



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 307 064**

51 Int. Cl.:
A61K 31/565 (2006.01)
A61P 9/00 (2006.01)
A61P 9/02 (2006.01)
A61P 9/04 (2006.01)
A61P 9/08 (2006.01)
A61P 9/10 (2006.01)
A61P 9/12 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Número de solicitud europea: **04803177 .7**
86 Fecha de presentación : **16.11.2004**
87 Número de publicación de la solicitud: **1689410**
87 Fecha de publicación de la solicitud: **16.08.2006**

54 Título: **Prevención y tratamiento de enfermedades cardíacas hipertensivas por los estrógenos selectivos 8β-vinil-estra-1,3,5(10)-trien-3,17β-diol y 17β-fluor-9α-vinil-estra-1,3,5(10)-trien-3,16α-diol.**

30 Prioridad: **26.11.2003 EP 03090406**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
16.11.2008

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
16.11.2008

73 Titular/es:
**Bayer Schering Pharma Aktiengesellschaft
Mullerstrasse 178
13353 Berlin, DE**

72 Inventor/es: **Hegele-Hartung, Christa;
Fritzemeier, Karl-Heinrich;
Peters, Olaf;
Pelzer, Theo y
Neyses, Ludwig**

74 Agente: **Lehmann Novo, María Isabel**

ES 2 307 064 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

Prevención y tratamiento de enfermedades cardíacas hipertensivas por los estrógenos selectivos 8 β -vinil-estra-1,3,5(10)-trien-3,17 β -diol y 17 β -fluor-9 α -vinil-estra-1,3,5(10)-trien-3,16 α -diol.

La presente invención se refiere a la prevención y tratamiento de las enfermedades cardíacas hipertensivas.

Sumario de la invención

La invención se refiere a la prevención y tratamiento de una o más de las condiciones seleccionadas a partir del grupo de (1) hipertensión, (2) hipertrofia cardíaca e (3) insuficiencia cardíaca usando 8 β -vinil-estra-1,3,5(10)-trien-3,17 β -diol y 17 β -fluor-9 α -vinil-estra-1,3,5(10)-trien-3,16 α -diol.

La invención se basa en el hallazgo de que los agonistas selectivos ER- β 8 β -vinil-estra-1,3,5(10)-trien-3,17 β -diol y 17 β -fluor-9 α -vinil-estra-1,3,5(10)-trien-3,16 α -diol

(i) disminuyen la presión sanguínea sistólica, media y diastólica,

(ii) previenen el desarrollo de hipertrofia cardíaca y

(iii) aumentan el rendimiento cardíaco

en un modelo preclínico de hipertensión, concretamente ratas espontáneamente hipertensas (SHR).

Considerando que una función vascular anómala e hipertensión han sido observadas en ratones ER β -deficientes (Zhu Y y otros. 2002, Science 295: 505-508), éstas observaciones indican un papel esencial para ER β en la regulación de la función vascular y la presión sanguínea, la demostración para los dos agonistas ER β 8 β -vinil-estra-1,3,5(10)-trien-3,17 β -diol y 17 β -fluor-9 α -vinil-estra-1,3,5(10)-trien-3,16 α -diol

(i) disminuir la presión sanguínea sistólica, media y diastólica,

(ii) prevenir el desarrollo de hipertrofia cardíaca y

(iii) aumentar el rendimiento cardíaco

en modelos preclínicos de hipertensión, concretamente ratas espontáneamente hipertensas (SHR), es nuevo.

El fenotipo de la función vascular perturbada en ratones knockout ER β fue la base para la solicitud de la patente GB 2374412 A por Gustafsson JA y Bian Z (Karo Bio AB, Suecia) presentada el 4 de Abril 2001. Los inventores observaron una elevación de la presión arterial media (MAP) en ambos ratones ER β -knockout macho y hembra con una edad mayor que 5 meses comparado con crías macho y hembra tipo salvaje (wt). La masa cardíaca en los respectivos ratones ER β deficiente no fue diferente de los de crías macho y hembra wt y alteraciones patológicas tales como hipertrofia o fibrosis no fueron detectadas en ningún corazón, pulmón, ni riñón. Considerando que los inventores reivindicaron el uso de compuestos moduladores ER β para modular la presión arterial y en particular para tratar la hipertensión, el estudio con agonistas selectivos ER β documentando estos efectos no ha sido publicado, hasta ahora.

