

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 857 196**

51 Int. Cl.:

C07D 409/12 (2006.01)

A61K 31/4535 (2006.01)

A61P 9/00 (2006.01)

A61P 25/00 (2006.01)

A61P 29/00 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **24.10.2013** **E 17158707 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **02.12.2020** **EP 3192795**

54 Título: **Composiciones y métodos para tratar trastornos médicos relacionados con estrógenos**

30 Prioridad:

24.10.2012 US 201261718035 P

05.04.2013 US 201361809101 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

28.09.2021

73 Titular/es:

**THE BOARD OF TRUSTEES OF THE UNIVERSITY
OF ILLIONIS (25.0%)**

**352 Henry Administration Building, 506 South
Wright Street**

Urbana, IL 61801, US;

THATCHER, GREGORY, R. (25.0%);

SIKLOS, MARTON (25.0%) y

XIONG, RUI (25.0%)

72 Inventor/es:

THATCHER, GREGORY, R.;

SIKLOS, MARTON y

XIONG, RUI

74 Agente/Representante:

LINAGE GONZÁLEZ, Rafael

ES 2 857 196 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

Composiciones y métodos para tratar trastornos médicos relacionados con estrógenos

5 **Campo técnico**

La presente invención se refiere a compuestos y a composiciones para su uso en el tratamiento y la identificación de trastornos médicos relacionados con estrógenos tales como cáncer, inflamación, osteoporosis, atrofia vaginal, enfermedades del sistema nervioso central y enfermedades del sistema cardiovascular.

10

Antecedentes

Además de las funciones del desarrollo, se ha descubierto que los estrógenos reducen la incidencia de cardiopatía coronaria (1), mantienen la densidad mineral ósea (2) y, en el SNC, fomentan la supervivencia neuronal (3, 4) y la neurogénesis del hipocampo (5-7). Estudios mediante técnicas de neuroimagen revelan que la terapia con estrógenos mejora el torrente sanguíneo del cerebro y el rendimiento de las tareas de memoria dependientes del hipocampo en seres humanos (8, 9). Otros estudios observacionales han descubierto que el estrógeno ayuda a aliviar el deterioro cognitivo relacionado con la edad al conservar la función ejecutiva en el lóbulo frontal (10).

15

20

25

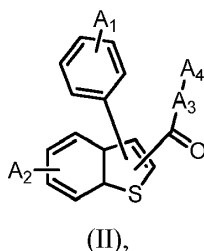
30

35

El raloxifeno (EVISTA) es un modulador selectivo de los receptores de estrógenos (SERM) de segunda generación usado clínicamente para el tratamiento de osteoporosis en mujeres posmenopáusicas, que actúa como antiestrógeno en la mama y el endometrio (17-21). Sin embargo, el raloxifeno aumenta el riesgo de tromboembolia de por vida (23). Se ha descubierto que el raloxifeno potencia los niveles de NO vasodilatador a través de la acción sobre la óxido nítrico sintasa endotelial (eNOS) (24-26) y el aumento de acontecimientos tromboembólicos se ha atribuido a la actividad eNOS disminuida en mujeres posmenopáusicas (27). El NO inhibe la formación de trombos a través de la inhibición del reclutamiento, la adhesión y la agregación de plaquetas (28). El SERM de la siguiente generación, arzoxifeno (41, 42), un profármaco de desmetilarzoxifeno (DMA), se diseñó para mejorar el perfil farmacocinético (PK) en relación con el raloxifeno, del que difiere sólo en un átomo (43, 44). Las reacciones de 17β -estradiol (E_2), raloxifeno y un isómero con NO, peroxinitrito y especies reactivas del nitrógeno/oxígeno (RNOS) generadas a partir de sistemas de NO_2 -/ H_2O_2 se han examinado por Toader *et al.*, 2003 (101). Notificaron que el peroxinitrito de la inyección en bolo o la liberación lenta a partir de mayores concentraciones de 3-morfolinosidnonimina (SIN-1) reaccionó con los benzotiofenos y E_2 para dar una nitración del anillo aromático, mientras que el peroxinitrito, producido a partir de la lenta descomposición de menores concentraciones de SIN-1, era relativamente no reactivo hacia E_2 y dio lugar a productos de oxidación y nitrosación con raloxifeno y su isómero. Los productos de oxidación y nitrosación formados se caracterizaron como un dímero y un derivado de quinona oxima (101).

Sumario

40 En un aspecto, se da a conocer un compuesto de fórmula (II),

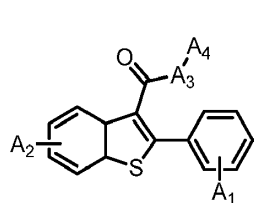


(II),

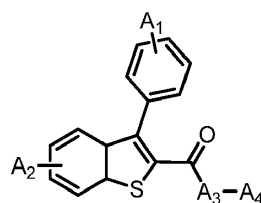
45 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. A₁ se selecciona del grupo que consiste en halógeno, trifluorometilo y -OR₁. A₂ se selecciona del grupo que consiste en halógeno, trifluorometilo y -OR₂. A₃ se selecciona del grupo que consiste en alquilo, arilo, cicloalquilo, cicloalquilalquilo, heterociclo y heteroarilo. A₄ se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, halógeno, alquilo, ciano, trifluorometilo, aril-heteroarilo, en el que el arilo está sustituido o no sustituido (por ejemplo, 1-(4-fluorofenil)-1H-1,2,3-triazolilo), y -OR₃. R₁ se selecciona del grupo que consiste en -SO₃R^{X1}, -PO₃R^{Y1}R^{Z1} y -C(=O)R^a. R₂ y R₃ se seleccionan cada uno independientemente del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo, -SO₃R^{X1}, -PO₃R^{Y1}R^{Z1} y -C(=O)R^a. R^{X1}, R^{Y1} y R^{Z1}, en cada aparición, se seleccionan independientemente del grupo que consiste en hidrógeno y un catión farmacéuticamente aceptable. R^a es alquilo o -OH.

50

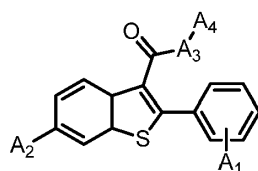
55 A modo de ilustración únicamente, el compuesto de fórmula (II) puede comprender un compuesto de fórmula (II-i), un compuesto de fórmula (II-ii), un compuesto de fórmula (II-iii), un compuesto de fórmula (II-iv), un compuesto de fórmula (II-v) o un compuesto de fórmula (II-vi)



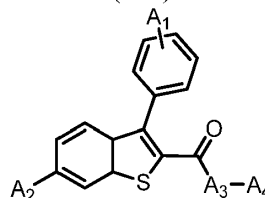
(II-i)



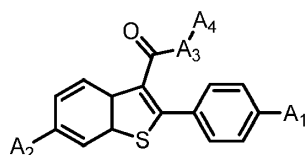
(II-ii)



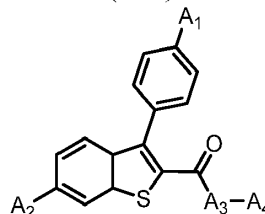
(II-iii)



(II-iv)



(II-v)



(II-vi)

5 o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos. A₁ se selecciona del grupo que consiste en halógeno, trifluorometilo y -OR₁. A₂ se selecciona del grupo que consiste en halógeno, trifluorometilo y -OR₂. A₃ se selecciona del grupo que consiste en alquilo, arilo, cicloalquilo, cicloalquilalquilo, heterociclo y heteroarilo. A₄ se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, halógeno, alquilo, ciano, trifluorometilo, aril-heteroarilo, en el que el arilo está sustituido o no sustituido (por ejemplo, 1-(4-fluorofenil)-1H-1,2,3-triazolilo), y -OR₃. R₁ se selecciona del grupo que
10 consiste en -SO₃R^{x1}, -PO₃R^{y1}R^{z1} y -C(=O)R^a, R₂ y R₃ se seleccionan cada uno independientemente del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo, -SO₃k^{x1}, -PO₃R^{y1}R^{z1} y -C(=O)R^a. R^{x1}, R^{y1} y R^{z1}, en cada aparición, se seleccionan independientemente del grupo que consiste en hidrógeno y un catión farmacéuticamente aceptable. R^a es alquilo o -OH.

15 El compuesto de fórmula (II) puede seleccionarse del grupo que consiste en:

(2-(4-fluorofenil)-6-hidroxibenzo[b]tiofen-3-il)(4-(trifluorometil)fenil)metanona;

(3-(4-fluorofenil)-6-hidroxibenzo[b]tiofen-2-il)(4-(trifluorometil)fenil)metanona;

20

ciclopropil(2-(4-fluorofenil)-6-hidroxibenzo[b]tiofen-3-il)metanona;

ciclopropil(3-(4-fluorofenil)-6-hidroxibenzo[b]tiofen-2-il)metanona;

25 (2-(4-fluorofenil)-6-hidroxibenzo[b]tiofen-3-il)(piridin-4-il)metanona;

(3-(4-fluorofenil)-6-hidroxibenzo[b]tiofen-2-il)(piridin-4-il)metanona;

1-(2-(4-fluorofenil)-6-hidroxibenzo[b]tiofen-3-il)-2-metilpropan-1-ona;

30

1-(3-(4-fluorofenil)-6-hidroxibenzo[b]tiofen-2-il)-2-metilpropan-1-ona;

(4-etinilfenil)(2-(4-fluorofenil)-6-hidroxibenzo[b]tiofen-3-il)metanona;

35 (4-etinilfenil)(3-(4-fluorofenil)-6-hidroxibenzo[b]tiofen-2-il)metanona;

(2-(4-fluorofenil)-6-hidroxibenzo[b]tiofen-3-il)(p-tolil)metanona;

(3-(4-fluorofenil)-6-hidroxibenzo[b]tiofen-2-il)(p-tolil)metanona;

40

(4-(1-(4-fluorofenil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)fenil)(2-(4-fluorofenil)-6-hidroxibenzo[b]tiofen-3-il)metanona;

(4-(1-(4-fluorofenil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)fenil)(3-(4-fluorofenil)-6-hidroxibenzo[b]tiofen-2-il)metanona;

(3r,5r,7r)-adamantan-1-il(2-(4-fluorofenil)-6-hidroxibenzo[b]tiofen-3-il)metanona; y

(3r,5r,7r)-adamantan-1-il(3-(4-fluorofenil)-6-hidroxibenzo[b]tiofen-2-il)metanona;

o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

En otro aspecto, se da a conocer una composición para su uso en el tratamiento de un trastorno médico relacionado con estrógenos en un sujeto que necesita tal tratamiento, en la que el trastorno se selecciona del grupo que consiste en: cáncer, inflamación, osteoporosis, atrofia vaginal, enfermedades del sistema nervioso central y enfermedades del sistema cardiovascular, en la que la composición comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de al menos uno de dicho compuesto de fórmula (II) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

El trastorno médico relacionado con estrógenos puede ser una enfermedad del sistema nervioso central seleccionada del grupo que consiste en enfermedad de Alzheimer y deterioro cognitivo leve. El trastorno médico relacionado con estrógenos puede ser un enfermedad cardiovascular tal como trombosis. El trastorno médico relacionado con estrógenos puede ser un cáncer seleccionado del grupo que consiste en cáncer de mama, cáncer de ovario, cáncer de próstata y cáncer de pulmón. El cáncer de mama puede ser un cáncer de mama resistente al tamoxifeno o un cáncer de mama triple negativo.

El al menos un compuesto de fórmula (II) puede seleccionarse del grupo que consiste en: (2-(4-fluorofenil)-6-hidroxibenzo[b]tiofen-3-il)(4-(trifluorometil)fenil)metanona; (3-(4-fluorofenil)-6-hidroxibenzo[b]tiofen-2-il)(4-(trifluorometil)fenil)metanona; ciclopropil(2-(4-fluorofenil)-6-hidroxibenzo[b]tiofen-3-il)metanona; ciclopropil(3-(4-fluorofenil)-6-hidroxibenzo[b]tiofen-2-il)metanona; (2-(4-fluorofenil)-6-hidroxibenzo[b]tiofen-3-il)(piridin-4-il)metanona; (3-(4-fluorofenil)-6-hidroxibenzo[b]tiofen-2-il)(piridin-4-il)metanona; 1-(2-(4-fluorofenil)-6-hidroxibenzo[b]tiofen-3-il)-2-metilpropan-1-ona; 1-(3-(4-fluorofenil)-6-hidroxibenzo[b]tiofen-2-il)-2-metilpropan-1-ona; (4-etinilfenil)(2-(4-fluorofenil)-6-hidroxibenzo[b]tiofen-3-il)metanona; (4-etinilfenil)(3-(4-fluorofenil)-6-hidroxibenzo[b]tiofen-2-il)metanona; (2-(4-fluorofenil)-6-hidroxibenzo[b]tiofen-3-il)(p-tolil)metanona; (3-(4-fluorofenil)-6-hidroxibenzo[b]tiofen-2-il)(p-tolil)metanona; (4-(1-(4-fluorofenil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)fenil)(2-(4-fluorofenil)-6-hidroxibenzo[b]tiofen-3-il)metanona; (4-(1-(4-fluorofenil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)fenil)(3-(4-fluorofenil)-6-hidroxibenzo[b]tiofen-2-il)metanona; (3r,5r,7r)-adamantan-1-il(2-(4-fluorofenil)-6-hidroxibenzo[b]tiofen-3-il)metanona; (3r,5r,7r)-adamantan-1-il(3-(4-fluorofenil)-6-hidroxibenzo[b]tiofen-2-il)metanona; y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

A modo de ilustración únicamente, en el presente documento se da a conocer un método para identificar un cáncer en un sujeto. El método puede comprender obtener una muestra de prueba del sujeto que tiene cáncer y determinar una cantidad de proteína cinasa C alfa (PKC α) en la muestra de prueba. Si la cantidad de PKC α en la muestra de prueba es mayor que la cantidad de PKC α en una muestra de prueba de un sujeto que no tiene cáncer, entonces el cáncer puede ser sensible a al menos un compuesto de fórmula (II) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

El al menos un compuesto de fórmula (II) puede seleccionarse del grupo que consiste en: (2-(4-fluorofenil)-6-hidroxibenzo[b]tiofen-3-il)(4-(trifluorometil)fenil)metanona; (3-(4-fluorofenil)-6-hidroxibenzo[b]tiofen-2-il)(4-(trifluorometil)fenil)metanona; ciclopropil(2-(4-fluorofenil)-6-hidroxibenzo[b]tiofen-3-il)metanona; ciclopropil(3-(4-fluorofenil)-6-hidroxibenzo[b]tiofen-2-il)metanona; (2-(4-fluorofenil)-6-hidroxibenzo[b]tiofen-3-il)(piridin-4-il)metanona; (3-(4-fluorofenil)-6-hidroxibenzo[b]tiofen-2-il)(piridin-4-il)metanona; 1-(2-(4-fluorofenil)-6-hidroxibenzo[b]tiofen-3-il)-2-metilpropan-1-ona; 1-(3-(4-fluorofenil)-6-hidroxibenzo[b]tiofen-2-il)-2-metilpropan-1-ona; (4-etinilfenil)(2-(4-fluorofenil)-6-hidroxibenzo[b]tiofen-3-il)metanona; (4-etinilfenil)(3-(4-fluorofenil)-6-hidroxibenzo[b]tiofen-2-il)metanona; (2-(4-fluorofenil)-6-hidroxibenzo[b]tiofen-3-il)(p-tolil)metanona; (3-(4-fluorofenil)-6-hidroxibenzo[b]tiofen-2-il)(p-tolil)metanona; (4-(1-(4-fluorofenil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)fenil)(2-(4-fluorofenil)-6-hidroxibenzo[b]tiofen-3-il)metanona; (4-(1-(4-fluorofenil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)fenil)(3-(4-fluorofenil)-6-hidroxibenzo[b]tiofen-2-il)metanona; (3r,5r,7r)-adamantan-1-il(2-(4-fluorofenil)-6-hidroxibenzo[b]tiofen-3-il)metanona; (3r,5r,7r)-adamantan-1-il(3-(4-fluorofenil)-6-hidroxibenzo[b]tiofen-2-il)metanona; y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

Breve descripción de los dibujos

La figura 1 muestra que la neuroprotección provocada por SERM en neuronas corticales primarias expuestas a OGD es dependiente de GPR30. Se sometieron los cultivos neuronales primarios a OGD durante 2 h con los compuestos añadidos al inicio de la OGD y se añadieron inhibidores 45 min antes de OGD. Se midió la supervivencia celular a las 24 h. El uso de inhibidores selectivos de la ruta indica que la neuroprotección de DMA y NO-DMA está mediada a través de la señalización de GPR30 dependiente de PI3K de una manera independiente de ER y NOS. Los datos muestran la media y el E.E.M. normalizados con respecto al control de veh. y E2 (n=6); **=p<0,01, ***=p<0,001 en comparación con el control de veh. usando ANOVA unilateral con la prueba de Dunnett *a posteriori*.

La figura 2 muestra que la reversión de la deficiencia en la LTP en ratones 3xTg de edad avanzada por SERM es

dependiente de GPR30. Se midió la LTP después de la TBS en la región CA1 de secciones del hipocampo de ratones macho 3xTg de 16 meses o controles WT. Se añadieron los compuestos de prueba (SERM 100 nM; G15 100 nM) 30 min antes de la TBS. (A, B) DMA y NO-DMA restablecieron las deficiencias en la LTP con respecto a los niveles WT y G15 bloqueó las acciones de DMA. (C) El análisis secundario de ráfagas theta indica acción durante tanto la inducción como la estabilización de LTP, a través de un mecanismo dependiente de GPR30. Los datos muestran la media y el E.E.M. normalizados con respecto al nivel inicial (n=4-9); * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ en comparación con el control de veh. transgénico usando ANOVA unilateral con la prueba de Dunnett *a posteriori*.

La figura 3 muestra la relajación de anillos aórticos aislados inducida por SERM y NO-SERM. (A) Los valores de CE_{50} para la relajación no fueron significativamente diferentes ($p > 0,05$, ANOVA unilateral y prueba de Newman-Keuls *a posteriori*). Las respuestas máximas de relajación para arroxifeno y FDMA fueron significativamente menores que aquellas para DMA y raloxifeno ($p < 0,05$, ANOVA unilateral y prueba de Newman-Keuls *a posteriori*). Cada valor representa la media $\pm$ E.E.M. (n=7-13). (B) La retirada del endotelio o la inhibición de NOS con L-NAME redujo la respuesta máxima de relajación a DMA ($p < 0,01$, ANOVA unilateral y prueba de Newman-Keuls *a posteriori*). Cada valor representa la media $\pm$ E.E.M. (n=7). (C) Los valores de CE_{50} para la relajación aumentaron significativamente en presencia de L-NAME o después de la retirada del endotelio ($p < 0,05$, ANOVA unilateral y prueba de Newman-Keuls *a posteriori*). Cada valor representa la media $\pm$ E.E.M. (n=7).

La figura 4 muestra los efectos de SERM y NO-SERM sobre los niveles de NO en plasma y en el SNC de ratones WT y eNOS (-/-). Se evaluaron los niveles de NO midiendo los productos de descomposición 1 h después de la inyección i.p. de SERM (2 mg/kg) usando detección por quimioluminiscencia. Tanto DMA como NO-DMA aumentaron los niveles de NO en ratones WT. La respuesta disminuida en eNOS (-/-) se atenuó significativamente en animales tratados con DMA en relación con NO-DMA. Los datos muestran la media y el E.E.M. (n=4-12); * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ usando ANOVA unilateral con la prueba de Bonferroni *a posteriori*.

La figura 5 muestra la reversión de la deficiencia de memoria en STPA en ratones WT y eNOS (-/-). Se indujo deficiencia de memoria amnésico mediante inyección i.p. de o bien escopolamina (1 mg/kg) o bien L-NAME (50 mg/kg) 30 min antes del adiestramiento en ratones macho C57Bl/6. Se administraron SERM (2 mg/kg) 20 min antes del adiestramiento y se evaluó la latencia 24 h después del adiestramiento, retirándose los animales de la tarea si la latencia > 300 s. Todos los SERM, excepto F-DMA, restablecieron las deficiencias inducidas por escopolamina en la STPA en animales WT. Contra la deficiencia inducida por L-NAME, sólo NO-DMA mostró eficacia en la reversión de las deficiencias de memoria. En animales eNOS (-/-) sujetos a amnesia inducida por escopolamina, sólo NO-DMA mostró eficacia. Los datos muestran la media y el E.E.M. (n=4-10); ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ en comparación con control de veh. usando ANOVA unilateral con la prueba de Dunnett *a posteriori*.

La figura 6 muestra el efecto de SERM y NO-SERM sobre las cascadas de coagulación intrínseca (PTT) y extrínseca (aPTT). Se extrajo sangre mediante punción cardiaca y se determinaron PTT y aPTT 1 ó 3 h después de la administración i.p. del fármaco (2 mg/kg). La actividad anticoagulante de DMA fue más corta que la de NO-DMA y no persistió en presencia del bloqueo de NOS. Los datos muestran la media y el E.E.M. (n=2-8); * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ usando ANOVA unilateral con la prueba de Bonferroni *a posteriori*.

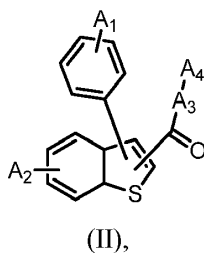
La figura 7 muestra que G15 no tiene ningún efecto sobre la LTP en ratones C57Bl/6. Se midió la LTP después de la TBS en la región CA1 de secciones del hipocampo de ratones macho C57Bl/6 de 8 meses. Se añadió G15 (100 nM) 30 min antes de la TBS y se continuó hasta el final. G15 no tuvo ningún efecto sobre la LTP, que alcanzó niveles iguales al fondo WT en la figura 2 tanto para los controles como para G15. Los datos muestran la media y el E.E.M. normalizados con respecto al nivel inicial (n=5-6).

La figura 8 muestra la biodisponibilidad de SERM en plasma y en el SNC de ratones WT y eNOS (-/-). Se evaluó la biodisponibilidad usando CL/EM-EM después de la extracción de líquido con patrón interno después de la inyección i.p. de DMA 5 mg/kg. DMA muestra una biodisponibilidad sustancial, con una retención preferencial en el hipocampo de hasta 2 h después de la administración. Los datos muestran la media y el E.E.M. (n=4).

La figura 9 muestra que ODQ bloquea el efecto de DMA sobre la LTP en ratones 3xTg. Se midió la LTP en la región CA1 de secciones del hipocampo de ratones macho 3xTg de 16 meses usando el método detallado en el presente documento, con la excepción de un intervalo entre ráfagas variable durante la TBS. Se añadió ODQ (10 nM) 30 min antes de la TBS y se continuó hasta el final. Los datos muestran la media y el E.E.M. normalizados con respecto al nivel inicial (n=9-10).

Descripción detallada

En un aspecto, la presente invención se refiere a un compuesto de fórmula (II),



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que A₁ se selecciona del grupo que consiste en halógeno, trifluorometilo y -OR₁; A₂ se selecciona del grupo que consiste en halógeno, trifluorometilo y -OR₂; A₃ se selecciona del grupo que consiste en alquilo, arilo, cicloalquilo, cicloalquilalquilo, heterociclo y heteroarilo; A₄ se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, halógeno, alquilo, ciano, trifluorometilo, aril-heteroarilo, en el que el arilo está sustituido o no sustituido (por ejemplo, 1-(4-fluorofenil)-1H-1,2,3-triazolilo), y -OR₃; R₁ se selecciona del grupo que consiste en -SO₃R^{x1}, -PO₃R^{y1}R^{z1} y -C(=O)R^a; R₂ y R₃ se seleccionan cada uno independientemente del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo, -SO₃k^{x1}, -PO₃R^{y1}R^{z1} y -C(=O)R^a. R^{x1}, R^{y1} y R^{z1}, en cada aparición, se seleccionan independientemente del grupo que consiste en hidrógeno y un catión farmacéuticamente aceptable. R^a es alquilo o -OH.

