)-trien-3-il-sulfamato
- 18) 2-Etoxi-17 $\alpha$ -hidroxi-14 $\alpha$ ,15 $\alpha$ -metilenestra-1,3,5(10)-trien-3-il-sulfamato
- 19) 2-Etoxi-17 $\beta$ -hidroxi-14 $\alpha$ ,15 $\alpha$ -metilenestra-1,3,5(10)-trien-3-il-N-acetil-sulfamato
- 30 20) 2-Etoxi-17 $\alpha$ -hidroxi-14 $\alpha$ ,15 $\alpha$ -metilenestra-1,3,5(10)-trien-3-il-N-acetil-sulfamato
- 21) 2-Etoxi-17 $\beta$ -hidroxi-14 $\alpha$ ,15 $\alpha$ -metilenestra-1,3,5(10),8-tetraen-3-il-sulfamato
- 35 22) 2-Etoxi-17 $\alpha$ -hidroxi-14 $\alpha$ ,15 $\alpha$ -metilenestra-1,3,5(10),8-tetraen-3-il-sulfamato
- 23) 2-Etoxi-17 $\beta$ -hidroxi-14 $\alpha$ ,15 $\alpha$ -metilenestra-1,3,5(10),8-tetraen-3-il-N-acetil-sulfamato
- 24) 2-Etoxi-17 $\alpha$ -hidroxi-14 $\alpha$ ,15 $\alpha$ -metilenestra-1,3,5(10),8-tetraen-3-il-N-acetil-sulfamato
- 40 25) 2-(2',2',2'-Trifluoretoxi)-17 $\beta$ -hidroxiestra-1,3,5(10)-trien-3-il-sulfamato
- 26) 2-(2',2',2'-Trifluoretoxi)-17 $\alpha$ -hidroxiestra-1,3,5(10)-trien-3-il-sulfamato
- 45 27) 2-(2',2',2'-Trifluoretoxi)-17 $\beta$ -hidroxiestra-1,3,5(10)-trien-3-il-N-acetil-sulfamato
- 28) 2-(2',2',2'-Trifluoretoxi)-17 $\alpha$ -hidroxiestra-1,3,5(10)-trien-3-il-N-acetil-sulfamato
- 29) 2-(2',2',2'-Trifluoretoxi)-17 $\beta$ -hidroxi-14 $\alpha$ ,15 $\alpha$ -metilenestra-1,3,5(10)-trien-3-il-sulfamato
- 50 30) 2-(2',2',2'-Trifluoretoxi)-17 $\alpha$ -hidroxi-14 $\alpha$ ,15 $\alpha$ -metilenestra-1,3,5(10)-trien-3-il-sulfamato
- 31) 2-(2',2',2'-Trifluoretoxi)-17 $\beta$ -hidroxi-14 $\alpha$ ,15 $\alpha$ -metilenestra-1,3,5(10),8-tetraen-3-il-sulfamato
- 55 32) 2-(2',2',2'-Trifluoretoxi)-17 $\alpha$ -hidroxi-14 $\alpha$ ,15 $\alpha$ -metilenestra-1,3,5(10),8-tetraen-3-il-sulfamato
- 33) 2-(2',2',2'-Trifluoretoxi)-17 $\beta$ -hidroxi-14 $\alpha$ ,15 $\alpha$ -metilenestra-1,3,5(10)-trien-3-il-N-acetil-sulfamato
- 34) 2-(2',2',2'-Trifluoretoxi)-17 $\alpha$ -hidroxi-14 $\alpha$ ,15 $\alpha$ -metilenestra-1,3,5(10)-trien-3-il-N-acetil-sulfamato
- 60 35) 2-(2',2',2'-Trifluoretoxi)-17 $\beta$ -hidroxi-14 $\alpha$ ,15 $\alpha$ -metilenestra-1,3,5(10),8-tetraen-3-il-N-acetil-sulfamato
- 36) 2-(2',2',2'-Trifluoretoxi)-17 $\alpha$ -hidroxi-14 $\alpha$ ,15 $\alpha$ -metilenestra-1,3,5(10),8-tetraen-3-il-N-acetil-sulfamato.