En vistas de que el fenotipo de los ratones deficientes en ER β descrito en GB 2374412 A no proporciona evidencias para alteraciones patológicas como hipertrofia cardíaca o fibrosis, la conclusión de los presentes inventores de que los agonistas ER β 8 β -vinil-estra-1,3,5(10)-trien-3,17 β -diol y 17 β -fluor-9 α -vinil-estra-1,3,5(10)-trien-3,16 α -diol usados en el presente estudio inhiben la hipertrofia cardíaca en SHR es inesperada y nueva.

Además, ha sido encontrado que los dos agonistas ER β investigados 8 β -vinil-estra-1,3,5(10)-trien-3,17 β -diol y 17 β -fluor-9 α -vinil-estra-1,3,5(10)-trien-3,16 α -diol son más efectivos que 17 β -estradiol y los agonistas ER α selectivos 3,17 β -dihidroxi-19-nor-17 α -pregna-1,3,5(10)-trien-21,16 α -lactona (WO 02/26763) disminuyendo la presión sanguínea en SHR.

Estas observaciones proporcionan la base para proponer el uso de dos agonistas ER β 8 β -vinil-estra-1,3,5(10)-trien-3,17 β -diol y 17 β -fluor-9 α -vinil-estra-1,3,5(10)-trien-3,16 α -diol para la prevención y/o tratamiento de

