



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 274 555**

(51) Int. Cl.:

**C07J 31/00** (2006.01)

**A61P 9/10** (2006.01)

(12)

### TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

(86) Número de solicitud europea: **98201290 .8**

(86) Fecha de presentación : **19.02.1993**

(87) Número de publicación de la solicitud: **0864583**

(87) Fecha de publicación de la solicitud: **16.09.1998**

(54) Título: **Ésteres sulfato de 8,9-deshidroestrona de metales alcalinos.**

(30) Prioridad: **26.02.1992 US 841694**

(73) Titular/es: **Wyeth  
Five Giralta Farms  
Madison, New Jersey 07940-0874, US**

(45) Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**16.05.2007**

(72) Inventor/es:  
**Raveendranath, Panolil Chirukandoth y  
Wichtowski, John Anthony**

(45) Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**16.05.2007**

(74) Agente: **Curell Suñol, Marcelino**

**ES 2 274 555 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**

Ésteres sulfato de 8,9-deshidroestrona de metales alcalinos.

5 **Antecedentes de la invención**

La 8,9-deshidroestrona es un compuesto conocido que es útil como intermediario en la producción sintética de estrona por isomerización hasta la insaturación 9,11 (patente US nº 3.394.153) y como intermediario en la producción de derivados 3-ciclopentiloxi-17-etinilo (Ejemplo XXVIII, patente US nº 3.649.621). Además, se sabe que la 8,9-deshidroestrona tiene actividad estrogénica y que disminuye los niveles de lípidos sanguíneos (Ejemplos 11 y 12, patente US nº 3.391.169).

**Descripción de la invención**

15 Según la presente invención se proporciona la utilización de la 8,9-deshidroestrona en la preparación de un medicamento para el tratamiento de la aterosclerosis y para la eliminación de las lesiones arteriales que acompañan al desarrollo de la aterosclerosis.

20 Los ejemplos de referencia siguientes ilustran la preparación de sales de 8,9-deshidroestrona mediante metalación directa con NaH, KH o n-butil-litio en tetrahidrofurano en atmósfera inerte a aproximadamente 0°C. La solución que contiene la sal de metal alcalino se utiliza directamente en la reacción de sulfatación. Se ilustra asimismo la introducción de tris(hidroximetil)aminometano en varias etapas del procedimiento. Los Ejemplos 6 y 7 ilustran la influencia estabilizante del tris(hidroximetil)aminometano.

25 Ejemplo de referencia 1

*8,9-deshidroestrona-3-sulfato de sodio*

30 A una suspensión agitada de hidruro de sodio (0,24 g, 10 mmol) en tetrahidrofurano (20 ml), a 0°C, en atmósfera de nitrógeno, se le añadió una solución de 8,9-deshidroestrona (2,68 g, 10 mmol) en tetrahidrofurano (30 ml). Tras 10 minutos, se retiró el baño de refrigeración para permitir que la mezcla de reacción alcanzase la temperatura ambiente. A la mezcla se le añadió complejo de trimetilamina-trióxido de azufre (1,39 g, 10 mmol). Tras agitar durante 10 minutos, se añadió tris(hidroximetil)aminometano (1,79 g, 15 mmol) y se continuó la agitación durante toda la noche. El disolvente se eliminó por evaporación y el residuo se recogió en agua (180 ml) y se lavó con éter dietílico (2 x 50 ml). La solución acuosa se filtró utilizando un embudo de vidrio sinterizado (porosidad media) y el filtrado se sometió a liofilización hasta obtener 5,2 g de material sólido.

*Perfil analítico*

40 Pureza por HPLC del 8,9-deshidroestrona-3-sulfato de sodio: 96,3%.

La acidificación de una solución acuosa de 8,9-deshidroestrona-3-sulfato de sodio para obtener el éster sulfato libre, seguido por la extracción con n-butanol y la neutralización del ácido con hidróxido de calcio y la liofilización del producto, da lugar a 8,9-deshidroestrona-3-sulfato de calcio. La reacción análoga con hidróxido de magnesio o con hidróxido de amonio da lugar a 8,9-deshidroestrona-3-sulfato de magnesio y 8,9-deshidroestrona-3-sulfato de amonio, respectivamente.