65 7. Utilización de los compuestos según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, para la preparación de un medicamento destinado al tratamiento de enfermedades tumorales de las gónadas masculina y femenina y de los órganos sexuales masculino y femenino, incluidas las glándulas mamarias.

## ES 2 294 159 T3

8. Utilización de los compuestos según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, para la preparación de un medicamento destinado al tratamiento del carcinoma de mama.

5 9. Utilización de los compuestos según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, para la preparación de un medicamento destinado al tratamiento del carcinoma de próstata.

10. 2-Alcoxiestradiolsulfamatos, a saber,

- 10 1) 2-Metoxi-17 $\beta$ -hidroxiestra-1,3,5(10)-trien-3-il-sulfamato  
2) 2-Metoxi-17 $\alpha$ -hidroxiestra-1,3,5(10)-trien-3-il-sulfamato  
15 3) 2-Metoxi-17 $\beta$ -hidroxiestra-1,3,5(10)-trien-3-il-*N*-acetil-sulfamato  
4) 2-Metoxi-17 $\alpha$ -hidroxiestra-1,3,5(10)-trien-3-il-*N*-acetil-sulfamato  
5) 2-Metoxi-17 $\beta$ -hidroxi-14 $\alpha$ ,15 $\alpha$ -metilene-1,3,5(10)-trien-3-il-sulfamato  
20 6) 2-Metoxi-17 $\alpha$ -hidroxi-14 $\alpha$ ,15 $\alpha$ -metilene-1,3,5(10)-trien-3-il-sulfamato  
7) 2-Metoxi-17 $\beta$ -hidroxi-14 $\alpha$ ,15 $\alpha$ -metilene-1,3,5(10)-trien-3-il-*N*-acetil-sulfamato  
8) 2-Metoxi-17 $\alpha$ -hidroxi-14 $\alpha$ ,15 $\alpha$ -metilene-1,3,5(10)-trien-3-il-*N*-acetil-sulfamato  
25 9) 2-Metoxi-17 $\beta$ -hidroxi-14 $\alpha$ ,15 $\alpha$ -metilene-1,3,5(10),8-tetraen-3-il-sulfamato  
10) 2-Metoxi-17 $\alpha$ -hidroxi-14 $\alpha$ ,15 $\alpha$ -metilene-1,3,5(10),8-tetraen-3-il-sulfamato  
30 11) 2-Metoxi-17 $\beta$ -hidroxi-14 $\alpha$ ,15 $\alpha$ -metilene-1,3,5(10),8-tetraen-3-il-sulfamato  
12) 2-Metoxi-17 $\alpha$ -hidroxi-14 $\alpha$ ,15 $\alpha$ -metilene-1,3,5(10),8-tetraen-3-il-*N*-acetil-sulfamato  
13) 2-Etoxi-17 $\beta$ -hidroxiestra-1,3,5(10)-trien-3-il-sulfamato  
35 14) 2-Etoxi-17 $\alpha$ -hidroxiestra-1,3,5(10)-trien-3-il-sulfamato  
15) 2-Etoxi-17 $\beta$ -hidroxiestra-1,3,5(10)-trien-3-il-*N*-acetil-sulfamato  
40 16) 2-Etoxi-17 $\alpha$ -hidroxiestra-1,3,5(10)-trien-3-il-*N*-acetil-sulfamato  
17) 2-Etoxi-17 $\beta$ -hidroxi-14 $\alpha$ ,15 $\alpha$ -metilene-1,3,5(10)-trien-3-il-sulfamato  
18) 2-Etoxi-17 $\alpha$ -hidroxi-14 $\alpha$ ,15 $\alpha$ -metilene-1,3,5(10)-trien-3-il-sulfamato  
45 19) 2-Etoxi-17 $\beta$ -hidroxi-14 $\alpha$ ,15 $\alpha$ -metilene-1,3,5(10)-trien-3-il-*N*-acetil-sulfamato  
20) 2-Etoxi-17 $\alpha$ -hidroxi-14 $\alpha$ ,15 $\alpha$ -metilene-1,3,5(10)-trien-3-il-*N*-acetil-sulfamato  
50 21) 2-Etoxi-17 $\beta$ -hidroxi-14 $\alpha$ ,15 $\alpha$ -metilene-1,3,5(10),8-tetraen-3-il-sulfamato  
22) 2-Etoxi-17 $\alpha$ -hidroxi-14 $\alpha$ ,15 $\alpha$ -metilene-1,3,5(10),8-tetraen-3-il-sulfamato  
23) 2-Etoxi-17 $\beta$ -hidroxi-14 $\alpha$ ,15 $\alpha$ -metilene-1,3,5(10),8-tetraen-3-il-*N*-acetil-sulfamato  
55 24) 2-Etoxi-17 $\alpha$ -hidroxi-14 $\alpha$ ,15 $\alpha$ -metilene-1,3,5(10),8-tetraen-3-il-*N*-acetil-sulfamato  
25) 2-(2',2',2'-Trifluoretoksi)-17 $\beta$ -hidroxiestra-1,3,5(10)-trien-3-il-sulfamato  
60 26) 2-(2',2',2'-Trifluoretoksi)-17 $\alpha$ -hidroxiestra-1,3,5(10)-trien-3-il-sulfamato  
27) 2-(2',2',2'-Trifluoretoksi)-17 $\beta$ -hidroxiestra-1,3,5(10)-trien-3-il-*N*-acetil-sulfamato  
28) 2-(2',2',2'-Trifluoretoksi)-17 $\alpha$ -hidroxiestra-1,3,5(10)-trien-3-il-*N*-acetil-sulfamato  
65 29) 2-(2',2',2'-Trifluoretoksi)-17 $\beta$ -hidroxi-14 $\alpha$ ,15 $\alpha$ -metilene-1,3,5(10)-trien-3-il-sulfamato  
30) 2-(2',2',2'-Trifluoretoksi)-17 $\alpha$ -hidroxi-14 $\alpha$ ,15 $\alpha$ -metilene-1,3,5(10)-trien-3-il-sulfamato