(1) hipertensión,

(2) hipertrofia cardíaca y

(3) insuficiencia cardíaca

Antecedentes

La hipertensión es uno de los factores determinantes en la morbilidad cardiovascular y la mortalidad en humanos (Vasan RS, Larson MG, Leip EP, Evans JC, O'Donnell CJ, Kannel WB, Levy D. Impact of high normal blood pressure on the risk of cardiovascular disease. *N Engl J Med* 2001; 345:1291-1297). La prevalencia de hipertensión es significativamente disminuida en mujeres pre-menopáusicas comparado con hombres de igual edad (Corrao JM, Becker RC, Ockene IS, Hamilton GA). CHD risk factors in women. *Cardiology* 1990; 77:8-24). Estas diferencias sexuales no son más observadas después de la menopausia (August P, Oparil S. Hypertension in women. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84:1826-1866) como consecuencia de la deficiencia de estrógeno causada por el descenso de la función ovárica. La deficiencia de estrógeno también puede ser causada por intervención farmacológica por ejemplo por agonistas o antagonistas GnRH, inhibidores de aromatasa o antiestrogénos usados para la terapia de cánceres dependientes de estrógeno (por ejemplo cáncer de mama y próstata), endometriosis y otras enfermedades. La asociación de los síntomas clínicos de la deficiencia estrógenica con ese tipo de terapias es bien documentada. De este modo, la terapia con análogos GnRH es asociada con la inducción de sofocos y la reducción en la densidad mineral ósea (Sagsveen M. y otros. 2003, *Cochrane Database Syst Rev* 4:CD001297). También para inhibidores de aromatasa efectos negativos de la supresión de la acción estrogénica como la inducción de síntomas vasomotores y la reducción de la densidad mineral ósea han sido descritos (Wickman S. y otros. 2003, *J. Clin. Endocrinol Metab.* 88: 3785-93). Los estrógenos son conocidos por ejercer efectos beneficiosos en la pared vascular incluyendo la hiperregulación de la óxido-nítrico sintetasa (Hayashi T, Yamada K, Esaki T, Kuzuya M, Satake S, Ishikawa T, Hidaka H, Iguchi A. Estrogen increases endothelial nitric oxide by a receptor mediated system. *Biochem Biophys Res Comm* 1995; 214:847-855; MacRitchie AN, Jun SS, Chen Z, German Z, Yuhanna IS, Sherman TS, Shaul PW. Los estrógenos hiperregulan la expresión génica en endotelio arterial pulmonar fetal. *Circ Res.* 1997;81:355-62) y la expresión del receptor angiotensina-1 (Nickenig G., Baumer AT, Grohe C, Kalhert, S, Strehlow K, Rosenkranz S, Stablein A, Beckers F, Smits JF, Daemen MJ, Vetter H, Boehm H. Estrogen modulates AT1 receptor gene expression *in vitro* and *in vivo*. *Circulation* 1998;97:2197-2201). El estradiol como un agonista ER α y ER β no-selectivo, natural, disminuye la presión arterial en mujeres pos-menopáusicas (Modena MG, Molinari R, Muia N, Castelli A, Pala F, Rossi R. Double blind randomized placebo controlled study of transdermal estrogen replacement therapy on hypertensive postmenopausal women. *Am J Hypertens* 1999; 12:1000-1008; Szekas B, Vajo Z, Acs N, Hada P, Csuzi L, Bezeredi J, Magyar Z, Brinton EA. HRT reduces mean 24 hr blood pressure and its variability in postmenopausal women with treated hypertension. *Menopause* 2000; 7:31-35). La hipertensión aumenta el volumen de trabajo cardíaco el cual conduce a un aumento adaptativo de la masa miocárdica (hipertrofia miocárdica). A pesar de que la hipertrofia cardíaca por sí representa un mecanismo compensatorio, es sin embargo un factor de riesgo establecido e independiente para el desarrollo de la insuficiencia cardíaca y la muerte cardíaca súbita (Levy D, Garrison RJ, Savage DD, Kannel WB, Castelli WP. Prognostic implications of echocardiographically determined left ventricular mass in the Framingham Heart Study. *N Engl J Med* 1990; 322:1561-1566). La principal conclusión, de que el propio sexo actúa como componente clave determinando la extensión de la hipertrofia ventricular izquierda ha sido reportado en varias poblaciones incluyendo la población de Framingham y pacientes con estenosis aórtica (Carroll JD, Carroll EP, Feldman T, Ward DM, Lang RM, McGaughey D y Kart RB. Sex-associated differences in left ventricular function in aortic stenosis of the elderly. *Circulation* 1992; 86:1099-1107; Krumholz HM, Larson M, Levy D. Sex differences in cardiac adaptation to isolated systolic hypertension. *Am J Cardiol* 1993; 72:310-313; Dannenberg AL, Levy D, Garrison RJ. Impact of age on echocardiographic left ventricular mass in a healthy population (el estudio de Framingham). *Am J Cardiol* 1989; 64:1066-1068). El vínculo directo entre la hipertrofia cardíaca y los niveles de hormonas sexuales ha sido recientemente establecido en modelos animales siguiendo la constricción aórtica o el desarrollo de hipertensión en ratas hembras SHR (Wallen WJ, Cserti Ch, Belanger MP, Wittnich C. Gender-differences in myocardial adaptation to afterload in normotensive and hypertensive rats. *Hypertension* 2000; 36:774-779; van Eickels M, Grohe C, Cleutjens JP, Janssen BJ, Wellens HJ, Doevendans PA. 17 beta-estradiol attenuates the development of pressure-overload hypertrophy. *Circulation* 2001; 18; 104:1419-1423; Pelzer T, de Jager T, Muco J, Stimpel M, Neyses L. Oestrogen action on the myocardium *in vivo*: specific and permissive for angiotensin-converting enzyme inhibition. *J. Hypertens* 2002; 20:1001-1006). Hipertrofia miocárdica, enfermedades de arteria coronaria así como cardiopatía valvular, finalmente conducen a la insuficiencia cardíaca, la cual es definida como la incapacidad del corazón para mantener el rendimiento cardíaco a un nivel suficiente que proporcione a los tejidos periféricos con la cantidad requerida de sangre oxigenada. Etapas avanzadas de la insuficiencia cardíaca conllevan un pronóstico malo que es comparable con las etapas avanzadas de enfermedades malignas y representa la causa más importante de mortalidad cardiovascular en países industrializados (Haddy FJ, Heart failure-incidence and survival. *N Engl J Med.* 2002; 347:1397-402). Similar a la hipertrofia cardíaca y la hipertensión, la insuficiencia cardíaca es menos común en mujeres que en hombres y el pronóstico de la insuficiencia cardíaca manifestada es significativamente mejor en pacientes femeninas (Luchner A, Brockel U, Muscholl M, Hense HW, Doring A, Riegger GA, Schunkert H. Gender-specific differences of cardiac remodeling in subjects with left ventricular dysfunction: a population-based study. *Cardiovasc Res.* 2002; 53:720-7).