Ejemplo de referencia 2

*8,9-deshidroestrona-3-sulfato de sodio*

A una suspensión agitada de hidruro de sodio (0,24 g, 10 mmol) en tetrahidrofurano (20 ml), a 0°C, en atmósfera de nitrógeno, se le añadió una solución de 8,9-deshidroestrona (2,68 g, 10 mmol) en tetrahidrofurano (30 ml). Tras agitar durante 30 minutos a temperatura ambiente, se añadió tris(hidroximetil)aminometano (1,79 g, 10 mmol) y después de otros 30 minutos se añadió complejo de trimetilamina-trióxido de azufre (1,39 g, 10 mmol) y la solución se agitó durante toda la noche. El disolvente se eliminó por evaporación y el residuo se recogió en agua (40 ml). La capa acuosa se lavó con éter dietílico (2 x 20 ml) y se liofilizó a continuación, para dar lugar a 5,1 g de material sólido.

*Perfil analítico*

60 Pureza por HPLC del 8,9-deshidroestrona-3-sulfato de sodio: 96,2%.

Una solución acuosa de 8,9-deshidroestrona-3-sulfato de sodio se hace pasar a través una columna de Amberlite IRC-50 para obtener el éster sulfato libre en forma de ácido, que se trata con etilamina para dar lugar a la sal de etilamina del 8,9-deshidroestrona-3-sulfato por liofilización del producto. Utilizando dimetilamina, se obtiene la sal de dimetilamina del 8,9-deshidroestrona-3-sulfato.

# ES 2 274 555 T3

## Ejemplo de referencia 3

### *8,9-deshidroestrona-3-sulfato de sodio*

5 A una suspensión agitada de hidruro de sodio (0,24 g, 10 mmol) en tetrahidrofurano (20 ml), a 0°C, en atmósfera de nitrógeno, se le añadió una solución de 8,9-deshidroestrona (2,68 g, 10 mmol) en tetrahidrofurano (30 ml). Tras dejar que la mezcla de reacción se calentase hasta la temperatura ambiente, se agitó durante 30 minutos y se le añadió complejo de trimetilamina-trióxido de azufre (1,39 g, 10 mmol). Se continuó la agitación durante toda la noche. Los disolventes se eliminaron por evaporación y el residuo se recogió en agua (50 ml), la capa acuosa se lavó con éter dietílico (2 x 20 ml) y se añadió tris(hidroximetil)-aminometano (1,21 g, 10 mmol). La solución transparente resultante se liofilizó, para obtener 5,04 g de material sólido.

10

### *Perfil analítico*

15 Pureza por HPLC del 8,9-deshidroestrona-3-sulfato de sodio: 96,2%.

## Ejemplo de referencia 4

### *8,9-deshidroestrona-3-sulfato de litio*

20 25 A una mezcla de tris(hidroximetil)aminometano (0,63 g, 5,2 mmol) y 8,9-deshidroestrona (0,94 g, 35 mmol) en tetrahidrofurano (14 ml), a -70°C, en atmósfera de nitrógeno, se le añadió n-butil-litio (solución 2,5 M en hexanos, 1,4 ml). Tras agitar a esta temperatura durante 10 minutos, se retiró el baño de refrigeración. A 0°C, se añadió complejo de trimetilamina-trióxido de azufre (0,49 g, 3,5 mmol), se dejó que alcanzase la temperatura ambiente y se continuó la agitación durante toda la noche. Los disolventes se eliminaron por evaporación y el residuo se recogió en agua (150 ml). Esta solución acuosa se lavó con éter dietílico (3 x 35 ml) y se liofilizó, para dar lugar a 1,11 g de material sólido.