Los ejemplos representativos de compuestos de fórmula (II) son:

- (2-(4-fluorofenil)-6-hidroxibenzo[b]tiofen-3-il)(4-(trifluorometil)fenil)metanona;
- (3-(4-fluorofenil)-6-hidroxibenzo[b]tiofen-2-il)(4-(trifluorometil)fenil)metanona;
- ciclopropil(2-(4-fluorofenil)-6-hidroxibenzo[b]tiofen-3-il)metanona;
- ciclopropil(3-(4-fluorofenil)-6-hidroxibenzo[b]tiofen-2-il)metanona;
- (2-(4-fluorofenil)-6-hidroxibenzo[b]tiofen-3-il)(piridin-4-il)metanona;
- (3-(4-fluorofenil)-6-hidroxibenzo[b]tiofen-2-il)(piridin-4-il)metanona;
- 1-(2-(4-fluorofenil)-6-hidroxibenzo[b]tiofen-3-il)-2-metilpropan-1-ona;
- 1-(3-(4-fluorofenil)-6-hidroxibenzo[b]tiofen-2-il)-2-metilpropan-1-ona;
- (4-etinilfenil)(2-(4-fluorofenil)-6-hidroxibenzo[b]tiofen-3-il)metanona;
- (4-etinilfenil)(3-(4-fluorofenil)-6-hidroxibenzo[b]tiofen-2-il)metanona;
- (2-(4-fluorofenil)-6-hidroxibenzo[b]tiofen-3-il)(p-tolil)metanona;
- (3-(4-fluorofenil)-6-hidroxibenzo[b]tiofen-2-il)(p-tolil)metanona;
- (4-(1-(4-fluorofenil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)fenil)(2-(4-fluorofenil)-6-hidroxibenzo[b]tiofen-3-il)metanona;
- (4-(1-(4-fluorofenil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)fenil)(3-(4-fluorofenil)-6-hidroxibenzo[b]tiofen-2-il)metanona;
- (3r,5r,7r)-adamantan-1-il(2-(4-fluorofenil)-6-hidroxibenzo[b]tiofen-3-il)metanona;
- (3r,5r,7r)-adamantan-1-il(3-(4-fluorofenil)-6-hidroxibenzo[b]tiofen-2-il)metanona;

o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

El compuesto de fórmula (II) puede ser un modulador selectivo de los receptores de estrógenos (SERM). Los compuestos de fórmula (II) pueden prevenir o reducir el riesgo de trombosis a través de las rutas intrínseca y/o extrínseca de los anticoagulantes. Los compuestos de fórmula pueden prevenir o reducir el riesgo de trombosis incluso cuando eNOS se inhibe o inactiva. Los compuestos de fórmula (II) pueden ser procognitivos y neuroprotectores incluso en presencia de disfunción de la NOS.

La presente invención también se refiere a una composición para su uso en el tratamiento de trastornos médicos relacionados con estrógenos seleccionados del grupo que consiste en cáncer, inflamación, osteoporosis, atrofia vaginal, enfermedades del sistema nervioso central (por ejemplo, enfermedad de Alzheimer y deterioro cognitivo leve) y enfermedades del sistema cardiovascular (por ejemplo, trombosis), en la que la composición comprende una

cantidad terapéuticamente eficaz de al menos uno de dicho compuesto de fórmula (II) y/o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos. El cáncer puede seleccionarse del grupo que consiste en cáncer de mama, cáncer de ovario, cáncer de próstata y cáncer de pulmón. El cáncer de mama puede ser un cáncer de mama resistente al tamoxifeno o un cáncer de mama triple negativo.

A modo de ilustración únicamente, en el presente documento se dan a conocer métodos para identificar un cáncer en un sujeto. Los métodos pueden incluir obtener una muestra de prueba del sujeto que tiene cáncer y determinar una cantidad de PKC α en la muestra de prueba. Si la cantidad de PKC α en la muestra de prueba es mayor que la cantidad de PKC α en una muestra de prueba de un sujeto que no tiene cáncer, entonces el cáncer puede ser sensible a al menos un compuesto de fórmula (II) y/o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

1. Definiciones

Los términos “comprende(n)”, “incluye(n)”, “que tiene”, “tiene”, “puede”, “contiene(n)” y variantes de los mismos, tal como se usan en el presente documento, pretenden ser expresiones, términos o palabras de transición abiertos que no excluyen la posibilidad de actos o estructuras adicionales. Las formas en singular “un”, “uno(a)” y “el/la” incluyen las referencias en plural, a menos que el contexto dicte claramente lo contrario. La presente divulgación también contempla otras realizaciones “que comprenden”, “que consisten en” y “que consisten esencialmente en” las realizaciones o los elementos presentados en el presente documento, ya se expongan explícitamente o no.

El término “alcoxilo”, tal como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo alquilo, tal como se define en el presente documento, unido al resto molecular original a través de un átomo de oxígeno. Los ejemplos representativos de alcoxilo incluyen, pero no se limitan a, metoxilo, etoxilo, propoxilo, 2-propoxilo, butoxilo y terc-butoxilo.

El término “alcoxicarbonilo”, tal como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo alcoxilo, tal como se define en el presente documento, unido al resto molecular original a través de un carbonilo grupo, tal como se define en el presente documento. Los ejemplos representativos de alcoxicarbonilo incluyen, pero no se limitan a, metoxicarbonilo, etoxicarbonilo y terc-butoxicarbonilo.

El término “alquilo”, tal como se usa en el presente documento, se refiere a un hidrocarburo de cadena lineal o ramificada que contiene desde 1 hasta 10 átomos de carbono. Los ejemplos representativos de alquilo incluyen, pero no se limitan a, metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, n-butilo, sec-butilo, iso-butilo, terc-butilo, pentilo, hexilo, heptilo, octilo, nonilo y decilo. Los grupos alquilo de esta invención pueden no estar sustituidos o pueden estar sustituidos con 1, 2 ó 3 sustituyentes oxo.

El término “alquileo”, tal como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo divalente derivado de un hidrocarburo de cadena lineal o ramificada de 1 a 10 átomos de carbono, por ejemplo, de 2 a 5 átomos de carbono. Los ejemplos representativos de alquileo incluyen, pero no se limitan a, -CH₂CH₂-, -CH₂CH₂CH₂-, -CH₂CH₂CH₂CH₂- y -CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂-.

El término “alquilheterocicloalquilo”, tal como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo alquilo, tal como se define en el presente documento, unido a un grupo heterociclo, tal como se define en el presente documento, en el que el grupo heterociclo está unido al resto molecular original a través de otro grupo alquilo, tal como se define en el presente documento. Los ejemplos representativos de alquilheteroalquilo incluyen, pero no se limitan a, etilpiperidinilpropilo.

El término “arilo”, tal como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo fenilo o un sistema de anillo condensado bicíclico. Los sistemas de anillo condensado bicíclicos se ejemplifican por un grupo fenilo unido al resto molecular original y condensado a un grupo cicloalquilo, tal como se define en el presente documento, un grupo fenilo, un grupo heteroarilo, tal como se define en el presente documento, o un heterociclo, tal como se define en el presente documento. Los ejemplos representativos de arilo incluyen, pero no se limitan a, indolilo, naftilo, fenilo, quinolinilo y tetrahidroquinolinilo.

El término “carbonilo”, tal como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo -C(=O)-.

El término “cicloalquilo”, tal como se usa en el presente documento, se refiere a un sistema de anillo carbocíclico que contiene de tres a diez átomos de carbono, ningún heteroátomo y ningún doble enlace. Los ejemplos representativos de cicloalquilo incluyen, pero no se limitan a, ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, cicloheptilo, ciclooctilo, ciclonoilo y ciclodécilo. Los grupos cicloalquilo de esta invención pueden estar opcionalmente sustituidos con 1, 2 ó 3 sustituyentes alquilo.

El término “cicloalquilalquilo”, tal como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo cicloalquilo, tal como se define en el presente documento, unido al resto molecular original a través de un grupo alquilo, tal como se define en el presente documento. Los ejemplos representativos de cicloalquilalquilo incluyen, pero no se limitan a, ciclopropilmetilo, 1-metilciclopropilmetilo, ciclohexilmetilo y 3,5-dimetilciclohexilmetilo.

El término “halógeno”, tal como se usa en el presente documento, significa Cl, Br, I o F.

El término “heteroarilo”, tal como se usa en el presente documento, se refiere a un anillo monocíclico aromático o un sistema de anillo bicíclico aromático. Los anillos monocíclicos aromáticos son anillos de cinco o seis miembros que contienen al menos un heteroátomo seleccionado independientemente del grupo que consiste en N, O y S. Los anillos monocíclicos aromáticos de cinco miembros tienen dos dobles enlaces y los anillos monocíclicos aromáticos de seis miembros tienen tres dobles enlaces. Los grupos heteroarilo bicíclicos se ejemplifican por un anillo de heteroarilo monocíclico unido al resto molecular original y condensado a un grupo cicloalquilo monocíclico, tal como se define en el presente documento, un grupo arilo monocíclico, tal como se define en el presente documento, un grupo heteroarilo monocíclico, tal como se define en el presente documento, o un heterociclo monocíclico, tal como se define en el presente documento. Los ejemplos representativos de heteroarilo incluyen, pero no se limitan a, indolilo, piridinilo (incluyendo piridin-2-ilo, piridin-3-ilo, piridin-4-ilo), pirimidinilo y quinolinilo.

El término “heterociclo”, tal como se usa en el presente documento, se refiere a un anillo monocíclico no aromático o un anillo bicíclico no aromático. El anillo monocíclico no aromático es un anillo de tres, cuatro, cinco, seis, siete u ocho miembros que contiene al menos un heteroátomo, seleccionado independientemente del grupo que consiste en N, O y S. Los ejemplos representativos de sistemas de anillo monocíclicos incluyen, pero no se limitan a, azetidinilo (incluyendo azetidin-2-ilo, azetidin-3-ilo), piperidinilo (incluyendo piperidin-2-ilo, piperidin-3-ilo, piperidin-4-ilo), tetrahidrofuranilo (incluyendo tetrahidrofuran-2-ilo, tetrahidrofuran-3-ilo) y tetrahidropiranilo (incluyendo tetrahidro-2H-piran-2-ilo, tetrahidro-2H-piran-3-ilo, tetrahidro-2H-piran-4-ilo). Los heterociclos bicíclicos se ejemplifican por un heterociclo monocíclico unido al resto molecular original y condensado a un cicloalquilheterociclo monocíclico, tal como se define en el presente documento. Los sistemas de anillos bicíclicos también se ejemplifican por un sistema de anillo monocíclico en puente en el que dos átomos no adyacentes del anillo monocíclico están unidos por un puente de entre uno y tres átomos adicionales seleccionados del grupo que consiste en carbono, nitrógeno y oxígeno.

Los heterociclos de esta invención pueden estar opcionalmente sustituidos con 1, 2 ó 3 sustituyentes seleccionados independientemente de alquilo, alcocarbonilo y oxo.

El término “heterocicloalquilo”, tal como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo heterociclo, tal como se define en el presente documento, unido al resto molecular original a través de un grupo alquilo, tal como se define en el presente documento. Los ejemplos representativos de heterocicloalquilo incluyen, pero no se limitan a, etilpiperidinilo y 1-etilpiperidinilo.

El término “oxo”, tal como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo =O.

El término “catión farmacéuticamente aceptable” se refiere a una molécula o un átomo cargado positivamente que está equilibrado por una molécula o un átomo cargado negativamente. Los cationes farmacéuticamente aceptables representativos incluyen sales de metales tales como, por ejemplo, aluminio, calcio, cobre, férrica, ferrosa, litio, magnesio, sales mangánicas, manganosas, potasio, sodio, zinc y similares, así como cationes no tóxicos de amonio, amonio cuaternario y amina, que incluye, pero no se limitan a, amonio, tetrametilamonio, tetraetilamonio, metilamina, dimetilamina, trimetilamina, trietilamina, etilamina, amina sustituida de forma natural, aminas cíclicas, arginina, betaína, cafeína, colina, N,N'-dibenciletilendiamina, dietilamina, 2-dietilaminoetanol, 2-dimetilaminoetanol, etanolamina, etilendiamina, N-etilmorfolina, N-etilpiperidina, glucamina, glucosamina, histidina, hidrabamina, isopropilamina, lisina, metilglucamina, morfolina, piperazina, piperidina, procaína, purinas, teobromina, tripropilamina, trometamina, trietanolamina y similares.

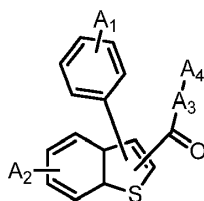
El término “trifluorometilo”, tal como se usa en el presente documento, significa un grupo -CF₃.

En algunos casos, el número de átomos de carbono en un sustituyente hidrocarbilo (por ejemplo, alquilo o cicloalquilo) se indica por el prefijo “C_x-C_y”, en el que x es el mínimo e y es el máximo número de átomos de carbono en el sustituyente. Por tanto, por ejemplo, “alquilo C₁-C₃” se refiere a un sustituyente alquilo que contiene desde 1 hasta 3 átomos de carbono.

Para la enumeración de intervalos numéricos en el presente documento, se contempla explícitamente cada número intermedio entre los mismos con el mismo grado de precisión. Por ejemplo, para el intervalo de 6-9, se contemplan los números 7 y 8, además de 6 y 9, y para el intervalo de 6,0-7,0, se contemplan explícitamente los números 6,0, 6,1, 6,2, 6,3, 6,4, 6,5, 6,6, 6,7, 6,8, 6,9 y 7,0.

2. Compuestos de la invención

Los compuestos de la invención (también denominados en el presente documento “agentes”) son compuestos de fórmula (II)



(II),

o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos; en los que A₁ se selecciona del grupo que consiste en halógeno, trifluorometilo y -OR₁; A₂ se selecciona del grupo que consiste en halógeno, trifluorometilo y -OR₂; A₃ se selecciona del grupo que consiste en alquilo, arilo, cicloalquilo, cicloalquilalquilo, heterociclo y heteroarilo; A₄ se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, halógeno, ciano, trifluorometilo, aril-heteroarilo, en el que el arilo está sustituido o no sustituido (por ejemplo, 1-(4-fluorofenil)-1H-1,2,3-triazolilo), y -OR₃. R₁ se selecciona del grupo que consiste en -SO₃R^{x1}, -PO₃R^{y1}R^{z1} y -C(=O)R^a; R₂ y R₃ se seleccionan cada uno independientemente del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo, -SO₃k^{x1}, -PO₃R^{y1}R^{z1} y -C(=O)R^a. R^{x1}, R^{y1} y R^{z1}, en cada aparición, se seleccionan independientemente del grupo que consiste en hidrógeno y un catión farmacéuticamente aceptable. R^a es alquilo o -OH.

Los ejemplos representativos de dichos compuestos de fórmula (II) son:

(2-(4-fluorofenil)-6-hidroxibenzo[b]tiofen-3-il)(4-(trifluorometil)fenil)metanona;

(3-(4-fluorofenil)-6-hidroxibenzo[b]tiofen-2-il)(4-(trifluorometil)fenil)metanona;

ciclopropil(2-(4-fluorofenil)-6-hidroxibenzo[b]tiofen-3-il)metanona;

ciclopropil(3-(4-fluorofenil)-6-hidroxibenzo[b]tiofen-2-il)metanona;

(2-(4-fluorofenil)-6-hidroxibenzo[b]tiofen-3-il)(piridin-4-il)metanona;

(3-(4-fluorofenil)-6-hidroxibenzo[b]tiofen-2-il)(piridin-4-il)metanona;

1-(2-(4-fluorofenil)-6-hidroxibenzo[b]tiofen-3-il)-2-metilpropan-1-ona;

1-(3-(4-fluorofenil)-6-hidroxibenzo[b]tiofen-2-il)-2-metilpropan-1-ona;

(4-etinilfenil)(2-(4-fluorofenil)-6-hidroxibenzo[b]tiofen-3-il)metanona;

(4-etinilfenil)(3-(4-fluorofenil)-6-hidroxibenzo[b]tiofen-2-il)metanona;

(2-(4-fluorofenil)-6-hidroxibenzo[b]tiofen-3-il)(p-tolil)metanona;

(3-(4-fluorofenil)-6-hidroxibenzo[b]tiofen-2-il)(p-tolil)metanona;

(4-(1-(4-fluorofenil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)fenil)(2-(4-fluorofenil)-6-hidroxibenzo[b]tiofen-3-il)metanona;

(4-(1-(4-fluorofenil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)fenil)(3-(4-fluorofenil)-6-hidroxibenzo[b]tiofen-2-il)metanona;

(3r,5r,7r)-adamantan-1-il(2-(4-fluorofenil)-6-hidroxibenzo[b]tiofen-3-il)metanona;

(3r,5r,7r)-adamantan-1-il(3-(4-fluorofenil)-6-hidroxibenzo[b]tiofen-2-il)metanona;

y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

A modo de ilustración únicamente, los compuestos de la invención pueden actuar o funcionar como agonista, antagonista, modulador selectivo de los receptores de estrógenos (SERM) o imitador selectivo de estrógenos (SEM); los compuestos pueden ser un modulador selectivo de los receptores de estrógenos donante de óxido nítrico (NO) (NO-SERM); los compuestos pueden prevenir o reducir el riesgo de trombosis a través de las rutas intrínseca y/o extrínseca de los anticoagulantes; los compuestos pueden prevenir o reducir el riesgo de trombosis incluso cuando eNOS se inhibe o inactiva; y los compuestos pueden ser procognitivos y neuroprotectores incluso en presencia de disfunción de la NOS.

Los presentes compuestos pueden existir como una sal farmacéuticamente aceptable. El término "sal farmacéuticamente aceptable" se refiere a sales o zwitteriones de los compuestos que son dispersables o solubles

en agua o aceite, adecuados para el tratamiento de trastornos sin toxicidad, irritación y respuesta alérgica indebidas, de acuerdo con una relación beneficio/riesgo razonable, y eficaces para su uso previsto. Las sales pueden prepararse durante el aislamiento y la purificación finales de los compuestos o haciendo reaccionar por separado un grupo amino de los compuestos con un ácido adecuado. Por ejemplo, un compuesto puede disolverse en un disolvente adecuado, tal como, pero sin limitarse a, metanol y agua, y tratarse con al menos un equivalente de un ácido, como ácido clorhídrico. La sal resultante puede precipitarse y aislarse mediante filtración y secarse a presión reducida. Alternativamente, el disolvente y el ácido en exceso pueden retirarse a presión reducida para proporcionar una sal. Las sales representativas incluyen acetato, adipato, alginato, citrato, aspartato, benzoato, bencenosulfonato, bisulfato, butirato, alcanforato, alcanforsulfonato, digluconato, glicerofosfato, hemisulfato, heptanoato, hexanoato, formiato, isetionato, fumarato, lactato, maleato, metanosulfonato, naftilenosulfonato, nicotinato, oxalato, pamoato, pectinato, persulfato, 3-fenilpropionato, picrato, oxalato, maleato, pivalato, propionato, succinato, tartrato, tricloroacetato, trifluoroacetato, glutamato, para-toluenosulfonato, undecanoato, clorhídrico, bromhídrico, sulfúrico, fosfórico y similares. Los grupos amino de los compuestos también pueden estar cuaternizados con cloruros, bromuros y yoduros de alquilo, tales como metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, laurilo, miristilo, estearilo y similares.

Las sales de adición básicas pueden prepararse durante el aislamiento y la purificación finales de los presentes compuestos mediante la reacción de un grupo carboxilo con una base adecuada, tal como hidróxido, carbonato o bicarbonato de un catión de metal tal como litio, sodio, potasio, calcio, magnesio o aluminio, o una amina orgánica primaria, secundaria o terciaria. Dentro del alcance de la presente invención se contemplan sales de amina cuaternaria derivadas de metilamina, dimetilamina, trimetilamina, trietilamina, dietilamina, etilamina, tributilamina, piridina, N,N-dimetilanilina, N-metilpiperidina, N-metilmorfolina, dicitlohexilamina, procaína, dibencilamina, N,N-dibencilfenetilamina, 1-efenamina y N,N'-dibenciletilendiamina, etilendiamina, etanolamina, dietanolamina, piperidina, piperazina y similares.

3. Composiciones farmacéuticas

Los compuestos de la invención pueden incorporarse en composiciones farmacéuticas adecuadas para la administración a un sujeto (tal como un paciente, que puede ser humano o no humano).

Las composiciones farmacéuticas pueden incluir una "cantidad terapéuticamente eficaz" o una "cantidad profilácticamente eficaz" del agente. Una "cantidad terapéuticamente eficaz" se refiere a una cantidad eficaz, a dosificaciones y durante periodos de tiempo necesarios para lograr el resultado terapéutico deseado. A modo de ilustración únicamente, una cantidad terapéuticamente eficaz de la composición puede determinarla un experto en la técnica y puede variar según factores tales como el estado patológico, la edad, el sexo y el peso del individuo, y la capacidad de la composición para provocar una respuesta deseada en el individuo. Una cantidad terapéuticamente eficaz también es aquella en la que cualquier efecto tóxico o perjudicial de un compuesto de la invención [por ejemplo, un compuesto de fórmula (II)] se supera por los efectos terapéuticamente beneficiosos. Una "cantidad profilácticamente eficaz" se refiere a una cantidad eficaz, a dosificaciones y durante periodos de tiempo necesarios para lograr el resultado profiláctico deseado. Normalmente, puesto que se usa una dosis profiláctica en los sujetos antes de o en el estadio más temprano de la enfermedad, la cantidad profilácticamente eficaz será menor que la cantidad terapéuticamente eficaz.

Por ejemplo, una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula (I), fórmula (Ia), fórmula (Ib), fórmula (Ic) o fórmula (II) puede ser de aproximadamente 1 mg/kg a aproximadamente 1000 mg/kg, de aproximadamente 5 mg/kg a aproximadamente 950 mg/kg, de aproximadamente 10 mg/kg a aproximadamente 900 mg/kg, de aproximadamente 15 mg/kg a aproximadamente 850 mg/kg, de aproximadamente 20 mg/kg a aproximadamente 800 mg/kg, de aproximadamente 25 mg/kg a aproximadamente 750 mg/kg, de aproximadamente 30 mg/kg a aproximadamente 700 mg/kg, de aproximadamente 35 mg/kg a aproximadamente 650 mg/kg, de aproximadamente 40 mg/kg a aproximadamente 600 mg/kg, de aproximadamente 45 mg/kg a aproximadamente 550 mg/kg, de aproximadamente 50 mg/kg a aproximadamente 500 mg/kg, de aproximadamente 55 mg/kg a aproximadamente 450 mg/kg, de aproximadamente 60 mg/kg a aproximadamente 400 mg/kg, de aproximadamente 65 mg/kg a aproximadamente 350 mg/kg, de aproximadamente 70 mg/kg a aproximadamente 300 mg/kg, de aproximadamente 75 mg/kg a aproximadamente 250 mg/kg, de aproximadamente 80 mg/kg a aproximadamente 200 mg/kg, de aproximadamente 85 mg/kg a aproximadamente 150 mg/kg y de aproximadamente 90 mg/kg a aproximadamente 100 mg/kg.

A modo de ilustración únicamente, las composiciones farmacéuticas pueden incluir portadores farmacéuticamente aceptables. El término "portador farmacéuticamente aceptable", tal como se usa en el presente documento, significa una carga, un diluyente, un material de encapsulación o una sustancia auxiliar de la formulación en forma sólida, semisólida o líquida, no tóxica e inerte de cualquier tipo. Algunos ejemplos de materiales que pueden servir como portadores farmacéuticamente aceptables son azúcares, tales como, pero sin limitarse a, lactosa, glucosa y sacarosa; almidones, tales como, pero sin limitarse a, almidón de maíz y almidón de patata; celulosa y sus derivados, tales como, pero sin limitarse a, carboximetilcelulosa de sodio, etilcelulosa y acetato de celulosa; tragacanto en polvo; malta; gelatina; talco; excipientes, tales como, pero sin limitarse a, manteca de cacao y ceras para supositorio; aceites, tales como, pero sin limitarse a, aceite de cacahuete, aceite de semilla de algodón, aceite

de cártamo, aceite de sésamo, aceite de oliva, aceite de maíz y aceite de soja; glicoles, tales como propilenglicol; ésteres, tales como, pero sin limitarse a, oleato de etilo y laurato de etilo; agar; agentes de tamponamiento, tales como, pero sin limitarse a, hidróxido de magnesio e hidróxido de aluminio; también pueden estar presentes en la composición, según el juicio del formulador ácido algínico; agua libre de pirógenos; solución salina isotónica; solución de Ringer; alcohol etílico y disoluciones de tampón fosfato, así como otros lubricantes compatibles no tóxicos, tales como, pero sin limitarse a, laurilsulfato de sodio y estearato de magnesio, así como agentes colorantes, agentes de liberación, agentes de recubrimiento, agentes edulcorantes, aromatizantes y perfumantes, conservantes y antioxidantes.