Los estrógenos modulan la expresión de los genes diana y por tanto la función miocárdica así como la vascular a través de dos receptores hormonales nucleares distintos, receptor estrogénico α (ER α) y receptor estrogénico β (ER β), actuando como ligandos dependientes de factores de transcripción (Walters P, Green S, Greene G, Krust A, Bornert JM, Jeltsch JM, Staud A, Jensen E, Scrase G, Waterfield M, Chambon P. Cloning of the human estrogen receptor cDNA. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93:5925-5930). ER α así como ER β son expresados y funcionales en células vasculares así como en miocitos cardíacos en varias especies incluyendo ratones, ratas y humanos.

Los dos subtipos de receptores estrogénicos (ER) conocidos, ER α y ER β , son codificados por distintos genes. Ellos exhiben elevado grado de homología secuencial. De este modo la secuencia de aminoácidos dentro del dominio de unión hormonal difiere solamente en tres aminoácidos. Los dos isotipos de receptores median divergentes pero también efectos biológicos redundantes en varios sistemas orgánicos (Kuiper GG, Carlsson B, Grandien K, Enmark E, Haggblad J, Nilsson S, Gustafsson JA. Comparison of the Ligand Binding Specificity and Transcript Tissue Distribution of Estrogen Receptors α and β Endocrinology 1997; 138:863-870; Jankowski M, Rachelska G, Donghao W, McCann SM, Gutkowska J. Estrogen receptors activate atrial natriuretic peptide in the rat heart. Proc Natl Acad Sci USA 2001; 98:11765-11770).

10 *Distribución en el tejido y función del receptor estrogénico beta (ER β)*

ER β ha sido identificado como el segundo subtipo ER en 1995/96 (Kuiper y otros. (1996), Proc Natl Acad Sci. 93:5925-5930; Mosselman, Dijkema (1996) Febs Letters 392:49-53; Tremblay y otros. (1997), Molecular Endocrinology 11: 353-365). El patrón de expresión de ER β difiere del de ER α (Kuiper y otros. (1996), Endocrinology 138: 863-870). La expresión de ER β es alta en próstata de ratas mientras su expresión es baja en el útero. Otros órganos que muestran elevada expresión de ER β son las células granulosa ováricas (Couse y otros. Endocrinology 138, 1997, S. 46-12-4613). Además de que, órganos con elevada expresión de ER β componen el hueso (Onoe Y y otros, 1997, Endocrinology 138:4509-4512), el sistema vascular (Register TC, Adams MR 1998, J Steroid Molec Biol 64: 187-191), el pulmón, el tracto urogenital (Kuiper GJM y otros. 1997, Endocrinology 138:863-870) el tracto gastrointestinal (Campbell-Thopson 1997, BBRC 240:478-483) y los testículos (Mosselmann S y otros. 1996 Febs Lett 392 49-53). Evidencias de la importancia funcional de ER β en el sistema vascular han sido proporcionadas por los fenotipos de ratones knockout ER α , ER β y ER α/β . De este modo, el estradiol exhibe efecto protector en modelo de arteriosclerosis (modelo de respuesta a lesiones vasculares) en ambos, ratones knockout ER α y ER β , indicando que el isotipo ER restante media el efecto protector (Iafrafi MD y otros. 1997, Nature Medicine 3: 545-548). El efecto protector del estradiol se pierde en ratones doble knockout ER α /ER β (Karas RH y otros. 2001, Circ Res 89:534-539).

La función vascular anómala y la hipertensión han sido observadas en ratones ER β -deficientes (Zhu Y y otros. 2002, Science 295: 505-508). Los datos confirman el papel esencial de ER β en la regulación de la función vascular y la presión sanguínea.