### *Perfil analítico*

30 Pureza por HPLC del 8,9-deshidroestrona-3-sulfato de litio: 90,4%.

## Ejemplo de referencia 5

### *8,9-deshidroestrona-3-sulfato de potasio*

35 40 A una suspensión agitada de hidruro de potasio (0,14 g, 3,5 mmol) en tetrahidrofurano (14 ml) a 0°C, en atmósfera de nitrógeno, se le añadió tris(hidroximetil)aminometano (0,63 g, 5,2 mmol), seguido por una solución de 8,9-deshidroestrona (0,94 g, 3,5 mmol) en tetrahidrofurano (14 ml). Despues de 15 minutos, se añadió complejo de trimetilamina-trióxido de azufre (0,48 g, 3,5 mmol). Tras dejar que la mezcla de reacción alcanzase la temperatura ambiente, se añadió una cantidad adicional de tetrahidrofurano (15 ml) y se continuó la agitación durante toda la noche. Los disolventes se eliminaron por evaporación y el residuo se recogió en agua (150 ml). Esta solución acuosa se lavó con éter dietílico (3 x 35 ml) y se liofilizó a continuación, para obtener 1,63 g de material sólido.

### *Perfil analítico*

45 Pureza por HPLC del 8,9-deshidroestrona-3-sulfato de potasio: 91,3%.

Una solución acuosa del 8,9-deshidroestrona-3-sulfato de potasio se hizo pasar a través de una columna de intercambio iónico que contenía Amberlite IRP-64, utilizando una solución concentrada de hidróxido de calcio como eluyente, para obtener 8,9-deshidroestrona-3-sulfato de calcio. Las sales de magnesio y de amonio se obtienen de la misma manera.

55

Puede apreciarse a partir de las operaciones anteriores que el procedimiento de la invención proporciona con una técnica simple un producto de elevada pureza.

## Ejemplo de referencia 6

### *8,9-deshidroestrona-3-sulfato de sodio*

60 65 A una suspensión agitada de NaH (0,57 g, 24 mmol) en tetrahidrofurano (50 ml) a 0°C, en atmósfera de nitrógeno, se le añadió una solución de 8,9-deshidroestrona (5,36 g, 20 mmol) en tetrahidrofurano (100 ml) durante un período de 10 minutos. Se dejó que la mezcla de reacción se calentase hasta la temperatura ambiente y se añadió complejo de trimetilamina-trióxido de azufre (3,34 g, 24 mmol). Se continuó la agitación durante 24 horas. El disolvente se eliminó y los sólidos secos se resuspendieron en éter dietílico y se trajeron con agua (100 ml). La capa acuosa se separó, se lavó con éter dietílico (2 x 20 ml) y se liofilizó, para dar lugar a 5,65 g de material sólido.

## ES 2 274 555 T3

### *Perfil analítico*

Riqueza por HPLC del 8,9-deshidroestrona-3-monosulfato de sodio: 73,8%.

5 Riqueza por HPLC del 8,9-deshidroestrona-3-monosulfato de sodio: 33% (analizado de nuevo después de dos semanas).

### *Ejemplo de referencia 7*

#### *10 8,9-deshidroestrona-3-sulfato de sodio*

A una suspensión agitada de hidruro de sodio (0,72 g, 30 mmol) en tetrahidrofurano (50 ml) se le añadió, a 0°C, en atmósfera de nitrógeno, tris(hidroximetil)aminometano (5,38 g, 44 mmol) seguido por una solución de 8,9-deshidroestrona (8,04 g, 30 mmol) en tetrahidrofurano (110 ml). Tras dejar que la mezcla de reacción alcanzase la 15 temperatura ambiente, se añadió trimetilamina-trióxido de azufre (4,21 g, 30 mmol) y se agitó durante 24 horas. La mezcla de reacción se trató como se ha descrito en el Ejemplo 6, para dar lugar a 15,2 g de material sólido.