4. Tratamiento de trastornos médicos relacionados con estrógenos

Los compuestos y las composiciones de la presente invención pueden ser para el tratamiento de trastornos médicos relacionados con estrógenos seleccionados del grupo que consiste en: cáncer, inflamación, osteoporosis, atrofia vaginal, enfermedades del sistema nervioso central y enfermedades del sistema cardiovascular en un sujeto que necesita tal tratamiento; en el que la composición comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de al menos uno de dicho compuesto de fórmula (II) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

a. Trastornos relacionados con estrógenos

Un trastorno médico relacionado con estrógenos puede ser cualquier trastorno médico en el que se altera o cambia la actividad de un receptor de estrógenos. La alteración de la actividad de un receptor de estrógenos puede incluir la regulación por incremento o la regulación por disminución de la actividad del receptor de estrógenos. La alteración de la actividad de un receptor de estrógenos puede ser la misma o diferente en órganos, tejidos y/o células de un sujeto.

Un trastorno médico relacionado con estrógenos también puede ser cualquier trastorno médico que responde a la modulación de la actividad de un receptor de estrógenos. Tal modulación de la actividad de un receptor de estrógenos puede incluir la regulación por incremento o la regulación por disminución de la actividad del receptor de estrógenos. La actividad de un receptor de estrógenos puede modularse o alterarse por un agonista, un antagonista, un modulador selectivo de los receptores de estrógenos (SERM), un imitador selectivo de estrógenos (SEM), un SERM donante de óxido nítrico (NO-SERM) y/o un SEM donante de óxido nítrico (NO-SEM). La actividad del receptor de estrógenos puede modularse igual o de forma distinta en órganos, tejidos y/o células diferentes de un sujeto.

(1) Cáncer

La composición de la presente invención puede usarse para el tratamiento del trastorno médico relacionado con estrógenos, el cáncer. El cáncer puede ser un cáncer de mama, un cáncer de útero, un cáncer de ovario, un cáncer de próstata y un cáncer de pulmón. Particularmente, el cáncer de mama puede ser un cáncer de mama resistente al tamoxifeno o un cáncer de mama triple negativo. La expresión o sobreexpresión de PKC α puede ser indicativa de estar asociada con el cáncer de mama. La PKC α puede ser un biomarcador o marcador del cáncer de mama.

A modo de ilustración únicamente, el tratamiento puede prevenir o reducir el riesgo de cáncer y el tratamiento puede provocar la regresión parcial o completa del cáncer en un sujeto.

A modo de ilustración únicamente, el tratamiento puede antagonizar la acción de los estrógenos en la mama; el tratamiento puede bloquear o limitar las actividades mitógenas del estrógeno en la mama, el aparato reproductor y la próstata; el tratamiento puede provocar la regresión parcial o completa de un cáncer o tumor resistente al tamoxifeno; y el tratamiento puede provocar la regresión parcial o completa de un cáncer de mama triple negativo.

(2) Inflamación

La composición de la presente invención puede usarse para el tratamiento del trastorno médico relacionado con estrógenos, la inflamación. A modo de ilustración únicamente, el tratamiento puede prevenir o reducir la inflamación en un sujeto que necesita tal tratamiento.

(3) Osteoporosis

La composición de la presente invención puede usarse para el tratamiento del trastorno médico relacionado con estrógenos, la osteoporosis. A modo de ilustración únicamente, el tratamiento puede prevenir o reducir la osteoporosis en un sujeto que necesita tal tratamiento; el tratamiento puede prevenir o reducir la pérdida de densidad mineral ósea en un sujeto; el tratamiento puede reducir o disminuir la tasa de recambio óseo o fracturas; y el tratamiento puede mejorar o mantener la densidad mineral ósea en un sujeto.

(4) Atrofia vaginal

La composición de la presente invención puede usarse para el tratamiento del trastorno médico relacionado con estrógenos, la atrofia vaginal. A modo de ilustración únicamente, el tratamiento puede prevenir o reducir la atrofia vaginal en un sujeto que necesita tal tratamiento.

5 (5) Enfermedades del sistema cardiovascular

La composición de la presente invención puede ser para el tratamiento de los trastornos médicos relacionados con estrógenos, las enfermedades del sistema cardiovascular. A modo de ilustración únicamente, el tratamiento puede potenciar o mantener los efectos vasodilatadores del estradiol en la vasculatura coronaria; el tratamiento puede disminuir o reducir los niveles de colesterol de lipoproteínas de baja densidad (LDL-C); el tratamiento puede aumentar los niveles de colesterol de lipoproteínas de alta densidad (HDL-C); el tratamiento puede disminuir o reducir el riesgo de infarto de miocardio; el tratamiento puede prevenir o reducir el riesgo de trombosis; el tratamiento puede prevenir o reducir el riesgo de accidente cerebrovascular; y el tratamiento puede prevenir o reducir el riesgo de cardiopatía coronaria.

15 (6) Enfermedades del sistema nervioso central

La composición de la presente invención puede ser para el tratamiento de los trastornos médicos relacionados con estrógenos, las enfermedades del sistema nervioso central. La enfermedad del sistema nervioso central puede ser enfermedad de Alzheimer o deterioro cognitivo leve. A modo de ilustración únicamente, el tratamiento puede prevenir, reducir o revertir la enfermedad de Alzheimer o el deterioro cognitivo leve en un sujeto que necesita tal tratamiento; el tratamiento puede revertir las deficiencias cognitivas; el tratamiento puede restablecer las funciones intelectuales, la potenciación a largo plazo (LTP) y la función sináptica, y/o puede ser neuroprotector; y el tratamiento puede fomentar la supervivencia neuronal y/o la neurogénesis del hipocampo.

25 b. Modos de administración

A modo de ilustración únicamente, el tratamiento puede incluir varios modos para administrar la composición de la presente invención. Por ejemplo, los modos de administración pueden incluir comprimidos, pastillas, grageas, cápsulas de gel duras y blandas, gránulos, microgránulos, disoluciones acuosas, lipídicas, oleosas o de otro tipo, emulsiones tales como emulsiones de aceite en agua, liposomas, suspensiones acuosas u oleosas, jarabes, elixires, emulsiones sólidas, dispersiones sólidas o polvos dispersables. Para la preparación de composiciones farmacéuticas para administración oral, el agente puede mezclarse con adyuvantes y excipientes conocidos y usados habitualmente, tales como, por ejemplo, goma arábiga, talco, almidón, azúcares (tales como, por ejemplo, manitosa, metilcelulosa, lactosa), gelatina, agentes tensioactivos, estearato de magnesio, disolventes acuosos o no acuosos, derivados de parafina, agentes de reticulación, dispersantes, emulsionantes, lubricantes, agentes conservantes, agentes aromatizantes (por ejemplo, aceites etéreos), potenciadores de la solubilidad (por ejemplo, benzoato de bencilo o alcohol bencílico) o potenciadores de la biodisponibilidad (por ejemplo, Gelucire.TM.). En la composición farmacéutica, el agente también puede dispersarse en un micropartícula, por ejemplo, una composición de nanopartículas.

Por ejemplo, para la administración parenteral, el agente puede disolverse o suspenderse en un diluyente fisiológicamente aceptable, tal como, por ejemplo, agua, tampón, aceites con o sin solubilizantes, agentes tensioactivos, dispersantes o emulsionantes. Como aceites, por ejemplo y sin limitación, pueden usarse aceite de oliva, aceite de cacahuete, aceite de semilla de algodón, aceite de soja, aceite de ricino y aceite de sésamo. Más generalmente hablando, para la administración parenteral, el agente puede estar en forma de una disolución o suspensión acuosa, lipídica, oleosa o de otro tipo, o incluso puede administrarse en forma de liposomas o nanosuspensiones.

El término "por vía parental", tal como se usa en el presente documento, se refiere a modos de administración que incluyen la inyección e infusión intravenosa, intramuscular, intraperitoneal, intraesternal, subcutánea e intraarticular.

La presente invención se ilustra mediante los siguientes ejemplos.

55 6. Ejemplos

En los ejemplos a continuación, se prepararon análogos de DMA y NO-DMA para el estudio de los efectos neuroprotector y procognitivo de SERM y del potencial de un NO-SERM para superar los efectos adversos asociados con la formación de trombos y disfunción de la eNOS. Se demostró que la neuroprotección con SERM está mediada a través de un mecanismo dependiente de GPR30 y se ampliaron estos resultados para mostrar que GPR30 media las acciones de SERM en la restablecimiento de la transmisión sináptica en un modelo de ratón transgénico de EA. También se demostró que los efectos procognitivos y vasodilatadores de los SERM son dependientes de la señalización de NOS intacta, mientras que los NO-SERM conservar la acción en modelos en los que se altera la señalización de NOS. Este es el primer informe de un NO-SERM que actúa como agente antitrombótico que puede revertir las deficiencias en la transmisión sináptica y la memoria en modelos de ratón, a la vez que conserva la unión al ER y mantiene la eficacia frente a la actividad atenuada de eNOS.

Ejemplo 1

Materiales y métodos para los ejemplos 2-8

5

Síntesis de NO-DMA (es decir, compuesto 8) y análogos de DMA. La síntesis de F-DMA y DMA se ha descrito (96). La síntesis de NO-DMA (nitrato de 3-(1-(2-(4-(6-hidroxi-2-(4-hidroxifenil)benzo[b]tiofen-3-iloxi)fenoxi)etil)piperidin-4-il)propilo) y los datos de caracterización completos se proporcionan en el ejemplo 11.

10 Uso de animales. El Comité Institucional para el Cuidado y Uso de Animales de la Universidad de Illinois en Chicago aprobó el uso de animales. Todos los experimentos cumplieron con la ley de bienestar animal, la guía de uso y cuidado de animales de experimentación y los principios del gobierno de los EE.UU. sobre la utilización y el cuidado de animales vertebrados usados en las pautas de pruebas, investigación y adiestramiento sobre el uso ético de animales.

15

Preparación de neuronas primarias. Se prepararon cultivos primarios de neuronas corticales disociadas de la siguiente manera; en resumen, se disecaron las cortezas de ratas Sprague-Dawley E16-18 (Charles River). Después de la retirada de las meninges, se disociaron las cortezas a mano y se sembraron en placa a una densidad de 10^6 células/ml en placas de 96 pocillos. Veinticuatro horas después de la siembra en placa, se hicieron crecer los cultivos en medio Neurobasal A complementado con B27, glutamina y pen./estrep., con cambios del medio cada 3-4 días. Según los protocolos publicados, los niveles medidos de la glía en cultivo después de DIV2 son $< 0,5\%$.

20

Privación de oxígeno y glucosa (OGD). Se cambió el medio celular a medio de crecimiento libre de rojo de fenol al menos 3 h antes de la OGD. Se añadieron bloqueadores de receptores 45 min antes del inicio de la OGD y se añadieron SERM al inicio de la OGD, con concentraciones que se mantuvieron durante los cambios del medio. Para la OGD, se transfirieron las células a una cámara hipóxica controlada al 5% de CO_2 y $< 1\%$ de O_2 y se reemplazó el medio de crecimiento con solución salina fisiológica (en mM: NaCl 116, CaCl_2 1,8, MgSO_4 0,8, KCl 5,4, NaHCO_3 14,7, NaHPO_4 1, HEPES 10, pH=7,4). Después de 2 h de OGD, se retiraron las células de la cámara y se reemplazó el medio de crecimiento. Después de 24 h, se midió la viabilidad celular mediante un ensayo MTT usando un espectrofotómetro de microplacas Dynex MRX 11.

25

30

Electrofisiología. Todos los experimentos usaron controles de fondo WT de la misma edad o 3xTg macho transgénicos de 16 meses. Para la electrofisiología, se decapitaron rápidamente los ratones y se extrajeron los cerebros en una disolución de LCRa helada (en mM: NaCl 124, KCl 3,0, KH_2PO_4 1,25, NaHCO_3 25,7, D-glucosa 10, L-ascorbato 2,0, MgSO_4 2,5 y CaCl_2 3,3) y se seccionaron en un cortador de tejidos para dar secciones de 400 μm . Se transportaron los cortes a una disolución de LCRa a 37°C, se burbujearon de manera continua con el 95% de O_2 /el 5% de CO_2 y se dejaron recuperar al menos 60 min antes de la experimentación. Después de la colocación de un electrodo de estimulación en las fibras comisurales de Schaffer y registrar los electrodos con disolución de NaCl 2 M en el estrato irradiado de la zona CA1, se ajustó la intensidad del estímulo para provocar un fEPSP por debajo del máximo y se monitorizó de manera continua en intervalos de 20 s durante al menos 15 min para establecer un nivel inicial estable. Se prepararon SERM (100 nM) y G15 (100 nM) nuevos en perfundido y se inició al menos 30 min antes de la inducción de LTP para alcanzar un nuevo nivel inicial después de observar la potenciación de la transmisión sináptica basal (97). Se indujo la LTP usando un protocolo de inducción de ráfagas theta aplicando 10 ráfagas de cuatro pulsos a 100 Hz con un intervalo entre ráfagas de 200 ms. Se monitorizó el fEPSP resultante en intervalos de 20 s durante ~60 min después de la TBS.

35

40

45

Biodisponibilidad en el SNC y medición de NO_x . Todos los experimentos se realizaron o bien en ratones macho C57B1/6 (Charles River Laboratory) o bien en animales eNOS (-/-). Se inyectaron los animales (i.p.) en diversos puntos de tiempo antes del sacrificio a las dosis especificadas. Después de la eutanasia mediante CO_2 , se recogió plasma y se extrajeron las cortezas y los hipocampos después de la perfusión de PBS y se almacenaron a -80°C . Se pesaron las muestras de tejido y se extrajeron con metanol. Se extrajeron las muestras de plasma con acetonitrilo frío. El análisis cuantitativo de las concentraciones de fármaco en plasma y cerebro utilizó patrones internos con adiciones conocidas de homogeneizados de plasma y cerebro antes de la extracción líquida con acetonitrilo o metanol, y la separación y la medición se realizaron con espectrometría de masas en tándem LC-MS/MS. El sobrenadante (desproteínizado) se analizó mediante quimioluminiscencia con un analizador de óxido nítrico SIEVERS 280i.

50

55

Evitación pasiva por cruce. Todos los experimentos se realizaron o bien en ratones macho C57B1/6 o bien en animales eNOS (-/-). Se inyectaron (i.p.) escopolamina (1 mg/kg) o L-NAME (50 mg/kg) 30 min antes del adiestramiento, mientras que los SERM (2 mg/kg) se inyectaron 20 min antes del adiestramiento. Se colocaron los ratones en el compartimento de luz de la caja de luz/oscuridad y, tan pronto como entraron en el compartimento de oscuridad, recibieron un choque eléctrico (0,5 mA, 60 Hz durante 2 segundos). Se repitió este adiestramiento hasta que la latencia para entrar en el lado de oscuridad alcanzó los 300 s. A las 24 h después del adiestramiento, los animales se colocaron individualmente en el compartimento de luz y se registró la latencia para entrar en el compartimento de oscuridad con un valor de corte de 300 s. Los detalles de este ensayo de comportamiento ampliamente usado se han comentado previamente para compuestos donantes de NO (51, 98, 99).

60

65

Relajación del anillo aórtico. Se prepararon anillos aislados de las aortas de ratas macho Sprague-Dawley (250-300 g) para las mediciones de la tensión isométrica y se equilibraron durante 1 h a una tensión de reposo óptima de 10 mN. Se contrajeron los tejidos por debajo del máximo con fenilepinefrina 0,3 μ M y, después de 10-15 min, se obtuvieron curvas de concentración acumulada-respuesta para los SERM (0,01-30 μ M). Algunas preparaciones de anillo aórtico se despojaron del endotelio o se trataron con L-NAME 100 μ M, antes de la evaluación de las respuestas de relajación inducida por SERM.

Anticoagulación. Se inyectaron (i.p.) los SERM 1 h antes de la extracción de sangre y se inyectó (i.p.) L-NAME 30 min antes de la extracción de sangre. Se sedó al ratón exponiéndolo a CO₂ hasta que quedó inconsciente y se extrajo sangre en tubos de extracción de sangre vacíos de vidrio BD Vacutainer de 4,5 ml (con citrato de sodio tamponado 0,105 M) mediante punción cardíaca. Se centrifugaron las muestras de sangre a 300 g durante 30 min para separar el plasma de la sangre y, a continuación, se tomaron 200 μ l de plasma de cada muestra y se midieron TP y aPTT usando un analizador de coagulación ACL 7000. El analizador inyecta 125 μ M de PT-fibrinógeno (tromboplastina cálcica de cerebro de conejo liofilizado con estabilizante, polibreno, tampón y conservantes) a 75 μ l de muestra de plasma para medir el PT y se añadieron 75 μ l de synthAFAX (0,025 M) + 100 μ l de CaCl₂ (0,02 M) a 75 μ l de plasma para medir el aPTT. El análisis fue a 37°C usando un fotosensor a λ = 671 nm.

Ejemplo 2

Síntesis de un NO-SERM que conserva afinidad de unión nanomolar por ER

La modificación estructural de DMA para introducir propiedades donantes de NO, tal como se detalla a continuación, se logró sin la pérdida de unión a ER. Se midió la afinidad de unión a ligando mediante desplazamiento de E₂ competitivo tal como se describió previamente (52). Los valores de CI₅₀ para ER α y ER β medidos para NO-DMA fueron 21,4 $\pm$ 6,7 nM y 24,4 $\pm$ 9,6 nM, respectivamente. A modo de comparación, se midieron valores de CI₅₀ para ER α de 21,0 $\pm$ 2,7 nM, 7,8 $\pm$ 1,9 nM y 17 $\pm$ 0,6 nM para raloxifeno, DMA y F-DMA, respectivamente.

Ejemplo 3

La neuroprotección está medida a través de la activación del receptor GPR30, independiente de ER α y NOS

Previamente, se ha demostrado que las acciones neuroprotectoras de raloxifeno y DMA son dependientes de GPR30 y están mediadas mediante la señalización de PI3K/Akt (53). Se usó el ensayo de privación de oxígeno y glucosa (OGD) como un modelo compuesto en un cultivo neuronal primario de lesión por reperusión isquémica para determinar si la adición de capacidad donante de NO a DMA alteraba el mecanismo de acción. Veinticuatro horas después de un periodo de privación de glucosa de 2 h, se observó que NO-DMA 100 nM provocaba una neuroprotección robusta idéntica a DMA, tal como se mide mediante MTT (figura 1) o LDH (datos no mostrados) y normalizada con respecto a estradiol (E₂, 10 nM). El bloqueo de la señalización de ER α clásica por ICI 182780 (100 nM) no bloqueó este efecto. Sin embargo, tanto la toxina de la tosferina (100 ng/ml), un bloqueante de GPR, y G15 (100 nM), un antagonista selectivo de GPR30 (54), bloquearon la actividad neuroprotectora de NO-DMA y DMA. LY294002 (10 μ M), un inhibidor selectivo de PI3K, fue eficaz, mientras que L-NAME (100 μ M), un antagonista no selectivo de NOS, fue ineficaz en la atenuación de la actividad neuroprotectora, lo que respalda la hipótesis de que NO-DMA señala a través de la ruta PI3K/Akt aguas abajo de GPR30 de una manera similar a DMA. En este modelo experimental, no se indica la señalización mediante NOS aguas abajo de PI3K/Akt.

Ejemplo 4

La restablecimiento de LTP en un modelo de ratón de Alzheimer es dependiente de GPR30

La potenciación a largo plazo (LTP) en el campo CA1 del hipocampo es un modelo celular bien estudiado para el aprendizaje y la memoria. Para medir el efecto de DMA y NO-DMA en la reversión de las deficiencias en la plasticidad sináptica, se indujo LTP con un protocolo de estimulación de ráfagas theta (TBS) en las sinapsis de las fibras comisurales/de Schaffer en el campo CA1 de cortes del hipocampo de ratones macho 3xTg de 16 meses. Estos ratones han demostrado que tienen una notable deficiencia en LTP que se vuelve evidente a los 6 meses de edad (55). A los 16 meses, una edad avanzada a la que una neuropatología similar al Alzheimer está bien desarrollada en estos animales, no se han notificado previamente estudios sobre LTP. Se observó una deficiencia robusta y reproducible en LTP en estos ratones transgénicos de edad avanzada, con potenciales postsinápticos excitadores de campo (fEPSP) que mostraban una potenciación promedio final de 97,0 $\pm$ 6,4% de nivel inicial a los 45 min después de la TBS, en comparación con 134,7 $\pm$ 10,3% observada en los controles de tipo natural (WT) (figura 2A,B). La adición de DMA 100 nM al perfundido de LCRa 30 min antes de la inducción de LTP dio como resultado una reversión significativa de la deficiencia en LTP a una potenciación promedio final de 144,9 $\pm$ 8,7% (figura 2A,B). NO-DMA (100 nM) tuvo efectos similares a DMA, con una potenciación promedio de 144,2 $\pm$ 5,2% de nivel inicial, con una tendencia hacia una potenciación aumentada con respecto a los ratones transgénicos sin tratar observada inmediatamente después de la TBS (figura 2A,B). Finalmente, la adición del bloqueante selectivo de GPR30, G15

(100 nM), impidió la acción de DMA, con un fEPSP final que se aproxima a los niveles de ratones transgénicos sin tratar ($96,8 \pm 7,1\%$), mientras que no tuvo ningún efecto sobre los cortes de C57Bl/6 WT en ausencia de DMA (figura 7), lo que sugiere que el receptor GPR30 es crítico para los efectos de potenciación de LTP de los SERM. Los datos preliminares también indican que la actividad de DMA es dependiente de NOS (figura 9).

Para determinar si los fármacos potenciaron la LTP al alterar las respuestas fisiológicas durante la inducción de LTP, tales como las corrientes mediadas por receptores de NMDA o acontecimientos aguas abajo implicados en la expresión o la estabilización, se cuantificaron las respuestas postsinápticas a las ráfagas theta tal como se describió previamente (56, 57). La potenciación de las ráfagas posteriores aumentó con DMA y NO-DMA pero no con DMA+G15 (figura 2C), lo que sugiere que los SERM pueden actuar, al menos en parte, potenciando la despolarización y la actividad de los receptores de NMDA durante la TBS, además de las acciones aguas abajo sobre los acontecimientos de señalización que conducen a la estabilización de la respuesta de LTP.

Ejemplo 5

La relajación vascular dependiente de eNOS se conserva con NO-SERM en ausencia de eNOS

Se evaluó la actividad vasodilatadora de los SERM y NO-SERM usando preparaciones de anillo aórtico aislado. Todos los SERM mostraron una relajación dependiente de la dosis, mostrando raloxifeno y DMA una eficacia que se aproxima a una relajación del 100% (figura 3A). Se calcularon los siguientes valores de CE_{50} (medio, D.E.), pero no se encontró que fueran significativamente diferentes: FDMA, $2,4 \pm 1,2 \mu\text{M}$; arzoxifeno, $3,3 \pm 2,5 \mu\text{M}$; DMA, $3,5 \pm 2,5 \mu\text{M}$; raloxifeno, $4,0 \pm 2,9 \mu\text{M}$, lo que sugiere una misma potencia como vasodilatadores para todos los SERM estudiados. La retirada del endotelio o la inhibición de NOS por L-NAME dieron como resultado una disminución significativa de la eficacia de DMA, lo que indica que la mayor parte de la actividad vasodilatadora de DMA está mediada a través de la activación de eNOS (figura 3B). Por tanto, los SERM inducen relajación en el modelo de anillo aórtico a bajas concentraciones micromolares, dependiente de la señalización de eNOS/NO intacta. NO-DMA indujo una relajación máxima en este modelo, con al menos una potencia aumentada en diez veces ($CE_{50} = 130 \pm 90 \text{ nM}$) con respecto a DMA (figura 3C). La potencia de NO-DMA se redujo en tejidos despojados del endotelio (valor de CE_{50} de $0,90 \pm 0,69 \mu\text{M}$) y tejidos tratados con L-NAME (valor de CE_{50} de $1,0 \pm 0,54 \mu\text{M}$). Se demostró que NO-DMA tenía acciones vasodilatadoras tanto dependientes como independientes del endotelio, mediadas a través de eNOS y la liberación directa de NO.