## ES 2 294 159 T3

31) 2-(2',2',2'-Trifluoretoxi)-17 $\beta$ -hidroxi-14 $\alpha$ ,15 $\alpha$ -metilene-1,3,5(10),8-tetraen-3-il-sulfamato

32) 2-(2',2',2'-Trifluoretoxi)-17 $\alpha$ -hidroxi-14 $\alpha$ ,15 $\alpha$ -metilene-1,3,5(10),8-tetraen-3-il-sulfamato

5 33) 2-(2',2',2'-Trifluoretoxi)-17 $\beta$ -hidroxi-14 $\alpha$ ,15 $\alpha$ -metilene-1,3,5(10)-trien-3-il-*N*-acetil-sulfamato

34) 2-(2',2',2'-Trifluoretoxi)-17 $\alpha$ -hidroxi-14 $\alpha$ ,15 $\alpha$ -metilene-1,3,5(10)-trien-3-il-*N*-acetil-sulfamato

10 35) 2-(2',2',2'-Trifluoretoxi)-17 $\beta$ -hidroxi-14 $\alpha$ ,15 $\alpha$ -metilene-1,3,5(10),8-tetraen-3-il-*N*-acetil-sulfamato

36) 2-(2',2',2'-Trifluoretoxi)-17 $\alpha$ -hidroxi-14 $\alpha$ ,15 $\alpha$ -metilene-1,3,5(10),8-tetraen-3-il-*N*-acetil-sulfamato.

15 11. Composiciones farmacéuticas que contienen por lo menos un compuesto según la reivindicación 10, junto con sustancias auxiliares y/o excipientes farmacéuticamente aceptables.

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65