### *Perfil analítico*

20 Riqueza por HPLC/GC del 8,9-deshidroestrona-3-monosulfato de sodio: 55,8%.

Riqueza por HPLC del -8,9-deshidroestrona-3-monosulfato de sodio: 55,3% (analizado de nuevo después de dos semanas).

25 Riqueza por HPLC del tris(hidroxilamina)aminometano: 30,9%.

### *Caracterización por espectrometría*

30  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$  RMN (400 MHz): concuerda.

35 La  $^1\text{H}$  RMN indica asimismo que la relación de estrógeno conjugado a tris(hidroximetil)aminometano es aproximadamente 1:1,5.

En el Ejemplo 6 se aprecia que, en ausencia de estabilización, el éster sulfato se degrada rápidamente, mientras que 40 el tris(hidroximetil)aminometano ofrece protección frente a la degradación hidrolítica, como se indica en el Ejemplo 7, en el que se observa que el éster de sulfato permaneció sustancialmente constante durante un periodo de dos semanas, lo que demuestra un mejor control del producto que el obtenido en ausencia de tris(hidroximetil)aminometano. El producto estabilizado se aísla en forma sólida, con un elevado grado de pureza, y tiene las propiedades deseadas de solubilidad en agua a pH neutro o cercano la neutralidad, además de presentar actividad estrogénica farmacéutica.

45 La actividad estrogénica de los compuestos de la presente invención se determinó administrando los mismos por vía oral o parenteral (subcutánea) a ratas y ratones durante un período de 7 días y 3 días, respectivamente, y midiendo el aumento de peso uterino en comparación con el testigo con vehículo. A continuación se presentan los resultados de dichos procedimientos experimentales estándar.

TABLA I

#### *Actividad estrogénica del 8,9-deshidroestrona-3-sulfato de sodio-peso uterino en ratas*

50	Tratamiento <sup>a</sup>	Dosis <sup>b</sup> ( $\mu\text{g}$ )	Vía	Peso (mg)
	Vehículo (aceite)	-	s.c.	46,3 $\pm$ 2,7
55	Vehículo ( $\text{H}_2\text{O}$ dest.)	-	s.c.	43,4 $\pm$ 3,5
		0,1	s.c.	39,8 $\pm$ 2,1
		0,3	s.c.	46,1 $\pm$ 2,4
60		1,0	s.c.	50,3 $\pm$ 2,7
		3,0	s.c.	71,9 $\pm$ 1,2
		10,0	s.c.	92,2 $\pm$ 5,7

<sup>a</sup> Seis ratas por grupo

65 <sup>b</sup> Dosis diaria durante 7 días

# ES 2 274 555 T3

TABLA II

*Actividad estrogénica del 8,9-deshidroestrona-3-sulfato de sodio-peso uterino en ratas*

5	Tratamiento <sup>a</sup>	Dosis <sup>b</sup> (μg)	Vía	Peso (mg)
	Vehículo (H <sub>2</sub> O dest.)	0,3 ml	s.c.	11,2 ± 0,3
10	8,9-deshidroestrona-3-sulfato de sodio	0,1	s.c.	17,9 ± 3,0
		0,3	s.c.	18,9 ± 2,3
		1,0	s.c.	21,3 ± 2,6
		3,0	s.c.	23,1 ± 3,2
		10,0	s.c.	22,7 ± 0,8
20		0,3	p.o.	18,4 ± 1,4
		1,0	p.o.	14,6 ± 1,7
		3,0	p.o.	17,8 ± 0,4
		10,0	p.o.	19,1 ± 0,9
		30,0	p.o.	24,1 ± 1,1