Ejemplo 6

Los SERM biodisponibles en el SNC aumentan los niveles de NO dependiendo de la actividad de eNOS

Se midió la biodisponibilidad en cerebro y plasma de DMA (5 mg/kg; i.p.) en ratones C57Bl/6 usando detección por CL/EM-EM. DMA mostró una permeabilidad sustancial de la barrera hematoencefálica, con una retención preferencial en el hipocampo con respecto a la corteza (figura 8). Se evaluaron los niveles de NO en cerebro y plasma midiendo los productos de oxidación metabólica, NO_2^- y NO_3^- (NO_x), usando detección por quimioluminiscencia. Una hora después de la inyección de 2 mg/kg de DMA o NO-DMA, hubo una elevación de NO_x de más del doble en el hipocampo y plasma (figura 4). Para evaluar la contribución relativa de eNOS, se administraron DMA y NO-DMA a animales eNOS (-/-). En estos animales, DMA no tuvo ningún efecto sobre NO_x en plasma o hipocampo, mientras que se encontró que NO-DMA aumentaba NO_x significativamente, tanto en el hipocampo como en plasma.

Ejemplo 7

Los SERM revierten las deficiencias cognitivas colinérgicas; NO-SERM revierte la deficiencia en ratones con desactivación de eNOS

Para investigar los efectos procognitivos de los SERM y NO-DMA en un modelo de comportamiento *in vivo* de memoria, se usó la evitación pasiva de cruce (STPA) en ratones C57Bl/6 tratados con escopolamina (1 mg/kg) 30 min antes del adiestramiento. En este ensayo, se somete a prueba la memoria 24 h y 48 h después del adiestramiento y, puesto que los fármacos sólo se administran durante el adiestramiento, cualquiera de los efectos secundarios de los fármacos, tales como la sedación, son muy poco probables de confundir los resultados de las pruebas. Una alta latencia refleja una fuerte memoria consolidada del estímulo aversivo. En animales tratados con escopolamina, todos los tratamientos (2 mg/kg, i.p., 20 min antes del adiestramiento), excepto F-DMA y nitrato inorgánico, indujeron una reversión completa de la deficiencia de memoria a las 24 h después del adiestramiento (figura 5). NO-DMA mostró un restablecimiento equivalente de la protección con respecto a DMA. Para aislar los efectos procognitivos debidos a la liberación de NO de los debidos a NO-DMA, se repitieron los experimentos después de la administración de L-NAME (50 mg/kg, 30 min antes del adiestramiento) en lugar de escopolamina. L-NAME solo dio como resultado una deficiencia cognitiva que se revirtió sólo mediante NO-DMA. Se observaron resultados similares en STPA después de una deficiencia inducida por escopolamina en ratones con desactivación de eNOS, lo que implica fuertemente a eNOS como un mediador del mecanismo de acción procognitivo de los SERM y demuestra la capacidad de un NO-SERM para evitar la pérdida de actividad de eNOS.

Ejemplo 8

Los SERM actúan a través de la ruta intrínseca; NO-SERM activa las rutas tanto intrínseca como extrínseca de los anticoagulantes

El NO se ha implicado en la reducción directa de la coagulación (28), por tanto, se evaluaron los tiempos de protrombina (PT) y tromboplastina activada (aPTT) para DMA y NO-DMA. A la 1 h, tanto DMA como NO-DMA aumentaron significativamente el aPTT y ambos aumentaron el PT, pero sólo NO-DMA alcanzó un nivel de significación (figura 6). Después de 3 h, el efecto de DMA había disminuido hasta el de las muestras de control, mientras que el efecto de NO-DMA permaneció significativamente superior al control. Para someter a prueba la actividad anticoagulante de los compuestos en modelos de función alterada de NOS, a ratones inyectados con L-NAME (50 mg/kg, 30 m antes de la de la extracción) se les administró DMA o NO-DMA (2 mg/kg, 1 h antes de la extracción) y sólo NO-DMA mostró una anticoagulación significativa en comparación con el control, con un aumento del PT significativamente superior a DMA.

Ejemplo 9

Resumen de los ejemplos 2-8

Aunque los moduladores selectivos de los receptores de estrógenos (SERM) de 2ª generación han superado problemas ginecológicos, el potencial de los estrógenos en la terapia neuroprotectora y procognitiva está limitado por el riesgo de acontecimientos trombóticos. La hipótesis del periodo crítico también postula una respuesta atenuada a los estrógenos con la edad. Se demostró que los SERM de 3ª generación, desmetilarzoxifeno (DMA), en cortes del hipocampo de ratones 3xTg transgénicos de edad avanzada con Alzheimer, restablecen la función sináptica con dependencia de GPR30. La neuroprotección en neuronas de rata primarias también fue dependiente de GPR30. El DMA estaba biodisponible en el cerebro y revirtió las deficiencias cognitivas colinérgicas, sin embargo, el DMA no pudo restablecer las funciones intelectuales en ratones en los que se inhibió o eliminó la óxido nítrico sintasa endotelial (eNOS). Se diseñó un novedoso SERM donante de NO (NO-SERM) y demostró ser procognitivo y neuroprotector incluso con la disfunción de la NOS: el NO-SERM restableció las funciones intelectuales en ratones eNOS (-/-), restableció la LTP en cortes del hipocampo de ratones 3xTg y protegió a las neuronas primarias contra la lesión por reperusión isquémica. La activación de eNOS subyace a los beneficios cardiovasculares de los estrógenos y se indujo la relajación de los anillos aórticos por SERM, aunque sólo NO-DMA conservó la eficacia en ausencia de eNOS. Finalmente, a diferencia de DMA, se demostró que NO-DMA reducía la trombosis a través de la ruta tanto intrínseca como extrínseca, incluso cuando se inhibió la eNOS. El NO-SERM conserva los atributos positivos de los SERM, sin efecto secundario trombótico, y puede ser útil en una población en envejecimiento en la que se atenúa la actividad de eNOS.

Ejemplo 10

Discusión de los ejemplos 2-8

La menopausia se ha asociado con demencia, depresión y ansiedad, y la gestión de tales efectos con terapias hormonales seguras y eficaces es una necesidad en gran parte insatisfecha. Las mujeres que comienzan con la menopausia notifican dificultades de memoria y concentración (58, 59) y se demostró que la tasa de mortalidad por EA ajustada a por edad era del 21,7% superior para mujeres que para hombres (60). Se ha notificado que la terapia con reposición de estrógenos mejora o mantiene los niveles de función cognitiva en mujeres posmenopáusicas y reduce el riesgo de enfermedad de Alzheimer (EA), observaciones de acuerdo con los papeles propuestos para el estrógeno en la cerebro en la protección, el crecimiento y la diferenciación de neuronas (7, 61-63). Sin embargo, los acontecimientos adversos asociados con el estrógeno recomiendan a los SERM como un enfoque alternativo. Los efectos beneficiosos del estrógeno en el SNC, el sistema óseo y el sistema cardiovascular son la base de la búsqueda de un SERM ideal que pueda conservar estos efectos beneficiosos a la vez que minimice o antagonice los efectos adversos potencialmente graves de los estrógenos en los órganos sexuales.

El SERM de benzotiofeno, raloxifeno, ha demostrado efectos beneficiosos significativos sobre los perfiles óseo y lipídico en mujeres posmenopáusicas (17-19), con evidencias que sugieren que los perfiles del SNC y cardiaco permanecen positivos (14, 23). Además, el raloxifeno muestra actividad antiestrogénica en la mama y el endometrio (20, 21). Estudios clínicos sobre el raloxifeno han demostrado señales positivas sobre las habilidades cognitivas (18, 64-66) y se han notificado efectos procognitivos y neuroprotectores en ratas hembra (67-69). Sin embargo, el raloxifeno también ha demostrado eficacia en ratas macho (70) y se han notificado respuestas cognitivas positivas en hombres de edad avanzada (71, 72). Los SERM de benzotiofeno, raloxifeno y DMA, tienen muchas características de un SERM ideal de uso potencial en el SNC, en particular si pueden eliminarse los efectos secundarios trombóticos.

Para el diseño de un SERM ideal es relevante la interacción entre la señalización mediada por ER clásica y los mecanismos que surgen de la rápida señalización extranuclear, tal como mediante GPR30 (54, 73, 74). Con estas

5 rutas de señalización se asocian papeles para el NO en la señalización mediante la activación de eNOS a través de la ruta PI3K/Akt (25, 26). Se ha notificado que la neuroprotección inducida por estrógenos y SERM está mediada mediante la rápida señalización, incluyendo la regulación de Ca^{2+} intracelular y la fosforilación de ERK (75, 76). Se ha demostrado que el ER extranuclear, vinculado a rutas de señalización de cinasas, incluyendo PI3K/Akt y Src/ERK/CREB, desempeña un papel en la neuroprotección estrogénica (75, 77), proporcionando vínculos directos a los mecanismos antiapoptóticos (78). Se observó que el estradiol y DMA provocan neuroprotección en neuronas primarias sujetas a lesión por reperusión isquémica, con la novedosa observación de que las acciones del estrógeno y los SERM estaban mediadas mediante GPR30 vinculado a las rutas PI3K/Akt, Src y ERK aguas abajo. Esta actividad se conservó por NO-DMA, un NO-SERM que por sí mismo es un potente antiestrógeno; aunque la neuroprotección en este sistema de modelo era independiente de NOS.

10 Para ampliar las observaciones sobre el rescate neuronal por los SERM y NO-SERM a un sistema de modelo para el rescate sináptico, se usó un modelo de ratón 3xTg de Alzheimer. Estos ratones representan un modelo más completo de la enfermedad que algunas otras razas, con una producción progresiva de A β en áreas relevantes del cerebro, patología en placas y ovillos similares a las observadas en pacientes con EA y alteración de la transmisión sináptica y LTP a los 6 meses de edad (55, 79). Se eligió estudiar la función sináptica en ratones 3xTg a los 16 meses, lo que representa un modelo de envejecimiento, combinado con neuropatología sustancial de A β y tau. Afortunadamente, se observó que DMA restablecía las deficiencias sinápticas, medidas mediante LTP en cortes del hipocampo de ratones 3xTg; y esta actividad era de nuevo dependiente de GPR30 y se conservaba por NO-DMA.

20 La relajación de los vasos sanguíneos por los estrógenos y SERM está mediada por mecanismos dependientes e independientes del endotelio, implicando estos últimos la activación de eNOS. Las isoformas de ER y GPR30 se han implicado en estas acciones (80). Los efectos vasculares del raloxifeno se han establecido bien en arterias de conducto y, recientemente, en arterias de resistencia (81), lo que respalda el beneficio terapéutico en la conservación de la función endotelial. Se notificó por primera vez que el raloxifeno inducía vasodilatación mediante una ruta dependiente de ER y eNOS (82) y, posteriormente, demostró que activaba eNOS mediante PI3K/Akt (26). En la aorta de rata, se observó vasodilatación en respuesta a todos los SERM de benzotiofeno sometidos a prueba. La relajación inducida por DMA fue en gran medida dependiente del endotelio y eNOS, mientras que el NO-DMA conservó una potencia equivalente a DMA incluso en ausencia de endotelio y eNOS.

30 Las deficiencias colinérgicas son la base de la terapia sintomática actual de EA (83). Los papeles que la disfunción colinérgica puede desempeñar en EA y deterioro cognitivo leve (DCL) tempranos se han revisado recientemente (84). El DCL amnésico es un supuesto estadio prodrómico de la enfermedad de Alzheimer y, con frecuencia, se ha inducido amnesia química en modelos de hombre y animal en el descubrimiento y desarrollo de fármacos usando el bloqueo colinérgico con escopolamina (85). Los SERM de benzotiofeno, raloxifeno, arzoxifeno y DMA, restablecieron la deficiencia cognitiva inducida en ratones por la escopolamina. Son necesarias las acciones concertadas de eNOS y nNOS para la LTP normal en el hipocampo y, en tejidos de ratones con genes inactivados, el NO exógeno puede reemplazar la función de NOS (38). Por tanto, dadas las observaciones sobre los SERM y NO-SERM en la vasculatura, se indicó el uso tanto de inhibición de NOS como ratones con desactivación de eNOS para someter a prueba la eficacia de DMA y NO-DMA. Se identificó el mecanismo de acción procognitivo de DMA como dependiente de eNOS; se observó que NO-DMA conservaba las acciones procognitivas en ambos modelos de exposición a eNOS.

45 La conocida disfunción endotelial asociada con el envejecimiento, la expresión disminuida de eNOS en mujeres posmenopáusicas y la potencial contribución de eNOS a la hipótesis del periodo crítico recomiendan el estudio adicional de enfoques terapéuticos que refuercen la señalización de NO/cGMP en combinación con la modulación de ER. Se han propuesto otras contribuciones a la patofisiología relacionada con la edad, además de la expresión atenuada de eNOS, incluyendo: inhibición de eNOS por la elevación de ADMA (86, 87); eliminación de cofactores, en particular, BH4 (88-90); y polimorfos de eNOS (91). La atenuación de la producción de cGMP dependiente de NO por guanilil ciclasa soluble (GCs) también se ha vinculado directamente con A β (92). El enfoque con NO-SERM es informativo, sin embargo, también están respaldados enfoques relacionados con la activación combinatoria de (1) señalización estrogénica y (2) señalización de NO/cGMP (27, 93).

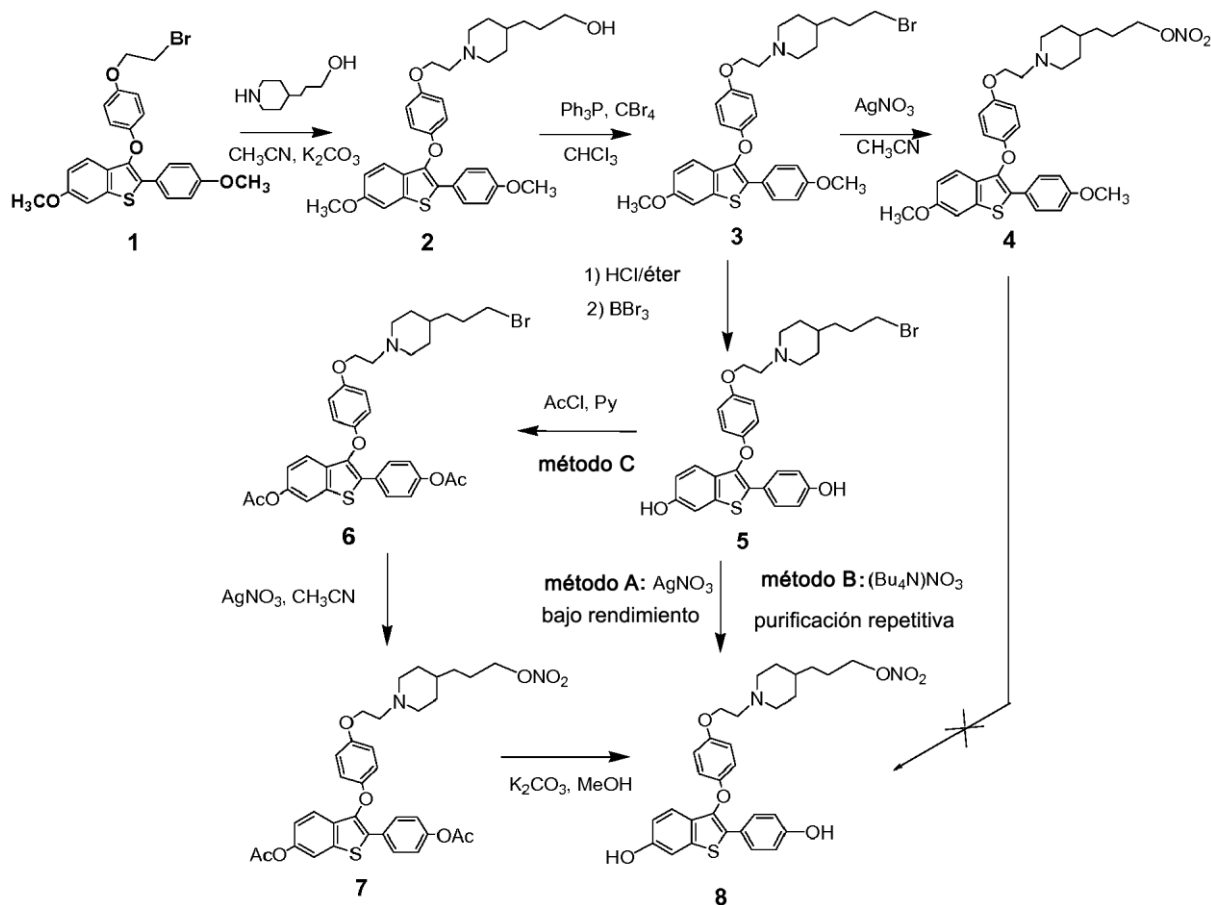
55 En resumen, se diseñó un prototipo de NO-SERM, y demostró que conservaba la unión a ER y las acciones antagonistas de ER α clásicas del SERM original y proporcionaba neuroprotección y restablecimiento sináptica en un modelo de EA, dependiente de GPR30. Contra una deficiencia cognitiva colinérgica en ratones, los SERM neuroprotectores restablecieron la memoria, sin embargo, este efecto procognitivo se perdió cuando la actividad de eNOS estaba bloqueada o ausente. El NO-SERM restableció las funciones intelectuales después del ataque colinérgico en ratones eNOS (-/-) y los niveles de NO medidos después del tratamiento con SERM y NO-SERM fueron compatibles con el papel central de la señalización de NO. En la EA, en particular, está surgiendo un papel para el NO para tratar deficiencias colinérgicas (49) y atenuar la amiloidogénesis (94, 95).

65 Desde una perspectiva terapéutica, la conocida disfunción endotelial asociada con el envejecimiento, la expresión disminuida de eNOS en mujeres posmenopáusicas y la potencial contribución de eNOS a la hipótesis del periodo crítico recomiendan el estudio adicional de NO-SERM. También están respaldados enfoques relacionados con la activación combinatoria de (1) señalización estrogénica y (2) señalización de NO/cGMP (27, 89). La capacidad de un

NO-SERM para reducir la coagulación al aumentar tanto el PT como el aPTT hasta niveles comparables a los de anticoagulantes clínicos sugiere que este enfoque también puede abordar el riesgo de trombosis asociada con la terapéutica con SERM. Estos hallazgos, junto con el historial de seguridad por lo demás excelente del raloxifeno en la clínica, respaldan el desarrollo adicional de NO-SERM o terapias de combinación para la EA y otros trastornos neurodegenerativos en la cohorte posmenopáusica y sugieren la utilidad de este enfoque en la población general.

Ejemplo 11

Síntesis de NO-DMA, compuesto 8 (es decir, nitrato de 3-(1-(2-(4-(6-hidroxi-2-(4-hidroxifenil)benzo[b]tiofen-3-iloxi)fenoxi)etil)piperidin-4-il)propilo)



Se obtuvieron los espectros de 1H -RMN y ^{13}C -RMN con los espectrómetros Bruker Ultrashield 400 MHz y Advance 300 MHz. Los desplazamientos químicos se notifican como valores de δ en partes por millón (ppm) en relación con tetrametilsilano (TMS) para todos los espectros de RMN registrados. Todos los reactivos y disolventes se obtuvieron comercialmente de Acros, Aldrich y Fluka y se usaron sin purificación.

Se sintetizó el material de partida 1 a partir de 6-metoxi-2-(4-metoxifenil)benzo[b]tiofeno disponible comercialmente según un método en 6 etapas publicado (53). LA desmetilación de 4 dio lugar a una mezcla compleja, que podría deberse a la incompatibilidad del ácido de Lewis con el nitrato orgánico. Se obtuvo el NO-DMA 8 mediante la reacción de 5 con nitrato de plata con bajo rendimiento (método A); o, usando nitrato de tetrabutilamonio como reactivo de nitración, el rendimiento mejoró drásticamente, pero el método requería repetitivas purificaciones en columna para retirar la sal de amonio (método B); alternativamente, se acetilaron los grupos fenol de 5 y se convirtió el bromuro 6 en nitrato 7 usando sal de plata, se obtuvo finalmente 8 con buena pureza mediante desacetilación de 7 con alto rendimiento (método C).

Compuesto 2. Se disolvieron el compuesto 1 (2,6 g, 5,3 mmol), 4-piperidinopropanol (1,0 g, 6,9 mmol) en acetonitrilo anhidro (100 ml) y se añadió K_2CO_3 anhidro (2,9 g, 21,5 mmol). Se sometió a reflujo la mezcla de reacción durante 6 h y se enfrió hasta temperatura ambiente. Después de la filtración, se eliminó el disolvente, se disolvió el residuo en DCM (150 ml) y se lavó con agua (2x50 ml). Se separó la fase orgánica y se concentró. Se purificó el residuo mediante cromatografía en columna (DCM/MeOH 20:1, 2,9 g, rendimiento cuantitativo). 1H -RMN (acetona- d_6 , 400 MHz): δ 7,66-7,69 (m, 2H), 7,42 (d, 1H, $J=2,0$ Hz), 7,24 (d, 1H, $J=8,8$ Hz), 6,81-6,93 (m, 7H), 3,97 (t, 2H, $J=6,0$ Hz), 3,84 (s, 3H), 3,76 (s, 3H), 3,51 (t, 2H, $J=6,4$ Hz), 2,88-2,91 (m, 2H), 2,63 (t, 2H, $J=6,0$ Hz), 1,95-2,01 (m,

2H), 1,60-1,62 (m, 2H), 1,46-1,53 (m, 2H), 1,21-1,27 (m, 5H); ^{13}C -RMN (acetona- d_6 , 100 MHz): 160,23, 159,01, 155,19, 152,34, 140,57, 137,56, 129,32, 128,77, 127,06, 125,78, 122,64, 116,95, 116,26, 115,28, 115,05, 106,36, 67,30, 62,64, 58,28, 55,90, 55,52, 55,13, 36,32, 33,62, 33,31, 30,90.

5 Compuesto 3. Se disolvió el compuesto 2 (1,1 g, 2,0 mmol) en cloroformo (25 ml), se añadieron CBr_4 (2,7 g, 8,0 mmol) y Ph_3P unida a polímero (2,6 g, de aproximadamente 3 mmol/g), se agitó la mezcla de reacción a t.a. durante la noche. Después de la filtración, se eliminó el disolvente y se purificó el residuo mediante cromatografía en columna (DCM/AcOEt/MeOH 3:1:0,2, 1,1 g, 89%). ^1H -RMN (acetona- d_6 , 400 MHz): 7,68-7,72 (m, 2H), 7,46 (d, 1H, J=2,0 Hz), 7,25 (d, 1H, J=8,8 Hz), 6,84-6,97 (m, 7H), 4,00 (t, 2H, J=6,0 Hz), 3,87 (s, 3H), 3,80 (s, 3H), 3,47 (s, 2H, J=6,8 Hz), 2,91-2,94 (m, 2H), 2,67 (t, 2H, J=6,0 Hz), 1,99-2,04 (m, 2H), 1,82-1,89 (m, 2H), 1,62-1,65 (m, 2H), 1,32-1,37 (m, 2H), 1,15-1,24 (m, 3H); ^{13}C -RMN (acetona- d_6 , 100 MHz): 160,35, 159,12, 155,29, 152,43, 140,64, 137,63, 129,38, 128,82, 127,10, 125,63, 122,68, 117,00, 116,36, 115,37, 115,12, 106,43, 67,43, 58,30, 55,96, 55,58, 55,06, 35,83, 35,78, 34,98, 33,22, 30,98.