30 *Ligandos ER y su efecto en el sistema cardiovascular*

A diferencia del ligando ER natural 17 β -estradiol y los estrógenos conjugados (el principio activo en PREMARIN) usado en la terapia de reemplazo hormonal (HRT), los efectos de los agonistas ER de subtipo selectivo en el sistema cardiovascular no han sido estudiados en detalle. Considerando que 17 β -estradiol así como los estrógenos conjugados y estrógenos sintéticos estimulan el endometrio uterino y por consiguiente son administrados a menudo en combinación con progestina, los estrógenos de isotipo selectivo se espera que permitan la terapia estrogénica sin causar efectos estimulatorios indeseables por ejemplo en el útero y en el hígado. La estimulación del endometrio uterino con estrógenos se supone que esté asociada con un riesgo incrementado de carcinoma endometrial (Harlap S 1002, Am J Obstet Gynecol 166: 1986-1992).

Una clase de estrógenos selectivos que exhibe efectos similares a los estrogénicos en el hueso y el sistema vascular pero efectos antiestrogénicos en el útero y el pecho son agonistas/antagonistas parciales ER. Ese tipo de estrógenos selectivos es denominado, Moduladores del Receptor Estrogénico Selectivo (SERM) (R.F. Kauffman, H.U. Bryant 1995, DNAP 8(9): 531-539). Para los SERMs una mejoría de la función endotelial ha sido mostrada, sin embargo, efectos beneficiosos de los SERMs en la presión sanguínea, hipertrofia cardíaca y rendimiento cardíaco no han sido descritos (Nickenig G, Baumer AT, Grohe C, Kahlert S, Strehlow K, Rosenkranz S, Stablein A, Beckers F, Smits JF, Daemen MJ, Vetter H, Boehm M. Estrogen modulates ATP1 receptor gene expression *in vitro* and *in vivo*. Circulation 1998; 97:2197-22019).

Recientemente, estrógenos selectivos ER β han sido identificados (por ejemplo WO 01/77139; PCT/EP03/06172, WO 02/26763; DE 100486349).

DE 10019167 describe estratrienos 8 β -sustituídos como ingredientes farmacéuticamente activos que tienen *in vitro* una afinidad superior para las preparaciones de receptores estrogénicos a partir de próstatas de rata que para las preparaciones de receptores estrogénicos a partir de útero de rata. DE 10019167 también describe el uso de estos compuestos para el tratamiento de enfermedades y condiciones inducidas por la deficiencia estrogénica y particularmente para la prevención de enfermedades cardiovasculares, especialmente las enfermedades vasculares tales como, arterioesclerosis, para la inhibición de la proliferación de células del músculo liso arterial y para el tratamiento de la alta presión sanguínea pulmonar primaria.

WO 03/104253 describe estratrienos 9 α -sustituídos como ingredientes farmacéuticamente activos que exhiben *in vitro* una afinidad superior para las preparaciones de receptores estrogénicos a partir de próstatas de rata que para las preparaciones de receptores estrogénicos a partir de útero de rata y de preferencia *in vivo* una acción preferencial sobre el ovario en comparación con el útero, su producción, su uso terapéutico y la dispensación de formas farmacéuticas conteniendo los estratrienos.

Invencción

Los presentes inventores han estudiado los efectos cardiovasculares de los agonistas selectivos ER β 8 β -Vinil-estra-1,3,5(10)-trien-3,17 β -diol y 17 β -Fluoro-9 α -vinil-estra-1,3,5(10)-trien-3,16 α -diol en ratas espontáneamente hipertensas, un sistema modelo establecido que imita la hipertensión humana esencial y la hipertrofia cardíaca (Dantas AP, Scivoletto R, Fortes ZB, Nigro D, Carvalho MH. Influence of female sex hormones on endothelium-derived vasoconstrictor prostanoid generation in microvessels of spontaneously hypertensive rats. Hypertension. 1999;34:914-9.). En la interpretación de estos estudios, fue observada una significativa reducción de la presión sanguínea sistólica así como diastólica en animales tratados con los compuestos 8 β -Vinil-estra-1,3,5(10)-trien-3,17 β -diol y 17 β -Fluoro-9 α -vinil-estra-1,3,5(10)-trien-3,16 α -diol.