25      <sup>a</sup> Cuatro ratones por grupo

<sup>b</sup> Dosis total durante 3 días

30      El tratamiento de la aterosclerosis se orienta generalmente hacia la atenuación de las secuelas (angina de pecho, infarto de miocardio, arritmias, insuficiencia cardíaca, insuficiencia renal, ictus, oclusión arterial periférica, y enfermedades relacionadas) mediante la administración de fármacos antilipídicos, la reducción de la tensión arterial en 10 a 20%, y el incremento de los niveles sanguíneos de lípidos de alta densidad por la dieta y ejercicio. Estas medidas están destinadas generalmente a ralentizar la velocidad del progreso de la enfermedad, en vez de para invertir su dirección. Los agentes antiateroscleróticos se administran frecuentemente junto con otros medicamentos utilizados habitualmente para el tratamiento de dicha enfermedad, tales como agentes antilipídicos, agentes antiarrítmicos, betabloqueantes, y similares. Por tanto, las propiedades de disminución de lípidos sanguíneos del compuesto utilizado en la presente invención suponen una ventaja adicional para su empleo en el tratamiento de la aterosclerosis.

40      De acuerdo con el elemento protector cardiovascular de la presente invención, se proporciona un método para la preparación de un medicamento destinado al tratamiento de la aterosclerosis, que comprende medicamentos adecuados para la administración oral o parenteral. Naturalmente, la 8,9-deshidroestrona, el metabolito putativo, o el producto de la hidrólisis *in vivo* de sus sales del éster sulfato, ejerce los mismos efectos de protección cardiovascular que sus sales del éster, y puede emplearse directamente por sí mismo si está disponible y si su utilización es factible en una situación dada. Tanto las lesiones del área superficial de las arterias como el contenido de colesterol arterial pueden reducirse significativamente de forma dependiente de la dosis utilizando dicho esteroide.

50      Cuando el esteroide de la presente invención se emplea como agente único para la protección cardiovascular en animales homeotermos, puede administrarse solo o en combinación con excipientes aceptables desde el punto de vista farmacéutico, cuya proporción se determina por la solubilidad y la naturaleza química del compuesto, la vía de administración seleccionada, y las prácticas farmacológicas estándar. Por ejemplo, puede administrarse por vía oral en forma de comprimidos o cápsulas que contienen excipientes tales como almidón, leche, azúcar, ciertos tipos de arcillas, y similares. Puede asimismo administrarse por vía oral en forma de soluciones que contienen agentes colorantes y saborizantes, o puede inyectarse por vía parenteral. Para la administración parenteral puede utilizarse en forma de solución estéril que contiene otros solutos, por ejemplo, suficiente solución salina o glucosa para formar una solución isotónica.

60      La dosis del agente terapéutico de la presente memoria variará en función de la forma de administración y del compuesto particular escogido. Además, variará con el individuo particular que se somete a tratamiento. Generalmente, el tratamiento se inicia con dosis pequeñas, sustancialmente inferiores a la dosis óptima del compuesto. A continuación, se aumenta la dosis con pequeños incrementos hasta que se alcanza el efecto óptimo en las circunstancias dadas. En general, lo más deseable es que los compuestos de la presente invención se administren a un nivel de concentración que proporcione resultados eficaces, sin causar efectos secundarios nocivos o deletéreos, y preferentemente a un nivel que se encuentre en el intervalo comprendido entre aproximadamente 0,02 μg y aproximadamente 500 μg por kilo por día, si bien, como se ha explicado anteriormente, se producirán modificaciones en función de la edad, el sexo, el peso corporal, la gravedad de la enfermedad, la pauta profiláctica, etc. En cualquier caso, son necesarios la observación y el seguimiento directos por parte del médico encargado para conseguir la respuesta terapéutica deseada en un paciente dado.

# ES 2 274 555 T3

## REIVINDICACIONES

1. Utilización de 8,9-deshidroestrona para la preparación de un medicamento destinado al tratamiento de la aterosclerosis.

5 2. Utilización de 8,9-deshidroestrona para la preparación de un medicamento destinado a la eliminación de las lesiones arteriales que acompañan al desarrollo de la aterosclerosis.

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65