15 Compuesto 4. Se disolvió el compuesto 3 (110 mg, 0,18 mmol) en acetonitrilo anhidro (3 ml), se añadió AgNO_3 (306 mg, 1,8 mmol). Se agitó la mezcla de reacción a t.a. durante 24 h. Se eliminó el disolvente y se purificó el residuo mediante cromatografía en columna (DCM/AcOEt/MeOH 2:1:0,25, 85 mg, 79%). ^1H -RMN (acetona- d_6 , 400 MHz): δ 7,66-7,72 (m, 2H), 7,43 (d, 1H, J=2,0 Hz), 7,25 (d, 1H, J=8,8 Hz), 6,82-6,95 (m, 7H), 4,49 (t, 2H, J=6,8 Hz), 3,98 (t, 2H, J=6,0 Hz), 3,85 (s, 3H), 3,77 (s, 3H), 2,89-2,92 (m, 2H), 2,64 (t, 2H, J=2,0 Hz), 1,97-2,02 (m, 2H), 1,67-1,73 (m, 2H), 1,61-1,64 (m, 2H), 1,13-1,34 (m, 5H); ^{13}C -RMN (acetona- d_6 , 100 MHz): δ 160,30, 159,07, 155,25, 152,39, 140,62, 137,61, 129,36, 128,81, 127,09, 125,62, 122,67, 116,99, 116,32, 115,32, 115,09, 106,41, 74,69, 67,40, 58,27, 55,94, 55,56, 54,99, 36,03, 33,09, 24,64.

25 Compuesto 5. Se disolvió el compuesto 3 (240 mg, 0,39 mmol) en DCM (5 ml), se añadió disolución de HCl-éter (2,0 M, 1,0 ml). Se agitó la mezcla de reacción a 4°C durante 2 h. Se eliminó el disolvente, volvió a disolverse el residuo en DCM (10 ml), se enfrió en un baño de agua helada, se añadió gota a gota BBr_3 en DCM (1,0 M, 1 ml). Se agitó la mezcla de reacción a 4°C durante 3 h y luego a t.a. durante otra hora. Se vertió la mezcla de reacción en agua helada (50 ml), se neutralizó con NaHCO_3 y se extrajo con AcOEt (3×30 ml). Se combinó la disolución orgánica y se concentró. Se purificó el residuo mediante cromatografía en columna (DCM/MeOH 50:3, 160 mg, 70%). ^1H -RMN (acetona- d_6 , 400 MHz): δ 7,59-7,62 (m, 2H), 7,32 (d, 1H, J=2,0 Hz), 7,19 (d, 1H, J=8,8 Hz), 6,83-6,89 (m, 7H), 4,06 (t, 2H, J=5,9 Hz), 3,47 (t, 2H, J=6,7 Hz), 3,01-3,04 (m, 2H), 2,77 (t, 2H, J=5,9 Hz), 2,11-2,17 (m, 2H), 1,82-1,90 (m, 2H), 1,65-1,67 (m, 2H), 1,22-1,38 (m, 5H); ^{13}C -RMN (acetona- d_6 , 100 MHz): δ 158,14, 156,63, 154,99, 152,52, 140,31, 137,46, 129,41, 128,06, 126,60, 124,59, 122,67, 116,97, 116,54, 116,30, 115,64, 108,79, 66,85, 58,04, 54,83, 35,61, 35,52, 34,95, 32,68, 30,90.

35 Compuesto 6. Se disolvió el compuesto 5 (300 mg, 0,52 mmol) en DCM (10 ml), se añadieron piridina (0,84 ml, 10,3 mmol) y Ac_2O (0,34 ml, 3,6 mmol), se agitó la mezcla de reacción a t.a. durante la noche. Se eliminó el disolvente, volvió a disolverse el residuo en acetato de etilo (50 ml) y se lavó con agua, se separó la disolución orgánica y se concentró. Se purificó el residuo mediante cromatografía en columna, se obtuvo el producto como una espuma ligeramente amarilla (DCM/MeOH 30:1, 298 mg, 87%). ^1H -RMN (acetona- d_6 , 400 MHz): δ 7,83 (d, 2H, J=8,4 Hz), 7,74 (d, 1H, J=2,0 Hz), 7,40 (d, 1H, J=8,8 Hz), 7,19 (d, 2H, J=8,8 Hz), 7,10 (dd, 1H, J=8,8 Hz, 2,0 Hz), 6,86-6,93 (m, 4H), 4,05 (t, 2H, J=6,0 Hz), 3,47 (t, 2H, J=6,8 Hz), 2,95-2,98 (m, 2H), 2,71 (t, 2H, J=6,0 Hz), 2,29 (s, 3H), 2,26 (s, 3H), 2,06-2,11 (m, 2H), 1,82-1,89 (m, 2H), 1,64-1,66 (m, 2H), 1,32-1,38 (m, 2H), 1,20-1,28 (m, 3H); ^{13}C -RMN (acetona- d_6 , 100 MHz): 169,75, 169,46, 155,42, 152,20, 151,79, 149,90, 141,64, 136,84, 132,49, 130,24, 129,33, 129,24, 123,25, 122,81, 120,61, 117,13, 116,89, 116,46, 67,17, 58,12, 54,93, 35,69, 35,66, 34,98, 32,96, 30,94, 20,93.

50 Compuesto 7. Se disolvió el compuesto 6 (280 mg, 0,45 mmol) en acetonitrilo anhidro (15 ml), se añadió AgNO_3 (1,1 g, 1,8 mmol). Se agitó la mezcla de reacción a t.a. durante 24 h. Después de la filtración, se eliminó el disolvente y se purificó el residuo mediante cromatografía en columna, se obtuvo el producto como una espuma ligeramente amarilla (DCM/MeOH 30:1, 190 mg, 70%). ^1H -RMN (acetona- d_6 , 400 MHz): δ 7,81 (d, 2H, J=8,8 Hz), 7,71 (d, 1H, J=2,0 Hz), 7,38 (d, 1H, J=8,8 Hz), 7,17 (d, 2H, J=8,8 Hz), 7,08 (dd, 1H, J=8,8 Hz, 2,0 Hz), 6,82-6,92 (m, 4H), 4,48 (t, 2H, J=6,8 Hz), 4,00 (t, 2H, J=6,0 Hz), 2,92-2,95 (m, 2H), 2,68 (t, 2H, J=6,0 Hz), 2,27 (s, 3H), 2,24 (s, 3H), 2,02-2,04 (m, 2H), 1,61-1,74 (m, 4H), 1,16-1,31 (m, 5H); ^{13}C -RMN (acetona- d_6 , 100 MHz): δ 169,69, 169,41, 155,34, 152,12, 151,70, 149,82, 141,58, 136,77, 132,44, 130,19, 129,25, 129,19, 123,18, 122,77, 120,53, 117,08, 116,82, 116,38, 74,65, 67,09, 58,07, 54,85, 35,83, 32,96, 32,79, 24,58, 20,93.

60 Compuesto 8. Método A: se disolvió el compuesto 5 (55 mg, 0,095 mmol) en acetonitrilo anhidro (2 ml), se añadió AgNO_3 (160 mg, 0,95 mmol). Se agitó la mezcla de reacción a t.a. durante la noche. Después de la filtración, se eliminó el disolvente y se purificó el residuo mediante cromatografía en columna (DCM/AcOEt/MeOH 3:1:0,3), se obtuvo el producto como una espuma blanca (15 mg, 28%). Método B: se disolvió el compuesto 5 (100 mg, 0,17 mmol) en acetonitrilo anhidro (5 ml), se añadió nitrato de tetrabutilamonio (523 mg, 1,7 mmol). Se calentó la mezcla de reacción a 70°C durante 8 h. Se eliminó el disolvente y se purificó el residuo repetidamente mediante cromatografía en columna (DCM/AcOEt/MeOH 3:1:0,3) tres veces, se obtuvo el producto como una espuma blanca (68 mg, 70%). Método C: se disolvió el compuesto 7 (130 mg, 0,2 mmol) en una mezcla de THF-MeOH- H_2O (4,5 ml,

10

Síntesis de NO-SERM 13 y 14



20

25

(acetona-d₆, 400 MHz): δ 7,60 (d, 2H, J=8,8 Hz), 7,56 (d, 1H, J=2,0 Hz), 7,26 (d, 1H, J=8,8 Hz), 7,01 (dd, 1H, J=2,0 Hz, 8,8 Hz), 6,83-6,89 (m, 6H), 5,26 (s, 2H), 4,18 (t, 2H, J=5,6 Hz), 3,45 (s, 3H), 3,02 (t, 2H, J=5,6 Hz), 2,84 (pico ancho, 4H), 1,94 (s, 3H), 1,65-1,70 (m, 4H), 1,48-1,50 (m, 2H); ¹³C-RMN (acetona-d₆, 100 MHz): 172,86, 158,54, 156,36, 154,66, 152,66, 140,08, 137,09, 129,79, 129,55, 128,31, 124,24, 122,52, 117,02, 116,64, 116,47, 116,43, 109,84, 95,42, 65,64, 57,54, 56,10, 54,79, 25,18, 23,77, 20,96.

Compuesto 12. Se disolvió el compuesto 10 (40 mg, 0,07 mmol) en DCM (20 ml) y se lavó con NaHCO₃ saturado (2×10 ml), se separó la fase orgánica, se concentró y se secó a alto vacío durante 1 h. Se disolvió el residuo en DCM (2 ml), se añadieron sucesivamente DIPEA (116 μ l, 0,7 mmol), DMAP (8,5 mg, 0,07 mmol), compuesto 11 (16,9 mg, 0,11 mmol) y EDCI (27 mg, 0,14 mmol). Se agitó la mezcla de reacción a t.a. durante 3 h, se diluyó con DCM (20 ml), se lavó con NaHCO₃ acuoso (10 ml) y H₂O (10 ml), se separó la fase orgánica y se concentró. Se purificó el residuo mediante cromatografía en columna (acetato de etilo/MeOH 30:1), se obtuvo el producto como un aceite ligeramente amarillo (30 mg, 65%). ¹H-RMN (acetona-d₆, 400 MHz): δ 7,81-7,83 (m, 2H), 7,60 (d, 1H, J=2,0 Hz), 7,31 (d, 1H, J=8,8 Hz), 7,18-7,21 (m, 2H), 7,03 (dd, 1H, J=8,8 Hz, 2,0 Hz), 6,84-6,92 (m, 4H), 5,27 (s, 2H), 4,86 (s, 2H), 4,00 (t, 2H, J=6,0 Hz), 3,46 (s, 3H), 2,65 (t, 2H, J=6,0 Hz), 2,45 (pico ancho, 4H), 1,58-1,61 (m, 2H), 1,49-1,54 (m, 4H), 1,35-1,40 (m, 4H); ¹³C-RMN (acetona-d₆, 100 MHz): 171,46, 156,82, 155,43, 152,23, 151,15, 141,89, 137,74, 130,92, 129,45, 129,12, 126,70, 123,10, 123,01, 117,10, 116,75, 116,38, 109,78, 95,39, 76,53, 67,31, 58,66, 56,15, 55,65, 26,76, 24,98, 22,35, 15,36.

Compuesto 13. Se disolvió el compuesto 12 (30 mg, 0,046 mmol) en una mezcla de DCM (2 ml) y EtOH (0,5 ml), se añadió TsOH·H₂O (20 mg, 0,11 mmol). Se agitó la mezcla de reacción a 40°C hasta que se consumió todo el material de partida. Después de la dilución con DCM (25 ml) y el lavado con NaHCO₃ saturado (2×5 ml), se separó la fase orgánica y se concentró. Se purificó el residuo mediante cromatografía en columna (DCM/MeOH 25:2), se obtuvo el producto como una espuma ligeramente amarilla (16 mg, 58%). ¹H-RMN (THF-d₈, 400 MHz): δ 7,43 (d, 2H, J=8,8 Hz), 7,15-7,17 (m, 2H), 7,08 (d, 2H, J=8,8 Hz), 6,85 (d, 2H, J=9,2 Hz), 6,78 (d, 2H, J=9,2 Hz), 6,73 (dd, 1H, J=2,0 Hz, 8,8 Hz), 4,76 (s, 2H), 4,00 (t, 2H, J=6,0 Hz), 2,70 (t, 2H, J=6,0 Hz), 2,51 (pico ancho, 4H), 1,51-1,59 (m, 6H), 1,38-1,43 (m, 4H); ¹³C-RMN (THF-d₈, 100 MHz): 171,04, 157,50, 155,36, 152,52, 150,98, 142,16, 138,22, 131,34, 128,83, 127,76, 125,04, 123,19, 122,62, 117,02, 116,21, 115,57, 108,61, 76,32, 68,22, 58,68, 55,76, 26,72, 24,92, 22,44, 15,19.

Compuesto 14. Se disolvieron 4'FDMA (155 mg, 0,33 mmol), DIPEA (330 μ l, 2,0 mmol), DMAP (30 mg, 0,25 mmol), compuesto 14 (82 mg, 0,51 mmol) en DCM (5 ml), se añadió EDCI (134 mg, 0,7 mmol) a esta disolución. Se agitó la reacción a t.a. durante la noche. Se diluyó la mezcla de reacción con acetato de etilo (50 ml), se lavó con agua y se concentró. Se purificó el residuo mediante cromatografía en columna (DCM/MeOH 25:1), se obtuvo el producto como una espuma blanca (151 mg, 74%). ¹H-RMN (acetona-d₆, 400 MHz): δ 7,82-7,85 (m, 2H), 7,78 (d, 1H, J=1,6 Hz), 7,41 (d, 1H, J=8,8 Hz), 7,18-7,23 (m, 2H), 7,13 (dd, 1H, J=8,4 Hz, 2,0 Hz), 6,85-6,92 (m, 4H), 4,89 (s, 2H), 4,03 (t, 2H, J=6,0 Hz), 2,69 (t, 2H, J=6,0 Hz), 2,49 (pico ancho, 4H), 1,62-1,65 (m, 2H), 1,50-1,55 (m, 4H), 1,38-1,41 (m, 4H); ¹³C-RMN (acetona-d₆, 100 MHz): δ 171,73, 164,54, 162,09, 155,46, 152,17, 149,59, 141,51, 136,81, 132,65, 130,51, 130,43, 129,19, 129,16, 122,88, 120,38, 117,11, 116,83, 116,61, 116,46, 76,54, 67,16, 58,53, 55,56, 26,59, 24,84, 22,40, 15,43.

Ejemplo 13

Farmacocinética de SEM en ratones

Se han preparado profármacos SEM usando técnicas convencionales de química orgánica que pueden aumentarse de escala. Se prepararán SEM con propiedades antitrombóticas usando la estrategia descrita anteriormente para los NO-SERM (por ejemplo, los compuestos 8, 13 y 14). Se verificará la estabilidad metabólica en incubaciones microsómicas hepáticas humanas e intestinales humanas y en plasma, con o sin esterasa (PLE). Los SEM con alta estabilidad, metabolitos oxidativos mínimos y bioactivación enzimática eficiente a TTC-352 [es decir, 3-(4-fluorofenil)-2-(4-hidroxifenoxi)benzo[b]tiofen-6-ol] avanzarán a los estudios farmacocinéticos.

A ratones atímicos de 4 a 6 semanas de edad desnudos sometidos a ovariectomía (OVX) se les administrará TTC-352 y no más de 3 profármacos SEM y/o NO-SEM por zona gástrica en etanol usando un vehículo de propilenglicol/carboximetilcelulosa a una única dosis de 4,4 μ mol (equivalente a 1,5 mg/día usados en estudios de xenoinjerto). Se extraerán muestras de sangre a los 20 min, las 2 h y 6 h después del tratamiento, usando EDTA como anticoagulante. Se separará el plasma de la sangre completa mediante centrifugación a 4°C y se analizarán inmediatamente las muestras para determinar el profármaco y el fármaco usando CL-EM/EM.

Ejemplo 14

Eficacia de los profármacos SEM y NO-SEM en el crecimiento tumoral de xenoinjerto resistente a TAM

Se usarán los modelos de tumor de xenoinjerto T47D-Tam1 y T47D/PKC α para evaluar la eficacia de 2 tratamientos con SEM a 2 dosis (4,4 μ mol y 0,44 μ mol/día, basándose en los datos mostrados en la figura 11). Se harán crecer

los tumores en ratones atímicos sometidos a OVX y tratadas una vez que el volumen tumoral alcance aproximadamente 0,5 cm². Se comparará la respuesta a los SEM y/o NO-SEM con el tratamiento habitual (por ejemplo, tamoxifeno).

5 Ejemplo 15

Confirmación del mecanismo de acción

10 Para tumores tratados por SEM y/o NO-SEM, se evaluarán los biomarcadores de PKC α y ER mediante inmunohistoquímica. Se medirá la actividad anticoagulante *ex vivo*.

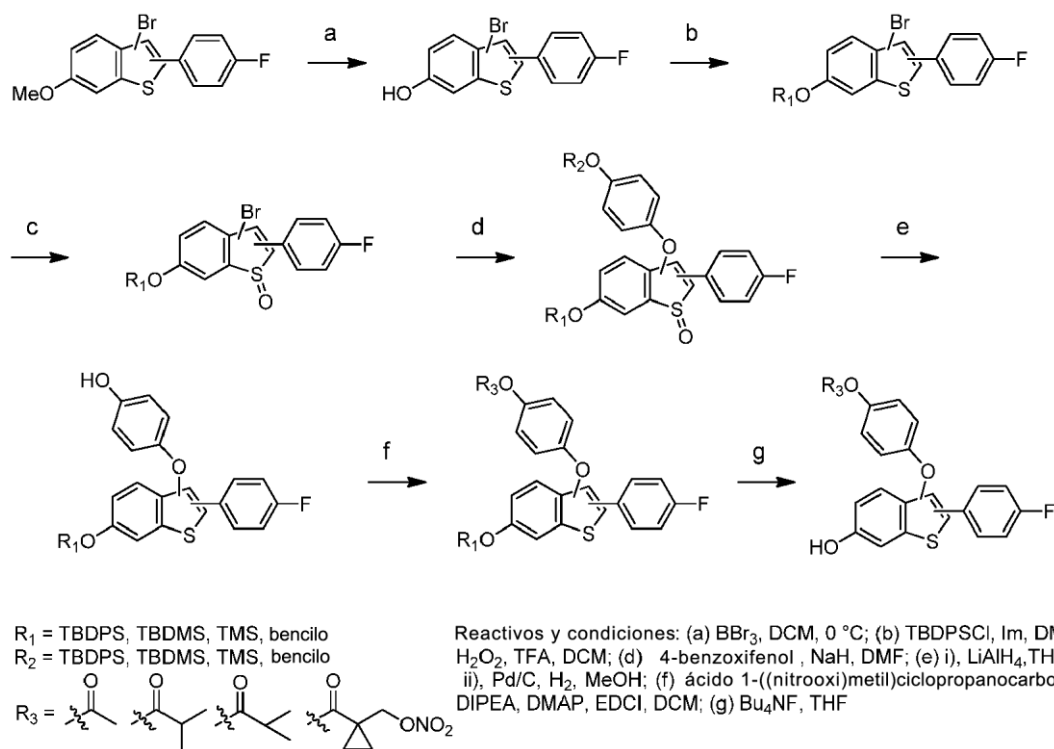
Se entiende que la descripción detallada anterior y los ejemplos que la acompañan son simplemente ilustrativos y no deben interpretarse como limitaciones del alcance de la invención, que se define únicamente por las reivindicaciones adjuntas y sus equivalentes.

15 Diversos cambios y modificaciones de las realizaciones dadas a conocer resultarán evidentes para los expertos en la técnica. Tales cambios y modificaciones, incluyendo, sin limitación, aquellas que se refieren a las estructuras químicas, los sustituyentes, los derivados, los productos intermedios, las síntesis, las composiciones, las formulaciones o los métodos de uso de la invención, pueden realizarse sin apartarse del espíritu y alcance de la misma.

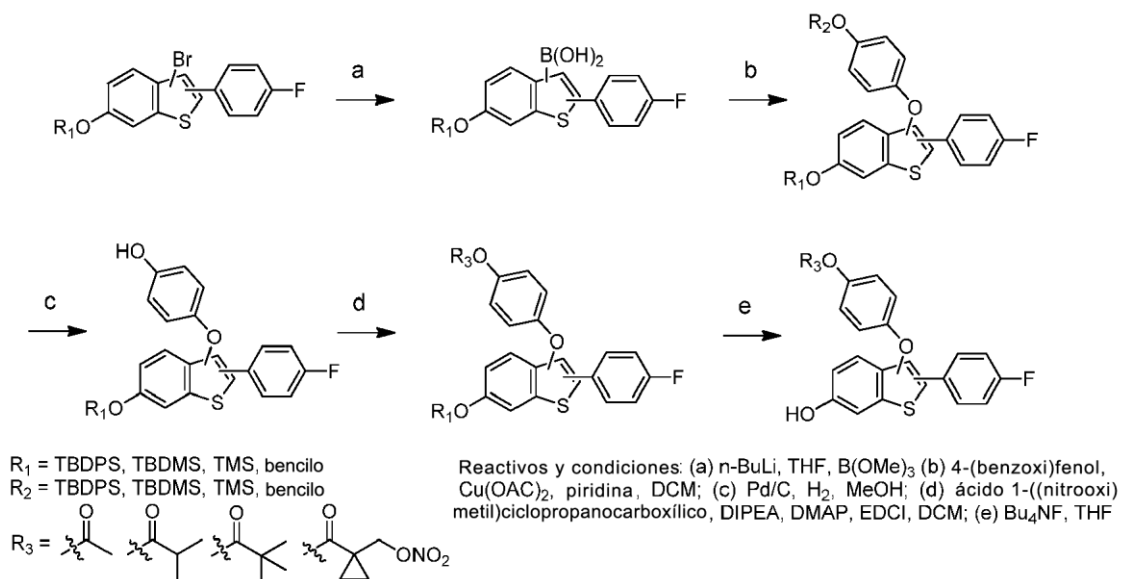
Ejemplo 16

Síntesis de un compuesto de fórmula (I)