Sorprendentemente, el desarrollo de hipertrofia cardíaca como calculado por morfometría así como MRI cardíaco *in vivo* fue significativamente inhibido en estos animales tras tratamiento con 8 β -Vinil-estra-1,3,5(10)-trien-3,17 β -diol y 17 β -Fluoro-9 α -vinil-estra-1,3,5(10)-trien-3,16 α -diol. Estudios hemodinámicos invasivos y no invasivos indicaron una significativa mejoría del rendimiento cardíaco en animales tratados con los compuestos 8 β -Vinil-estra-1,3,5(10)-trien-3,17 β -diol y 17 β -Fluoro-9 α -vinil-estra-1,3,5(10)-trien-3,16 α -diol.

Basado en estos resultados, se concluye que los agonistas ER β selectivos 8 β -Vinil-estra-1,3,5(10)-trien-3,17 β -diol y 17 β -Fluoro-9 α -vinil-estra-1,3,5(10)-trien-3,16 α -diol ofrecen un nuevo enfoque para la prevención y tratamiento de una o más de las condiciones seleccionadas a partir del grupo de (1) hipertensión, (2) hipertrofia cardíaca y (3) insuficiencia cardíaca en humanos.

De acuerdo con la presente invención los agonistas ER β selectivos 8 β -Vinil-estra-1,3,5(10)-trien-3,17 β -diol y 17 β -Fluoro-9 α -vinil-estra-1,3,5(10)-trien-3,16 α -diol y profármacos de los mismos pueden ser usados en la producción de medicamentos para la prevención y tratamiento de una o más condiciones seleccionadas a partir del grupo de (1) hipertensión, (2) hipertrofia cardíaca y (3) insuficiencia cardíaca.

Los compuestos son apropiados para ser usados para estas indicaciones en hembras y machos.

Los agonistas ER β -selectivos 8 β -Vinil-estra-1,3,5(10)-trien-3,17 β -diol y 17 β -Fluoro-9 α -vinil-estra-1,3,5(10)-trien-3,16 α -diol se usan sin la co-administración de progestina adicional para los propósitos de la invención. Esto es a causa de que los agonistas ER β -selectivos no conducirán a la estimulación del endometrio el cual en el caso del uso de compuestos agonísticos-ER α tendrían que ser antagonizados por co-administración de progestina.

Los agonistas ER β -selectivos 8 β -Vinil-estra-1,3,5(10)-trien-3,17 β -diol y 17 β -Fluoro-9 α -vinil-estra-1,3,5(10)-trien-3,16 α -diol son especialmente apropiados para ser usados para los propósitos de la invención para mujeres que exhiben reducidos niveles de estrógeno endógeno debido al descenso de la función ovárica posmenopáusica o la castración química o quirúrgica.

Como aspecto adicional de la invención los agonistas ER β -selectivos pueden ser administrados en combinación con (en adición a) antiestrógenos y/o inhibidores de aromatasa los cuales son administrados para el tratamiento de tumores dependiente e independiente de hormonas. El propósito de la administración de los agonistas ER β -selectivos es prevenir los efectos perjudiciales de la falta de estrógeno en el sistema cardiovascular, específicamente los efectos negativos en la presión sanguínea y la función cardíaca.

Aún como aspecto adicional de la invención los agonistas ER β -selectivos pueden ser dados en combinación con antiestrógenos, inhibidores de aromatasa o Moduladores del Receptor Estrogénico Selectivo (SERM) usados para el tratamiento de hiperplasia de próstata para prevenir los efectos perjudiciales de la falta de estrógeno en el sistema cardiovascular, específicamente los efectos negativos en la presión sanguínea y la función cardíaca.

El antiestrógeno a ser usado puede ser por ejemplo 7 α -[9-[(4,4,5,5,5-pentafluoropentil)sulfinil]nonil]estra-1,3,5(10)-trien-3,17 β -diol (fulvestrant).

El inhibidor de aromatasa a ser usado puede ser seleccionado a partir del grupo de los siguientes compuestos: anastrozol, atamestano, fadrozol, formestano, letrozol.

Los SERM a ser usados pueden ser seleccionado a partir del grupo de los siguientes compuestos: raloxifeno, tamoxifeno, 5-(4-{5-[(RS)-(4,4,5,5,5-pentafluoropentil)sulfinil]pentiloxi}fenil)-6-fenil-8,9-dihidro-7H-benzocicloheptan-2-ol (WO 00/03979).

Los compuestos pueden ser usados para ambas indicaciones mencionadas después de la administración oral y parental.