Esquema 1

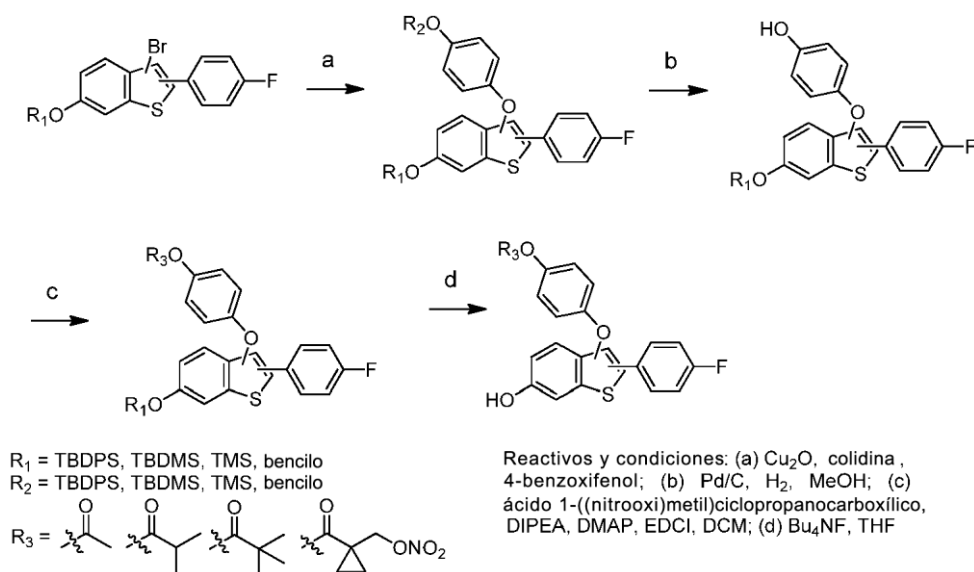


Esquema 2



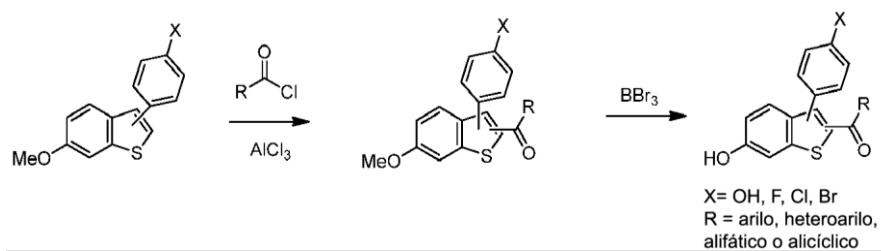
5

Esquema 3



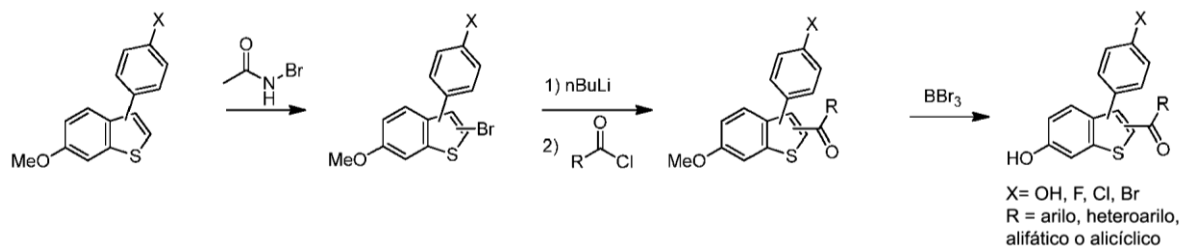
10

Esquema 4



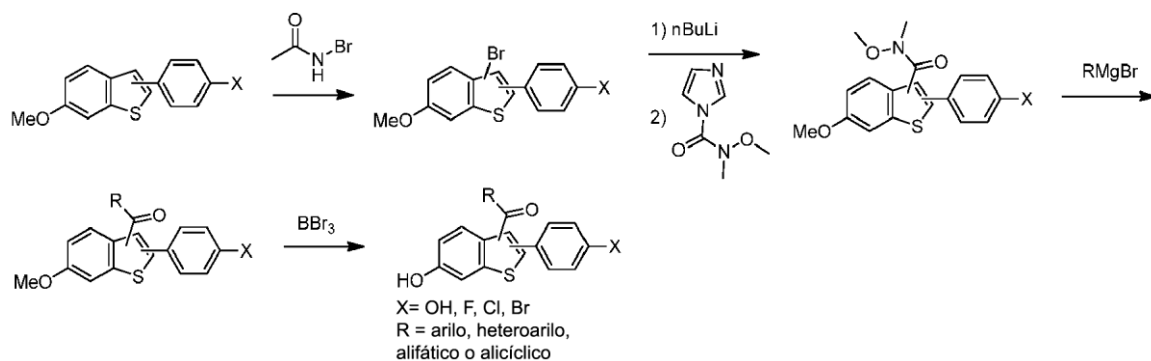
15

Esquema 5



5

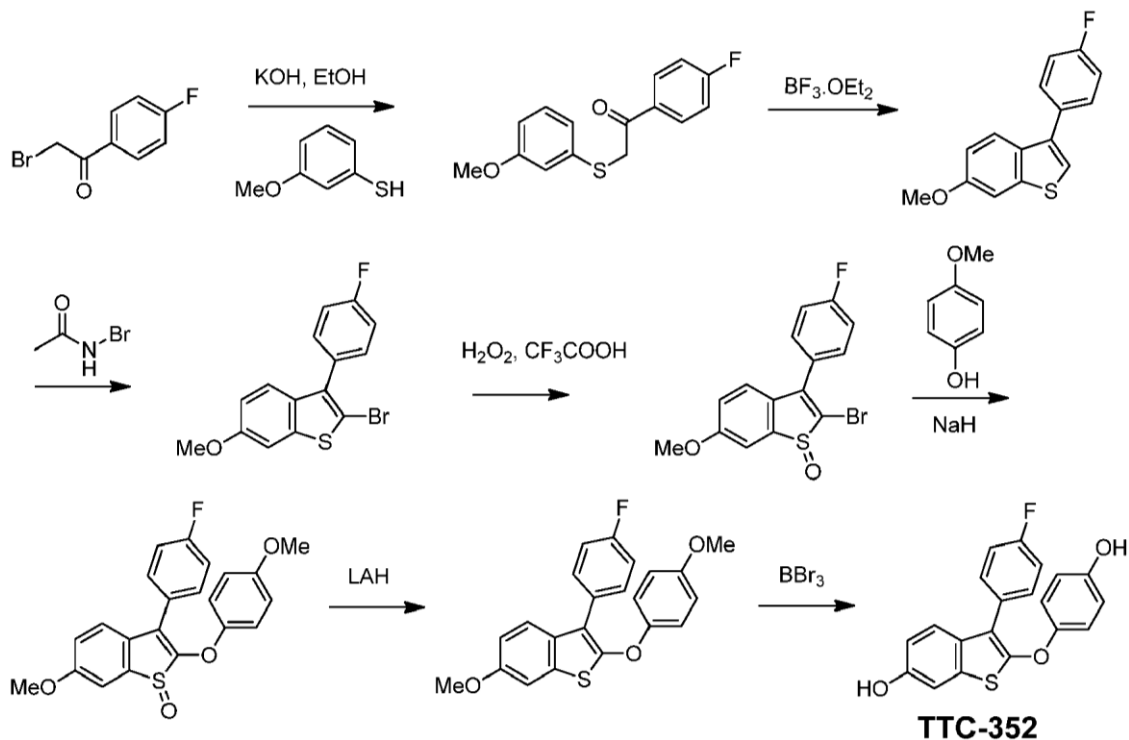
Esquema 6



Puede prepararse un compuesto de fórmula (Ic) o fórmula (II) según los métodos ilustrados en el esquema 4, 5 ó 6.

10

Esquema 7



15 Puede prepararse el compuesto 3-(4-fluorofenil)-2-(4-hidroxifenoxi)benzo[b]tiofen-6-ol (TTC-352) tal como se describió anteriormente en el esquema 7 y en los siguientes ejemplos.

1-(4-Fluorofenil)-2-(3-metoxifenilsulfanil)etanona. Se añadió 3-metoxibencenotiol (1 g, 7,1 mmol) en una porción a una disolución recién preparada de 7,5 ml de etanol, 3 ml de agua y 470 mg de KOH (8,4 mmol). Se enfrió la disolución hasta 5-10°C. Se añadió una disolución de 2-bromo-1-(4-fluorofenil)etanona (1,54 g, 7,1 mmol) en 2,5 ml

20

- de EtOAc a esta disolución a una velocidad de tal manera que la temperatura no superó los 25°C y se dejó agitar la mezcla de reacción durante la noche a temperatura ambiente. Se retiraron los disolventes a presión reducida y se sometió a reparto el residuo entre agua y acetato de etilo. Se aisló la fase acuosa y se extrajo varias veces con acetato de etilo, y se lavaron los extractos combinados con porciones consecutivas de HCl al 10%, agua, NaHCO₃ saturado y agua antes de secarse sobre Na₂SO₄ anhidro. Después de la concentración a vacío para dar un aceite, se purificó el producto en bruto mediante cromatografía ultrarrápida [SiO₂, hexano/acetato de etilo (10:1, v/v)] para dar 1,4 g (74%) de producto deseado. ¹H-RMN (300 MHz, DMSO-d₆) δ 3,73 (s, 3H), 4,67 (s, 3H), 6,75 (m, 1H), 6,91 (m, 2H), 7,18 (t, J=8,2 Hz, 1H), 7,34 (t, J=8,9 Hz, 2H), 8,12 (q, J=8,9 Hz, 2H).
- 3-(4-Fluorofenil)-6-metoxibenzo[b]tiofeno. Se cargó un matraz con 1-(4-fluorofenil)-2-(3-metoxifenilsulfanil)etanona y BF₃·OEt₂ bajo una atmósfera de argón a temperatura ambiente. Se agitó la mezcla de reacción hasta que se consumió el material de partida, tal como se monitoriza mediante CCF. Se vertió la mezcla de reacción en NaHCO₃ saturado/agua helada, se agitó 30 min y se extrajo con diclorometano. Se purificó el producto en bruto mediante cromatografía ultrarrápida [SiO₂, hexano/diclorometano (20:1, v/v)]. Se recrystalizaron las fracciones combinadas de la columna para conseguir un producto puro al 50%. ¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 3,89 (s, 3H), 7,02 (dd, 8,9 Hz, 2,2 Hz, 1H), 7,15 (m, 3H), 7,37 (d, 2,2 Hz, 1H), 7,52 (m, 2H), 7,71 (d, 8,9 Hz, 1H), ¹³C-RMN (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 55,62, 105,24, 114,52, 115,50, 115,71, 120,67, 123,30, 130,09, 130,17, 131,96, 132,17, 136,62, 142,07, 157,56, 162,31.
- 2-Bromo-3-(4-fluorofenil)-6-metoxibenzo[b]tiofeno. Se añadió gota a gota N-bromoacetamida (1,46 g, 10,5 mmol) en 10 ml de etanol a una disolución de 3-(4-fluorofenil)-6-metoxibenzo[b]tiofeno (2,58 g, 10 mmol) en 300 ml de CH₂Cl₂ y 20 ml de etanol a temperatura ambiente. Después de agitar la mezcla durante 1 h, se eliminó el disolvente a vacío. A continuación, se sometió a valoración el residuo con etanol y se filtró para dar 3,0 g (89%) del producto deseado. ¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 3,898 (s, 3H), 6,94 (dd, 8,9 Hz, 2,3 Hz, 1H), 7,24 (m, 3H), 7,38 (d, 8,9 Hz, 1H), 7,45 (m, 2H), ¹³C-RMN (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 55,27, 104,1, 109,47, 114,20, 115,14, 115,36, 122,99, 129,57, 131,23, 131,31, 132,29, 135,28, 140,61, 157,36, 162,05.
- 1-Óxido de 2-bromo-3-(4-fluorofenil)-6-metoxibenzo[b]tiofeno. Se añadió gota a gota ácido trifluoroacético (13 ml) a una disolución de 2-bromo-3-(4-fluorofenil)-6-metoxibenzo[b]tiofeno (2,4 g, 7 mmol) en 13 ml de CH₂Cl₂ anhidro. Después de agitar la mezcla durante 5 min, se añadió gota a gota H₂O₂ (1,0 ml, 7 mmol, disolución acuosa al 30%) y se agitó la mezcla resultante durante 2 h a temperatura ambiente. Se añadió bisulfito de sodio (0,3 g) a la disolución, seguido por 5 ml de agua. Se agitó vigorosamente la mezcla durante 30 min y luego se concentró a vacío. Se sometió a reparto el residuo entre CH₂Cl₂ y disolución acuosa de NaHCO₃ saturado (50 ml cada uno). Se separaron las fases y se lavó la fase orgánica con porciones consecutivas de agua, NaHCO₃ saturado y agua, y luego se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró a vacío; se sometió a valoración el residuo con dietil éter y se filtró para dar 2,1 g (84%) del producto deseado.
- 1-Óxido de 3-(4-fluorofenil)-6-metoxi-2-(4-metoxifenoxi)benzo[b]tiofeno. Se añadió NaH (237 mg, 9,9 mmol, dispersión al 60% en aceite mineral) a una disolución de 4-metoxifenol (1,31 g, 59 mmol) en 25 ml de DMF anhidra a temperatura ambiente. Después de agitar la mezcla durante 15 min, se añadió 1-óxido de 2-bromo-3-(4-fluorofenil)-6-metoxibenzo[b]tiofeno (2 g, 5,7 mmol) en pequeñas porciones. Después de agitar la mezcla durante 1 h, se añadieron acetato de etilo y agua, y se lavó la fase orgánica varias veces con agua y luego se secó sobre Na₂SO₄. Se sometió a valoración el residuo con hexano/acetato de etilo (10:1, v/v) y se filtró para producir 2,47 g (89%) del producto deseado.
- 3-(4-Fluorofenil)-6-metoxi-2-(4-metoxifenoxi)benzo[b]tiofeno. Se añadió LiAlH₄ (0,27 g, 7,2 mmol) en pequeñas porciones a una disolución de 1-óxido de 3-(4-fluorofenil)-6-metoxi-2-(4-metoxifenoxi)benzo[b]tiofeno (2,37 g, 4,8 mmol) en 180 ml de THF anhidro bajo argón a 0°C. Después de agitar la mezcla durante 30 min, se extinguió la reacción mediante la lenta adición de 4 ml de NaOH 2,0 M. Se agitó vigorosamente la mezcla durante 30 min y se añadió una mínima cantidad de NaOH 2,0 M para disolver las sales. Luego se sometió a reparto la mezcla entre agua y etanol/acetato de etilo (1:9, v/v). Se aisló la fase acuosa y luego se extrajo varias veces con etanol/acetato de etilo (1:9, v/v). Se combinaron las fases orgánicas, se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro, se concentraron a vacío para dar un aceite y luego se purificaron mediante cromatografía ultrarrápida para dar 1,2 g (67%) del producto deseado.
- 3-(4-Fluorofenil)-2-(4-hidroxifenoxi)benzo[b]tiofen-6-ol (TTC-352). Se disolvió 3-(4-fluorofenil)-6-metoxi-2-(4-metoxifenoxi)benzo[b]tiofeno (1,5 g, 2,9 mmol) en 150 ml de CH₂Cl₂ anhidro y se enfrió hasta 0°C. Se añadió BBr₃ (1,0 M en CH₂Cl₂, 11,6 ml, 11,6 mmol) a esta disolución, seguido por agitación a 0°C durante 4 h. Se extinguió la reacción con NaHCO₃ saturado (100 ml) y se enfrió hasta 0°C. Se aisló la fase acuosa y se extrajo con metanol/acetato de etilo (5:95, v/v) (3 x 100 ml). Se combinaron los extractos orgánicos, se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro, se concentraron a vacío y luego se purificaron mediante cromatografía ultrarrápida [SiO₂, CH₂Cl₂/MeOH (8:1, v/v)] para obtener 1,1 g (75%) del producto deseado. ¹H-RMN (400 MHz, acetona-d₆) δ (ppm) 6,84 (m, 2H), 6,97 (dd, 8,9 Hz, 2,2 Hz, 1H), 7,02 (m, 2H), 7,24 (m, 2H), 7,28 (d, 2,2 Hz, 1H), 7,47 (d, 8,9 Hz, 1H), 7,61 (m, 2H) ¹³C-RMN (100 MHz acetona-d₆) δ (ppm) 162,84, 155,94, 155,02, 153,81, 152,35, 135,21, 132,28, 132,20, 130,90, 130,32, 123,70, 120,81, 119,67, 119,66, 116,95, 116,95, 116,39, 116,17, 115,52, 109,00.

4-((3-(4-Fluorofenil)-6-metoxibenzo[b]tiofen-2-il)oxi)fenol (monometoxil-TTC-352). Elaborado a partir del procedimiento general como TTC-352. ¹H-RMN (400 MHz, acetona-d₆) δ = 7,62 (m, 2H), 7,52 (d, 8,9 Hz, 1H), 7,41 (d, 2,3 Hz, 1H), 7,25 (t, 8,9 Hz, 2H), 7,02 (dd, 9,0 Hz, 2,6 Hz, 3H), 6,83 (d, 9,0 Hz, 2H), 3,86 (s, 3H). ¹³C-RMN (100 MHz, acetona-d₆) δ (ppm) 161,95, 157,52, 154,09, 153,58, 151,34, 134,15, 131,34, 131,26, 130,71, 129,25, 122,60, 119,70, 118,79, 118,79, 116,00, 115,91, 115,46, 115,24, 114,20, 105,89, 55,04.

7. Bibliografía

1. R. Antonicelli, F. Olivieri, V. Morichi, E. Urbani, V. Mais, Prevention of cardiovascular events in early menopause: a possible role for hormone replacement therapy. *Int J Cardiol* 130, 140 (12 de noviembre de 2008).
2. R. T. Turner, B. L. Riggs, T. C. Spelsberg, Skeletal effects of estrogen. *Endocr Rev* 15, 275 (junio de 1994).
3. F. Ba, P. K. Pang, S. T. Davidge, C. G. Benishin, The neuroprotective effects of estrogen in SK-N-SH neuroblastoma cell cultures. *Neurochem Int* 44, 401 (mayo de 2004).
4. L. Fan, S. C. Pandey, R. S. Cohen, Estrogen affects levels of Bcl-2 protein and mRNA in medial amygdala of ovariectomized rats. *J Neurosci Res* 86, 3655 (diciembre de 2008).
5. P. Tanapat, N. B. Hastings, A. J. Reeves, E. Gould, Estrogen stimulates a transient increase in the number of new neurons in the dentate gyrus of the adult female rat. *J Neurosci* 19, 5792 (15 de julio de 1999).
6. L. A. Galea, M. D. Spritzer, J. M. Barker, J. L. Pawluski, Gonadal hormone modulation of hippocampal neurogenesis in the adult. *Hippocampus* 16, 225 (2006).
7. L. A. Galea, Gonadal hormone modulation of neurogenesis in the dentate gyrus of adult male and female rodents. *Brain Res Rev* 57, 332 (marzo de 2008).
8. S. M. Resnick, P. M. Maki, S. Golski, M. A. Kraut, A. B. Zonderman, Effects of estrogen replacement therapy on PET cerebral blood flow and neuropsychological performance. *Horm Behav* 34, 171 (octubre de 1998).
9. P. M. Maki, S. M. Resnick, Longitudinal effects of estrogen replacement therapy on PET cerebral blood flow and cognition. *Neurobiol Aging* 21, 373 (marzo-abril de 2000).
10. D. J. Wegesin, Y. Stern, Effects of hormone replacement therapy and aging on cognition: evidence for executive dysfunction. *Neuropsychol Dev Cogn B Aging Neuropsychol Cogn* 14, 301 (mayo de 2007).
11. J. E. Rossouw *et al.*, Risks and benefits of estrogen plus progestin in healthy postmenopausal women: principal results From the Women's Health Initiative randomized controlled trial. *JAMA* 288, 321 (17 de julio de 2002).
12. S. A. Shumaker *et al.*, The Women's Health Initiative Memory Study (WHIMS): a trial of the effect of estrogen therapy in preventing and slowing the progression of dementia. *Control Clin Trials* 19, 604 (diciembre de 1998).
13. E. S. LeBlanc, J. Janowsky, B. K. Chan, H. D. Nelson, Hormone replacement therapy and cognition: systematic review and meta-analysis. *JAMA* 285, 1489 (21 de marzo de 2001).
14. K. Yaffe, G. Sawaya, I. Lieberburg, D. Grady, Estrogen therapy in postmenopausal women: effects on cognitive function and dementia. *JAMA* 279, 688 (4 de marzo de 1998).
15. R. B. Gibbs, Estrogen therapy and cognition: a review of the cholinergic hypothesis. *Endocr Rev* 31, 224 (abril de 2010).
16. P. M. Maki, E. Sundermann, Hormone therapy and cognitive function. *Hum Reprod Update* 15, 667 (noviembre-diciembre de 2009).
17. P. D. Delmas *et al.*, Effects of raloxifene on bone mineral density, serum cholesterol concentrations, and uterine endometrium in postmenopausal women. *N Engl J Med* 337, 1641 (4 de diciembre de 1997).
18. D. Agnusdei, N. Iori, Raloxifene: results from the MORE study. *J Musculoskelet Neuronal Interact* 1, 127 (diciembre de 2000).
19. E. Siris *et al.*, Effects of raloxifene on fracture severity in postmenopausal women with osteoporosis: results from the MORE study. *Multiple Outcomes of Raloxifene Evaluation. Osteoporos Int* 13, 907 (noviembre de 2002).

20. V. G. Vogel *et al.*, Effects of tamoxifen vs raloxifene on the risk of developing invasive breast cancer and other disease outcomes: the NSABP Study of Tamoxifen and Raloxifene (STAR) P-2 trial. JAMA 295, 2727 (21 de junio 21 de 2006).
- 5 21. F. J. Cohen, S. Watts, A. Shah, R. Akers, L. Plouffe, Jr., Uterine effects of 3-year raloxifene therapy in postmenopausal women younger than age 60. Obstet Gynecol 95, 104 (enero de 2000).
22. K. Yaffe *et al.*, Effect of raloxifene on prevention of dementia and cognitive impairment in older women: the Multiple Outcomes of Raloxifene Evaluation (MORE) randomized trial. Am J Psychiatry 162, 683 (abril de 2005).
- 10 23. E. Barrett-Connor *et al.*, Effects of raloxifene on cardiovascular events and breast cancer in postmenopausal women. N Engl J Med 355, 125 (13 de julio de 2006).
24. A. Saitta *et al.*, Randomized, double-blind, placebo-controlled study on effects of raloxifene and hormone replacement therapy on plasma no concentrations, endothelin-1 levels, and endothelium-dependent vasodilation in postmenopausal women. Arterioscler Thromb Vasc Biol 21, 1512 (septiembre de 2001).
- 15 25. M. H. Wyckoff *et al.*, Plasma membrane estrogen receptors are coupled to endothelial nitric-oxide synthase through Galpha(i). J Biol Chem 276, 27071 (20 de julio de 2001).
- 20 26. T. Simoncini, A. R. Genazzani, J. K. Liao, Nongenomic mechanisms of endothelial nitric oxide synthase activation by the selective estrogen receptor modulator raloxifene. Circulation 105, 1368 (19 de marzo de 2002).
27. O. Khorram, M. Garthwaite, R. R. Magness, Endometrial and myometrial expression of nitric oxide synthase isoforms in pre- and postmenopausal women. J Clin Endocrinol Metab 84, 2226 (junio de 1999).
- 25 28. E. Gkaliagkousi, A. Ferro, Nitric oxide signalling in the regulation of cardiovascular and platelet function. Front Biosci 16, 1873 (2011).
29. A. R. Smith, F. Visioli, B. Frei, T. M. Hagen, Age-related changes in endothelial nitric oxide synthase phosphorylation and nitric oxide dependent vasodilation: evidence for a novel mechanism involving sphingomyelinase and ceramide-activated phosphatase 2A. Aging Cell 5, 391 (octubre de 2006).
- 30 30. B. Jaynes, J. Provias, Significant negative correlations between capillary expressed eNOS and Alzheimer lesion burden. Neurosci Lett 463, 244 (9 de octubre de 2009).
- 35 31. P. M. Maki, Hormone therapy and cognitive function: is there a critical period for benefit? Neuroscience 138, 1027 (2006).
32. B. B. Sherwin, Estrogen therapy: is time of initiation critical for neuroprotection? Nat Rev Endocrinol 5, 620 (noviembre de 2009).
- 40 33. W. A. Rocca, B. R. Grossardt, L. T. Shuster, Oophorectomy, menopause, estrogen, and cognitive aging: the timing hypothesis. Neurodegener Dis 7, 163 (2010).
- 45 34. R. B. Gibbs, Long-term treatment with estrogen and progesterone enhances acquisition of a spatial memory task by ovariectomized aged rats. Neurobiol Aging 21, 107 (enero-febrero de 2000).
35. R. D. Brinton, The healthy cell bias of estrogen action: mitochondrial bioenergetics and neurological implications. Trends Neurosci 31, 529 (octubre de 2008).
- 50 36. Q. G. Zhang *et al.*, C terminus of Hsc70-interacting protein (CHIP)-mediated degradation of hippocampal estrogen receptor-alpha and the critical period hypothesis of estrogen neuroprotection. Proc Natl Acad Sci U S A 108, E617 (30 de agosto de 2011).
- 55 37. C. Stirone, A. Boroujerdi, S. P. Duckles, D. N. Krause, Estrogen receptor activation of phosphoinositide-3 kinase, akt, and nitric oxide signaling in cerebral blood vessels: rapid and long-term effects. Mol Pharmacol 67, 105 (enero de 2005).
38. R. A. Hopper, J. Garthwaite, Tonic and phasic nitric oxide signals in hippocampal long-term potentiation. J Neurosci 26, 11513 (8 de noviembre de 2006).
- 60 39. G. Garthwaite *et al.*, Signaling from blood vessels to CNS axons through nitric oxide. J Neurosci 26, 7730 (19 de julio de 2006).
- 65 40. C. Grohe *et al.*, 17 Beta-estradiol regulates nNOS and eNOS activity in the hippocampus. Neuroreport 15, 89

(19 de enero de 2004).

41. N. Suh *et al.*, Arzoxifene, a new selective estrogen receptor modulator for chemoprevention of experimental breast cancer. *Cancer Res* 61, 8412 (1 de diciembre de 2001).

42. M. Sato *et al.*, LY353381.HCl: a novel raloxifene analog with improved SERM potency and efficacy in vivo. *J Pharmacol Exp Ther* 287, 1 (octubre de 1998).

43. D. Hochner-Celnikier, Pharmacokinetics of raloxifene and its clinical application. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 85, 23 (julio de 1999).

44. A. D. Palkowitz *et al.*, Discovery and synthesis of [6-hydroxy-3-[4-[2-(1-piperidinyl)ethoxy]phenoxy]-2-(4-hydroxyphenyl)]benzo[b]thiophene: a novel, highly potent, selective estrogen receptor modulator. *J Med Chem* 40, 1407 (9 de mayo de 1997).

45. C. R. Overk *et al.*, Structure-activity relationships for a family of benzothiophene selective estrogen receptor modulators including raloxifene and arzoxifene. *ChemMedChem* 2, 1520 (octubre de 2007).

46. G. R. Thatcher, B. M. Bennett, J. N. Reynolds, NO chimeras as therapeutic agents in Alzheimer's disease. *Curr Alzheimer Res* 3, 237 (julio de 2006).

47. G. R. Thatcher, B. M. Bennett, J. N. Reynolds, Nitric oxide mimetic molecules as therapeutic agents in Alzheimer's disease. *Curr Alzheimer Res* 2, 171 (abril de 2005).

48. S. Smith, H. C. Dringenberg, B. M. Bennett, G. R. J. Thatcher, J. N. Reynolds, A novel nitrate ester reverses the cognitive impairment caused by scopolamine in the Morris water maze. *Neuroreport* 11, 3883 (2000).

49. B. M. Bennett *et al.*, Cognitive deficits in rats after forebrain cholinergic depletion are reversed by a novel NO mimetic nitrate ester. *Neuropsychopharmacology* 32, 505 (marzo de 2007).

50. S. O. Abdul-Hay, J. Luo, R. T. Ashghod, G. R. Thatcher, NO-flurbiprofen reduces amyloid-beta, is neuroprotective in cell culture, and enhances cognition in response to cholinergic blockade. *J Neurochem* 111, 766 (noviembre de 2009).

51. S. Abdul-Hay *et al.*, NO-SSRIs: Nitric Oxide Chimera Drugs Incorporating a Selective Serotonin Reuptake Inhibitor. *ACS Med Chem Lett* 2, 656 (8 de septiembre de 2011).

52. Z. Qin *et al.*, Benzothiophene selective estrogen receptor modulators with modulated oxidative activity and receptor affinity. *J Med Chem* 50, 2682 (mayo 31, 2007).

53. R. Abdelhamid *et al.*, Benzothiophene Selective Estrogen Receptor Modulators Provide Neuroprotection by a novel GPR30-dependent Mechanism. *ACS Chem Neurosci* 2, 256 (18 de mayo de 2011).

54. M. K. Dennis *et al.*, In vivo effects of a GPR30 antagonist. *Nat Chem Biol* 5, 421 (junio de 2009).

55. S. Oddo *et al.*, Triple-transgenic model of Alzheimer's disease with plaques and tangles: intracellular Abeta and synaptic dysfunction. *Neuron* 39, 409 (31 de julio de 2003).

56. J. Larson, G. Lynch, D. Games, P. Seubert, Alterations in synaptic transmission and long-term potentiation in hippocampal slices from young and aged PDAPP mice. *Brain Res* 840, 23 (4 de septiembre de 1999).

57. J. Larson, G. Lynch, Role of N-methyl-D-aspartate receptors in the induction of synaptic potentiation by burst stimulation patterned after the hippocampal theta-rhythm. *Brain Res* 441, 111 (16 de febrero de 1988).

58. L. E. Carlson, B. B. Sherwin, Steroid hormones, memory, and mood in a healthy elderly population. *Psychoneuroendocrinology* 23, 583 (agosto de 1998).

59. S. M. Resnick, E. J. Metter, A. B. Zonderman, Estrogen replacement therapy and longitudinal decline in visual memory. A possible protective effect? *Neurology* 49, 1491 (diciembre de 1997).

60. K. Steenland, J. MacNeil, I. Vega, A. Levey, Recent trends in Alzheimer disease mortality in the United States, 1999 to 2004. *Alzheimer Dis Assoc Disord* 23, 165 (abril-junio de 2009).

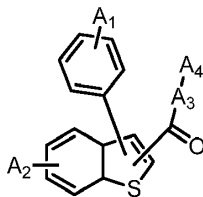
61. D. B. Dubal, P. J. Shughrue, M. E. Wilson, I. Merchenthaler, P. M. Wise, Estradiol Modulates bcl-2 in Cerebral Ischemia: A Potential Role for Estrogen Receptors. *J. Neurosci.* 19, 6385 (1 de agosto de 1999).

62. P. Tanapat, N. B. Hastings, A. J. Reeves, E. Gould, Estrogen Stimulates a Transient Increase in the Number of New Neurons in the Dentate Gyrus of the Adult Female Rat. *J. Neurosci.* 19, 5792 (15 de julio de 1999).
- 5 63. J. Zhou, H. Zhang, R. S. Cohen, S. C. Pandey, Effects of estrogen treatment on expression of brain-derived neurotrophic factor and cAMP response element-binding protein expression and phosphorylation in rat amygdaloid and hippocampal structures. *Neuroendocrinology* 81, 294 (2005).
- 10 64. K. Yaffe *et al.*, Effect of Raloxifene on Prevention of Dementia and Cognitive Impairment in Older Women: The Multiple Outcomes of Raloxifene Evaluation (MORE) Randomized Trial. *Am J Psychiatry* 162, 683 (1 de abril de 2005).
65. K. Yaffe *et al.*, Cognitive function in postmenopausal women treated with raloxifene. *N Engl J Med* 344, 1207 (19 de abril de 2001).
- 15 66. D. E. Jacobsen, M. M. Samson, M. H. Emmelot-Vonk, H. J. Verhaar, Raloxifene improves verbal memory in late postmenopausal women: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Menopause*, (14 de noviembre de 2009).
- 20 67. X. Wu *et al.*, Raloxifene and estradiol benzoate both fully restore hippocampal choline acetyltransferase activity in ovariectomized rats. *Brain Research* 847, 98 (1999).
68. R. B. Gibbs, R. Gabor, T. Cox, D. A. Johnson, Effects of raloxifene and estradiol on hippocampal acetylcholine release and spatial learning in the rat. *Psychoneuroendocrinology* 29, 741 (2004).
- 25 69. I. Ciriza, P. Carrero, I. Azcoitia, S. G. Lundeen, L. M. Garcia-Segura, Selective estrogen receptor modulators protect hippocampal neurons from kainic acid excitotoxicity: differences with the effect of estradiol. *J Neurobiol* 61, 209 (noviembre de 2004).
- 30 70. O. N. Kokiko, A. K. Murashov, M. R. Hoane, Administration of raloxifene reduces sensorimotor and working memory deficits following traumatic brain injury. *Behav Brain Res* 170, 233 (30 de junio de 2006).
71. R. Goekoop *et al.*, Raloxifene Treatment Enhances Brain Activation during Recognition of Familiar Items: a Pharmacological fMRI Study in Healthy Elderly Males. *Neuropsychopharmacology* 31, 1508 (2005).
- 35 72. R. Goekoop *et al.*, Raloxifene exposure enhances brain activation during memory performance in healthy elderly males; its possible relevance to behavior. *NeuroImage* 25, 63 (2005).
73. E. R. Prossnitz, M. Barton, The G-protein-coupled estrogen receptor GPER in health and disease. *Nat Rev Endocrinol* 7, 715 (diciembre de 2011).
- 40 74. R. Hammond, R. B. Gibbs, GPR30 is positioned to mediate estrogen effects on basal forebrain cholinergic neurons and cognitive performance. *Brain Res* 1379, 53 (16 de marzo de 2011).
- 45 75. J. Nilsen, S. Chen, R. D. Brinton, Dual action of estrogen on glutamate-induced calcium signaling: mechanisms requiring interaction between estrogen receptors and src/mitogen activated protein kinase pathway. *Brain Res* 930, 216 (15 de marzo de 2002).
76. J. Nilsen, R. Diaz Brinton, Mechanism of estrogen-mediated neuroprotection: regulation of mitochondrial calcium and Bcl-2 expression. *Proc Natl Acad Sci U S A* 100, 2842 (4 de marzo de 2003).
- 50 77. T. W. Wu, J. M. Wang, S. Chen, R. D. Brinton, 17Beta-estradiol induced Ca²⁺ influx via L-type calcium channels activates the Src/ERK/cyclic-AMP response element binding protein signal pathway and BCL-2 expression in rat hippocampal neurons: a potential initiation mechanism for estrogen-induced neuroprotection. *Neuroscience* 135, 59 (2005).
- 55 78. A. Parcellier, L. A. Tintignac, E. Zhuravleva, B. A. Hemmings, PKB and the mitochondria: AKTing on apoptosis. *Cell Signal* 20, 21 (enero de 2008).
79. R. Sterniczuk, M. C. Antle, F. M. Laferla, R. H. Dyck, Characterization of the 3xTg-AD mouse model of Alzheimer's disease: part 2. Behavioral and cognitive changes. *Brain Res* 1348, 149 (12 de agosto de 2010).
- 60 80. M. R. Meyer *et al.*, Deletion of G protein-coupled estrogen receptor increases endothelial vasoconstriction. *Hypertension* 59, 507 (febrero de 2012).
- 65 81. Y. C. Chan *et al.*, Raloxifene improves vascular reactivity in pressurized septal coronary arteries of ovariectomized hamsters fed cholesterol diet. *Pharmacol Res* 65, 182 (febrero de 2012).

82. G. A. Figtree, Y. Lu, C. M. Webb, P. Collins, Raloxifene acutely relaxes rabbit coronary arteries in vitro by an estrogen receptor-dependent and nitric oxide-dependent mechanism. *Circulation* 100, 1095 (7 de septiembre de 1999).
83. R. T. Bartus, R. L. Dean, 3rd, B. Beer, A. S. Lippa, The cholinergic hypothesis of geriatric memory dysfunction. *Science* 217, 408 (30 de julio de 1982).
84. E. J. Mufson *et al.*, Mild cognitive impairment: pathology and mechanisms. *Acta Neuropathol* 123, 13 (enero de 2012).
85. J. Buccafusco, in *Methods of Behavior Analysis in Neuroscience*, J. Buccafusco, Ed. (CRC Press, Boca Raton (FL), 2009).
86. S. Arlt *et al.*, Dimethylarginines, homocysteine metabolism, and cerebrospinal fluid markers for Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis* 31, 751 (2012).
87. M. L. Selley, Increased (E)-4-hydroxy-2-nonenal and asymmetric dimethylarginine concentrations and decreased nitric oxide concentrations in the plasma of patients with major depression. *J Affect Disord* 80, 249 (junio de 2004).
88. Y. C. Luiking, G. A. Ten Have, R. R. Wolfe, N. E. Deutz, Arginine de novo and nitric oxide production in disease states. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 303, E1177 (noviembre de 2012).
89. R. H. Foxton, J. M. Land, S. J. Heales, Tetrahydrobiopterin availability in Parkinson's and Alzheimer's disease; potential pathogenic mechanisms. *Neurochem Res* 32, 751 (abril-mayo de 2007).
90. S. Cantara, P. E. Thorpe, M. Ziche, S. Donnini, TAT-BH4 counteracts Abeta toxicity on capillary endothelium. *FEBS Lett* 581, 702 (20 de febrero de 2007).
91. N. Ferlazzo *et al.*, The 894G > T (Glu298Asp) variant in the endothelial NOS gene and MTHFR polymorphisms influence homocysteine levels in patients with cognitive decline. *Neuromolecular Med* 13, 167 (septiembre de 2011).
92. D. M. Jans *et al.*, Processing of amyloid precursor protein as a biochemical link between atherosclerosis and Alzheimer's disease. *Cardiovasc Hematol Disord Drug Targets* 6, 21 (marzo de 2006).
93. S. Taddei *et al.*, Menopause is associated with endothelial dysfunction in women. *Hypertension* 28, 576 (octubre de 1996).
94. C. A. Colton *et al.*, NO synthase 2 (NOS2) deletion promotes multiple pathologies in a mouse model of Alzheimer's disease. *Proc Natl Acad Sci U S A* 103, 12867 (22 de agosto de 2006).
95. L. Ridnour *et al.*, Nitric Oxide-Mediated Regulation of beta-Amyloid Clearance via Alterations of MMP-9/TIMP-1. *J Neurochem*, (27 de septiembre de 2012).
96. H. Liu, J. Liu, R. B. van Breemen, G. R. J. Thatcher, J. L. Bolton, Bioactivation of the selective estrogen receptor modulator desmethylated arzoxifene to quinoids: 4'-fluoro substitution prevents quinoid formation. *Chem Res Toxicol* 18, 162 (febrero de 2005).
97. E. A. Kramar *et al.*, Cytoskeletal changes underlie estrogen's acute effects on synaptic transmission and plasticity. *J Neurosci* 29, 12982 (14 de octubre de 2009).
98. I. T. Schiefer, L. Vandevrede, M. Fa, O. Arancio, G. R. Thatcher, Furoxans (1,2,5-Oxadiazole-N-Oxides) as Novel NO Mimetic Neuroprotective and Procognitive Agents. *J Med Chem* 55, 3076 (12 de abril de 2012).
99. Z. Qin *et al.*, Design and synthesis of neuroprotective methylthiazoles and modification as NO-chimeras for neurodegenerative therapy. *J Med Chem* 55, 6784 (9 de agosto de 2012).
100. H. Liu, Z. Qin, G. R. Thatcher, J. L. Bolton, Uterine peroxidase-catalyzed formation of diquinone methides from the selective estrogen receptor modulators raloxifene and desmethylated arzoxifene. *Chem Res Toxicol* 20, 1676 (noviembre de 2007).
101. V. Toader *et al.*, Nitrosation, Nitration, and Autoxidation of the Selective Estrogen Receptor Modulator Raloxifene by Nitric Oxide, Peroxynitrite, and Reactive Nitrogen/Oxygen Species *Chem. Res. Toxicol.* 2003, 16. 1264-1276

REIVINDICACIONES

1. Compuesto de fórmula (II)



(II),

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo,

en el que

A₁ se selecciona del grupo que consiste en halógeno, trifluorometilo y -OR₁;

A₂ se selecciona del grupo que consiste en halógeno, trifluorometilo y -OR₂;

A₃ se selecciona del grupo que consiste en alquilo, arilo, cicloalquilo, cicloalquilalquilo, heterociclo y heteroarilo;

A₄ se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, halógeno, alquilo, ciano, trifluorometilo, aril-heteroarilo, en el que el arilo está sustituido o no sustituido, y -OR₃;

R₁ se selecciona del grupo que consiste en -SO₃R^{x1}, -PO₃R^{y1}R^{z1}, y -C(=O)R^a;

R₂ y R₃ se seleccionan cada uno independientemente del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo, -SO₃R^{x1}, -PO₃R^{y1}R^{z1}, y -C(=O)R^a;

R^{x1}, R^{y1} y R^{z1}, en cada aparición, se seleccionan independientemente del grupo que consiste en hidrógeno y un catión farmacéuticamente aceptable; y

R^a es alquilo o -OH.

2. Compuesto según la reivindicación 1, seleccionado del grupo que consiste en:

(2-(4-fluorofenil)-6-hidroxibenzo[b]tiofen-3-il)(4-(trifluorometil)fenil)metanona;

(3-(4-fluorofenil)-6-hidroxibenzo[b]tiofen-2-il)(4-(trifluorometil)fenil)metanona;

ciclopropil(2-(4-fluorofenil)-6-hidroxibenzo[b]tiofen-3-il)metanona;

ciclopropil(3-(4-fluorofenil)-6-hidroxibenzo[b]tiofen-2-il)metanona;

(2-(4-fluorofenil)-6-hidroxibenzo[b]tiofen-3-il)(piridin-4-il)metanona;

(3-(4-fluorofenil)-6-hidroxibenzo[b]tiofen-2-il)(piridin-4-il)metanona;

1-(2-(4-fluorofenil)-6-hidroxibenzo[b]tiofen-3-il)-2-metilpropan-1-ona;

1-(3-(4-fluorofenil)-6-hidroxibenzo[b]tiofen-2-il)-2-metilpropan-1-ona;

(4-etinilfenil)(2-(4-fluorofenil)-6-hidroxibenzo[b]tiofen-3-il)metanona;

(4-etinilfenil)(3-(4-fluorofenil)-6-hidroxibenzo[b]tiofen-2-il)metanona;

(2-(4-fluorofenil)-6-hidroxibenzo[b]tiofen-3-il)(p-tolil)metanona;

(3-(4-fluorofenil)-6-hidroxibenzo[b]tiofen-2-il)(p-tolil)metanona;

(4-(1-(4-fluorofenil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)fenil)(2-(4-fluorofenil)-6-hidroxibenzo[b]tiofen-3-il)metanona;

(4-(1-(4-fluorofenil)-(1H-1,2,3-triazol-4-il)fenil)(3-(4-fluorofenil)-6-hidroxibenzo[b]tiofen-2-il)metanona;

5 (3r,5r,7r)-adamantan-1-il(2-(4-fluorofenil)-6-hidroxibenzo[b]tiofen-3-il)metanona; y

(3r,5r,7r)-adamantan-1-il(3-(4-fluorofenil)-6-hidroxibenzo[b]tiofen-2-il)metanona;

o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

- 10 3. Composición para su uso en el tratamiento de un trastorno médico relacionado con estrógenos, en un sujeto que necesita tal tratamiento, en la que el trastorno médico relacionado con estrógenos se selecciona del grupo que consiste en: cáncer, inflamación, osteoporosis, atrofia vaginal, enfermedades del sistema nervioso central y enfermedades del sistema cardiovascular, en la que la composición comprende una
- 15 cantidad terapéuticamente eficaz de al menos un compuesto de fórmula (II) según la reivindicación 1 ó 2, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.
4. Composición para su uso en el tratamiento de un trastorno médico relacionado con estrógenos según la reivindicación 3, en la que la enfermedad del sistema nervioso central se selecciona del grupo que consiste
- 20 en enfermedad de Alzheimer y deterioro cognitivo leve.
5. Composición para su uso en el tratamiento de un trastorno médico relacionado con estrógenos según la reivindicación 3, en la que la enfermedad del sistema cardiovascular es trombosis.
- 25 6. Composición para su uso en el tratamiento de un trastorno médico relacionado con estrógenos según la reivindicación 3, en la que el cáncer se selecciona del grupo que consiste en cáncer de mama, cáncer de ovario, cáncer de próstata y cáncer de pulmón.
- 30 7. Composición para su uso en el tratamiento de un trastorno médico relacionado con estrógenos según la reivindicación 3, en la que el trastorno médico relacionado con estrógenos es un cáncer de mama.
8. Composición para su uso en el tratamiento de un trastorno médico relacionado con estrógenos según la reivindicación 7, en la que el cáncer de mama es un cáncer de mama resistente al tamoxifeno.
- 35 9. Composición para su uso en el tratamiento de un trastorno médico relacionado con estrógenos según la reivindicación 7, en la que el cáncer de mama es un cáncer de mama triple negativo.

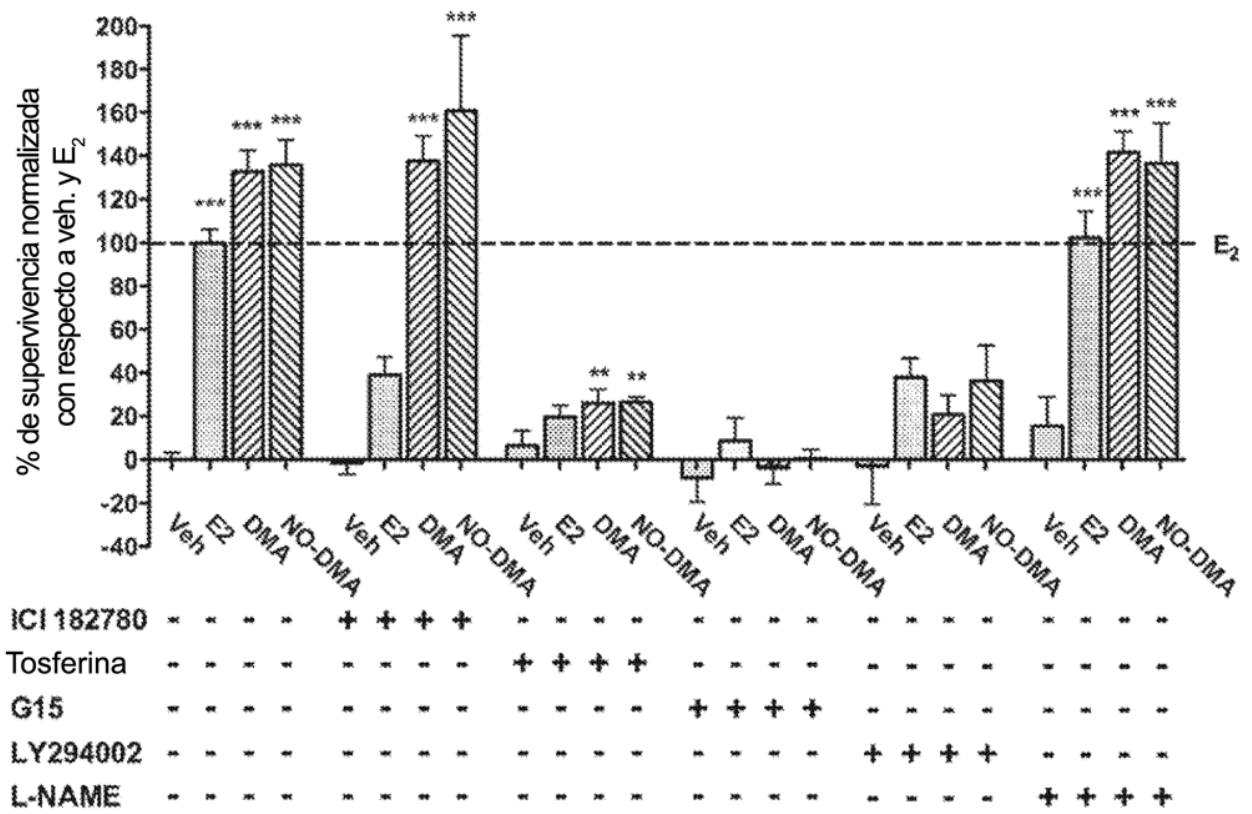


FIG. 1

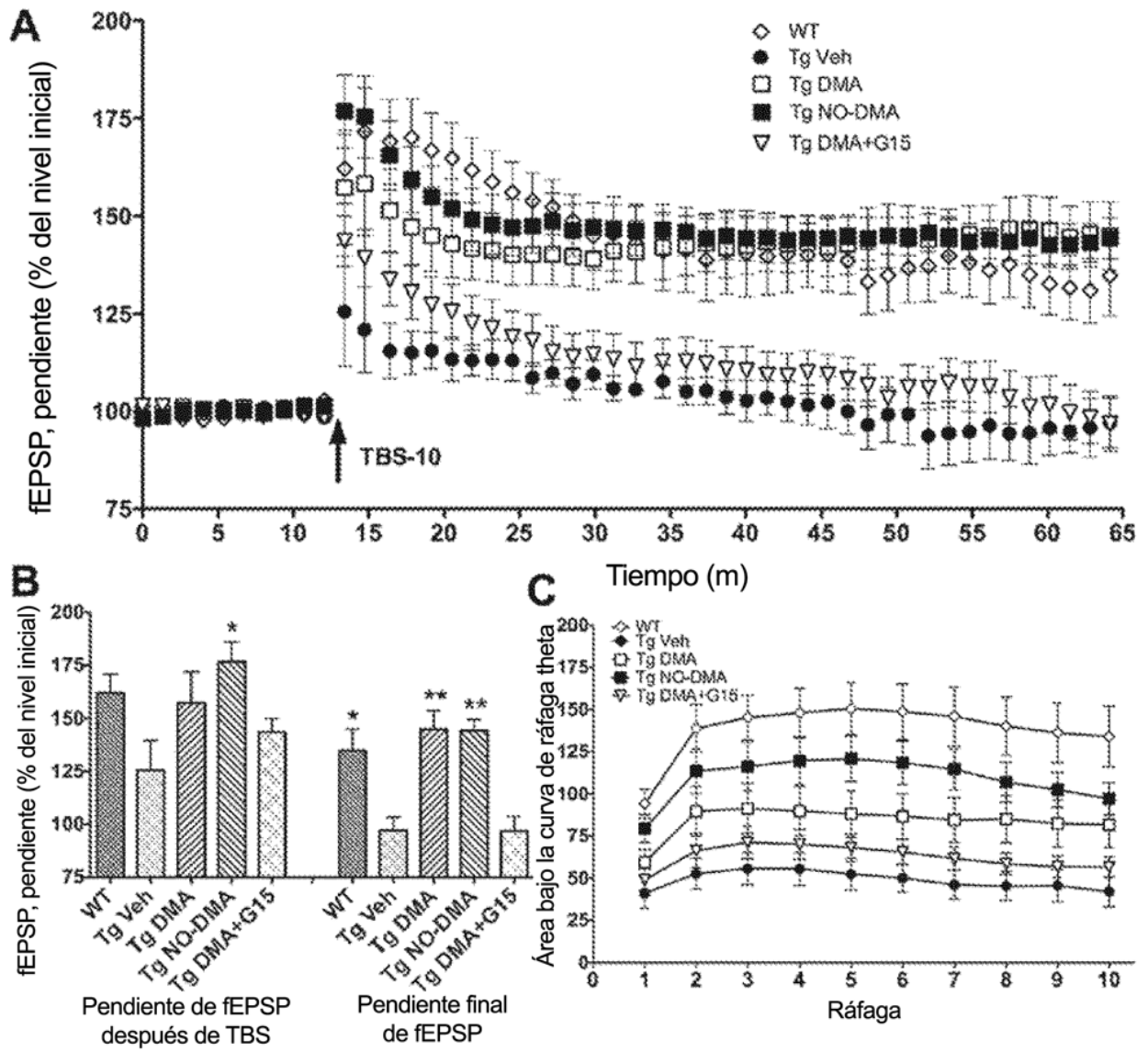


FIG. 2

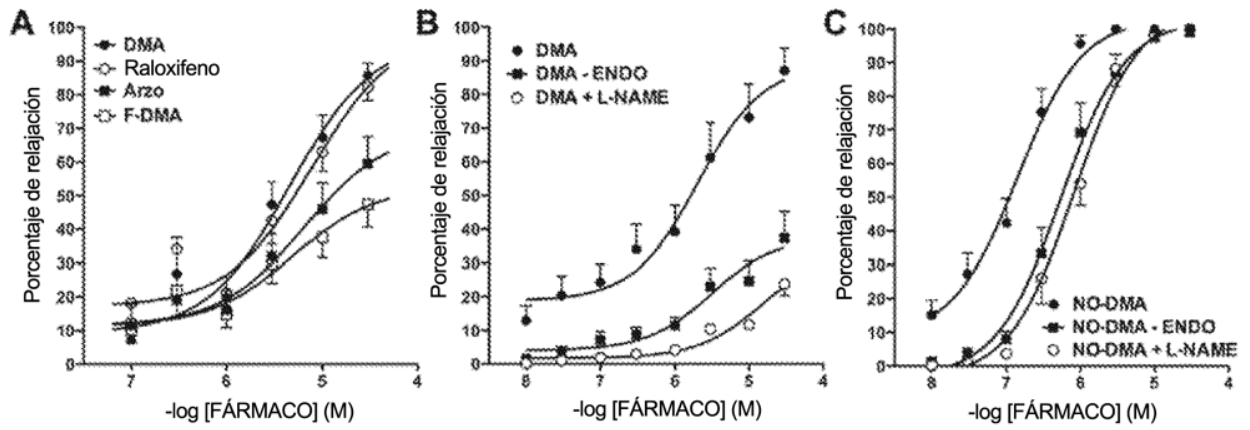
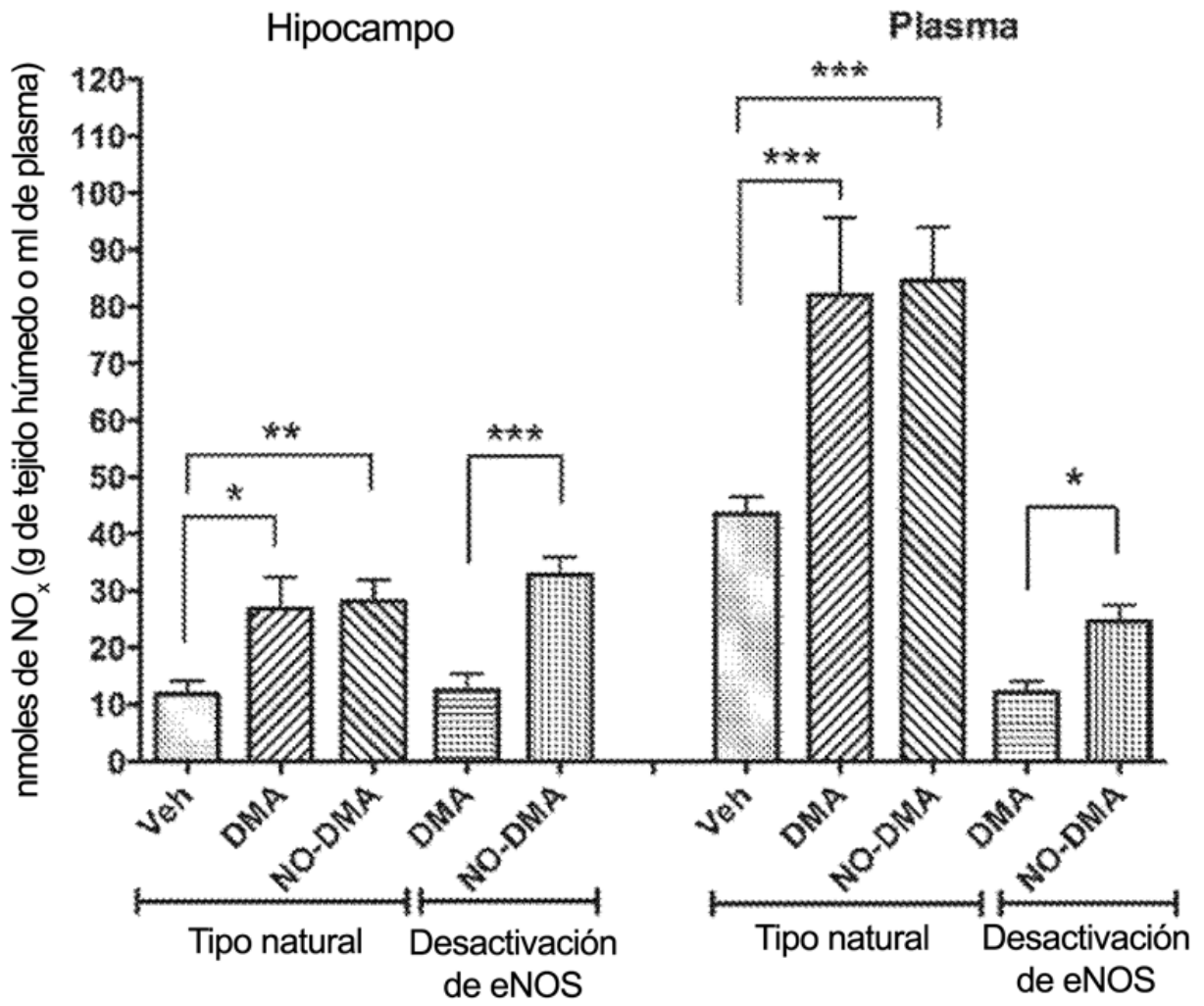


FIG. 3

**FIG. 4**

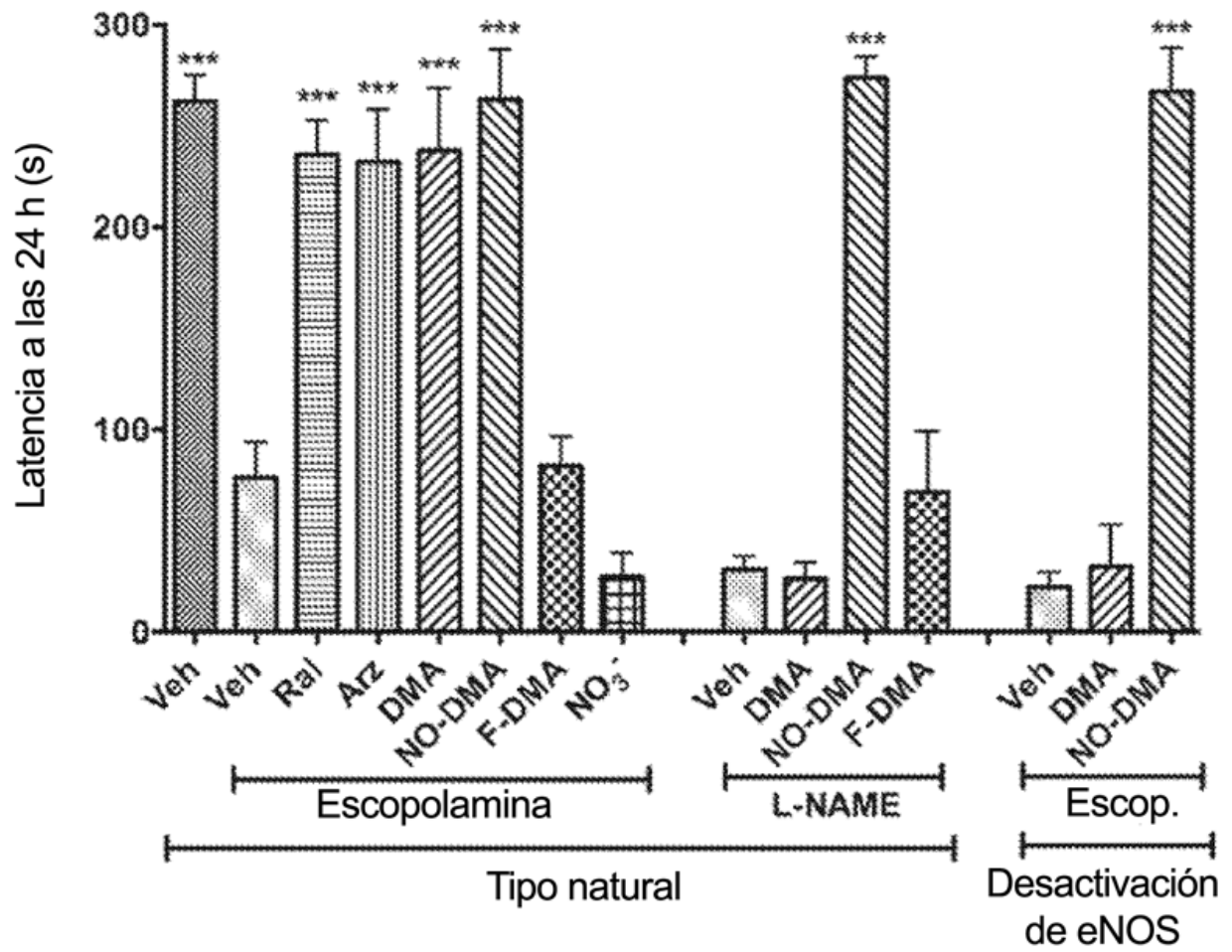


FIG. 5

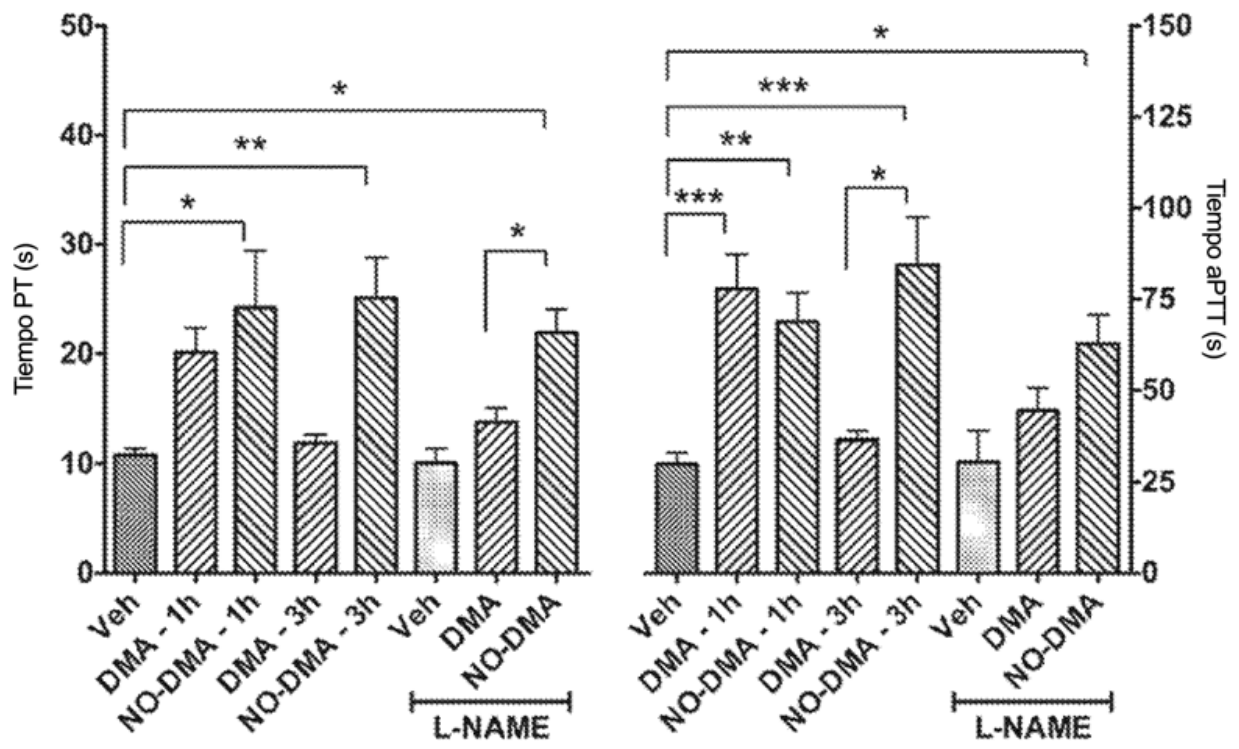
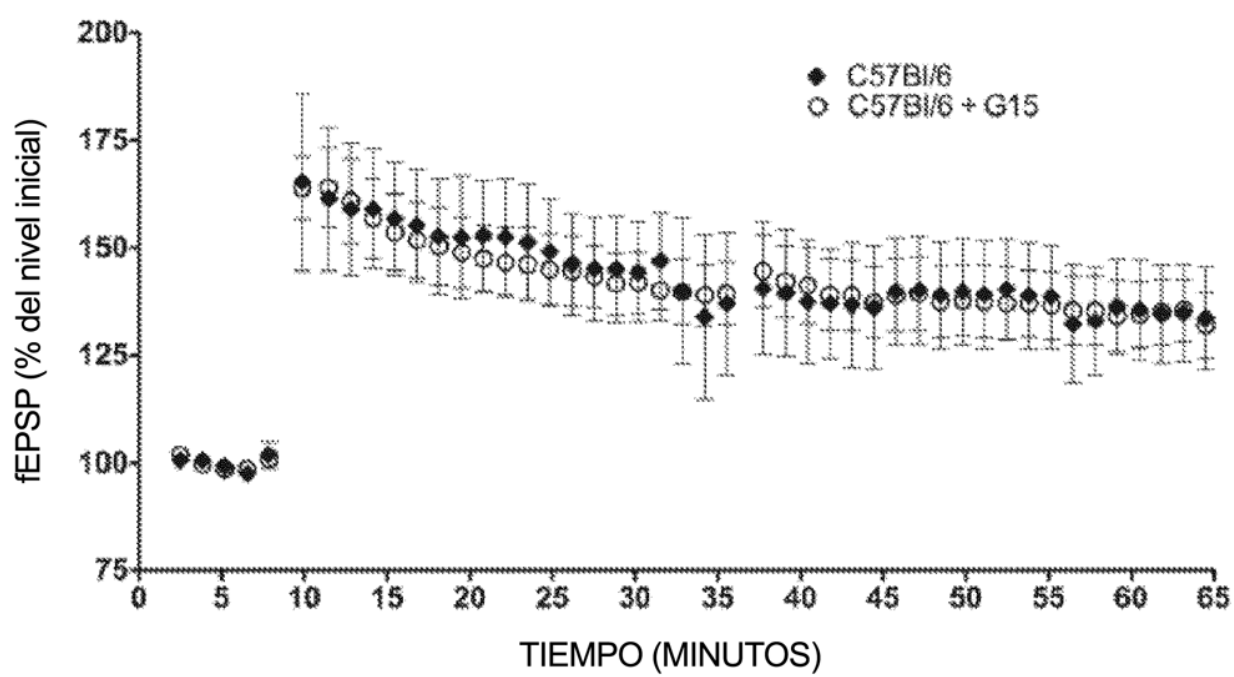
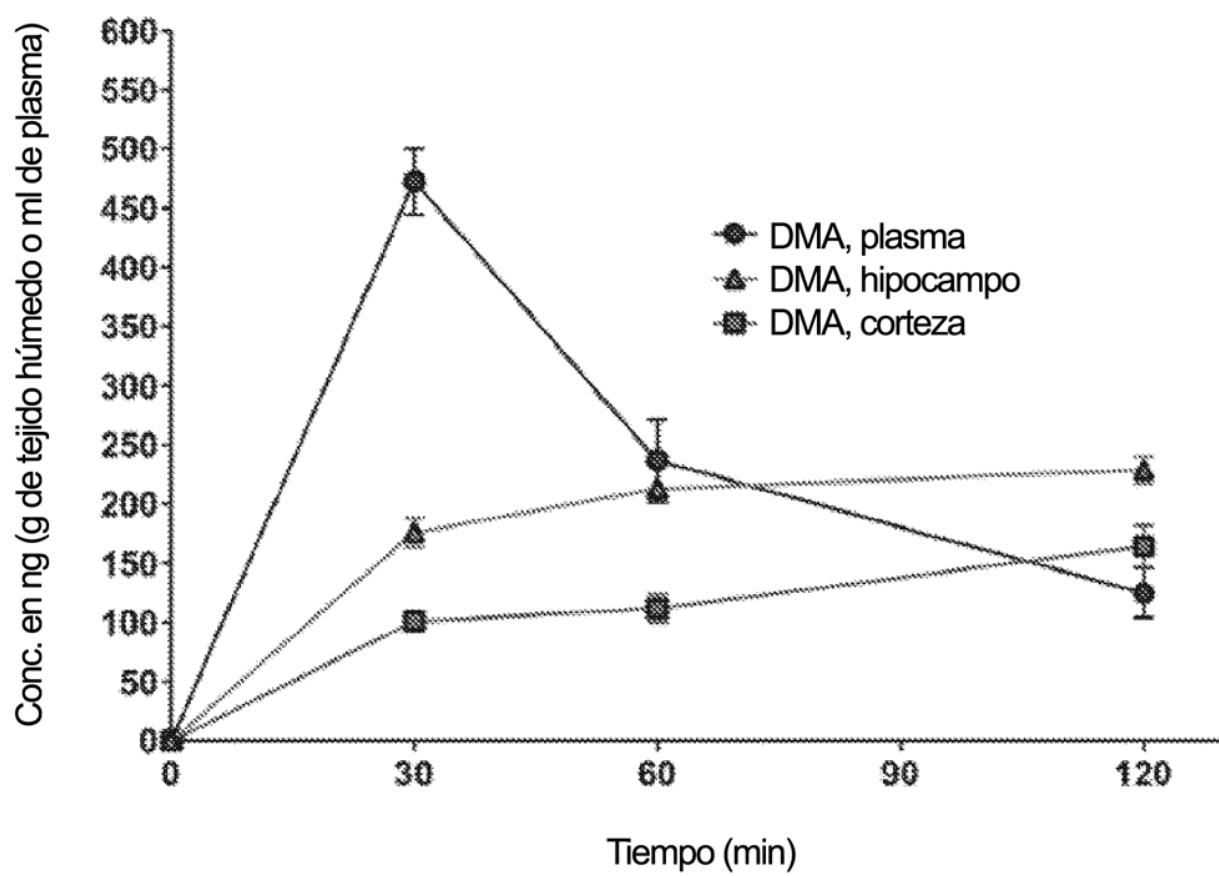


FIG. 6

**FIG. 7**

**FIG. 8**

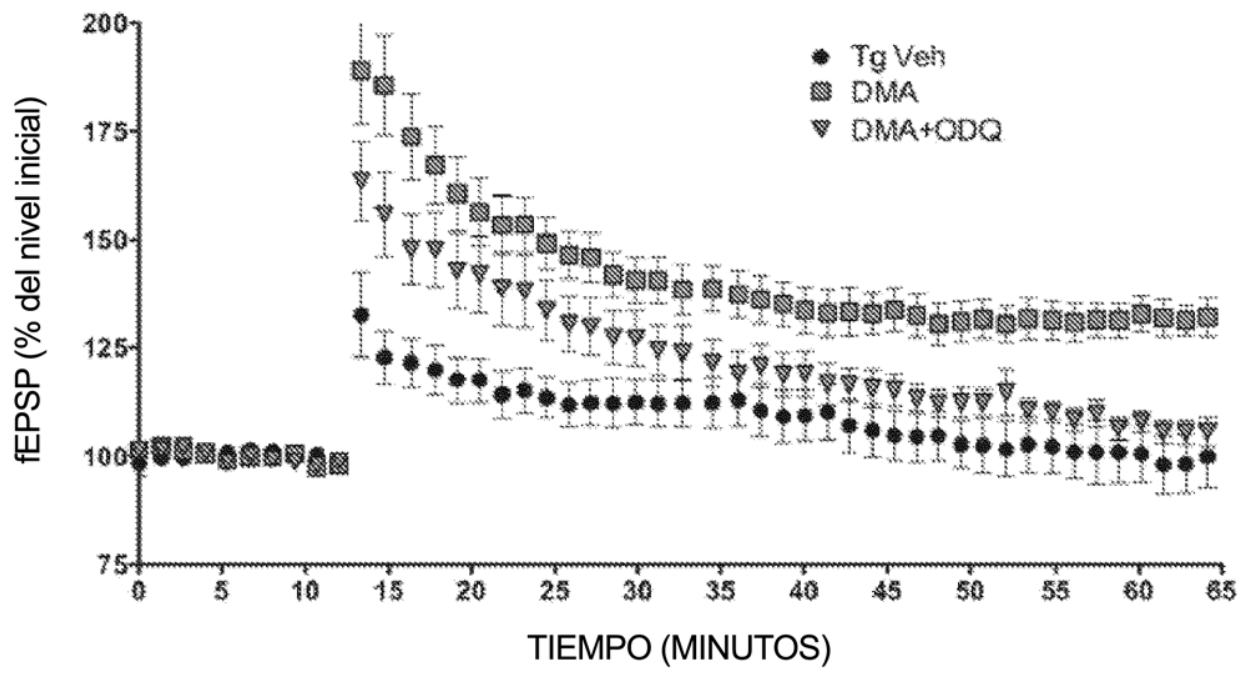


FIG. 9