La cantidad de compuestos con actividad agonista-ER β que es administrada varía dentro de un amplio rango y puede cubrir cualquier cantidad efectiva. Sobre la base de la condición que esta siendo tratada o el efecto a ser logrado y el tipo de administración, la cantidad de compuesto que es administrada puede ser 0.001 mg/kg - 100 mg/kg de peso corporal, preferentemente 0.003 mg/kg - 30 mg/kg de peso corporal, por día.

En humanos, esto corresponde a una dosis de 0.080 mg a 8000 mg, preferentemente 0.240 a 2400 mg, diario.

De acuerdo con la invención, la unidad de dosis contiene 0.08 mg a 2000 mg de uno o ambos compuestos con actividad agonista-ER β .

5 Composiciones farmacéuticas o agentes farmacéuticos que contienen compuestos con actividad agonista-ER β a ser usados de acuerdo con la invención contienen como ingrediente activo uno o ambos compuestos 8 β -Vinil-estra-1,3,5(10)-trien-3,17 β -diol y 17 β -Fluoro-9 α -vinil-estra-1,3,5(10)-trien-3,16 α -diol, mezclados opcionalmente con otras sustancias farmacológicamente o farmacéuticamente activas. La producción de agentes farmacéuticos es llevada a
10 cabo de un modo conocido, por medio del cual los adyuvantes farmacéuticos conocidos y comúnmente usados, así como otros vehículos comúnmente usados y diluyentes pueden ser usados.

Tales vehículos y adyuvantes, por ejemplo, aquellos apropiados que son recomendados o indicados en las siguientes referencias bibliográficas como adyuvantes para farmacéuticos, cosméticos y campos relacionados: Ullmans
15 Encyklopädie der technischen Chemie [Enciclopedia Ullma's de Técnicas Químicas] volumen 4 (1953), páginas 1 a 39; Journal of Pharmaceutical Sciences, Volumen 52 (1963), página 918 ff., expedido por Czetsch-Lindenwald, Hilfss-
stoffe für Pharmazie und angrenzende Gebiete [Adyuvantes para Productos Farmacéuticos y Campos Relacionados];
Pharm. Ind., número 2, 1961, p.72 y ff.: Dr. H. P. Fledler, Lexikon der Hilfsstoffe für Pharmazie, Kosmetik und an-
20 grenzende Gebiete [Diccionario de Adyuvantes para farmacéuticos, cosméticos y campos relacionados], Cantor KG,
Aulendorf in Württemberg 117 β -Fluoro-9 α -vinil-estra-1,3,5(10)-trien-3,16 α -diol 971.

Los compuestos pueden ser administrados oral o parenteralmente, por ejemplo intraperitonealmente, intramuscu-
larmente, subcutáneamente, percutáneamente o intravenosamente. Los compuestos pueden también ser implantados
25 subcutáneamente en forma de sistemas de liberación lenta dentro del tejido.

Para la administración oral, cápsulas, píldoras, tabletas, tabletas recubiertas, etc, son apropiados. Además del in-
grediente activo, la unidad de dosis puede contener un vehículo farmacéuticamente compatible, tales como, almidón,
azúcar, sorbitol, gelatina, lubricante, ácido silícico, talco, etc.

30 Para la administración parenteral, los ingredientes activos pueden ser disueltos o suspendidos en un diluyente fisi-
ológicamente compatible. Como diluyentes, muy frecuentemente son usados los aceites con o sin la adición de solubi-
lizador, surfactante, agente de suspensión o agente emulsificante. Ejemplos de aceites que son usados son aceite de
oliva, aceite de maní, aceite de la semilla de algodón, aceite de soya, aceite de ricino y aceite de ajonjolí.

35 Los compuestos pueden también ser usados en forma de una inyección de depósito o preparación de un implante,
los cuales pueden ser formulados de manera que es lograda una liberación retardada del ingrediente activo.

Como materiales inertes, los implantes pueden contener, por ejemplo, polímeros biodegradables, o siliconas sinté-
ticas tales como, por ejemplo, goma de silicona. Además, para la administración percutánea, los ingredientes activos
40 pueden ser adicionados, por ejemplo como parche.

Para la producción de los sistemas intravaginales (por ejemplo anillos vaginales) o sistemas intrauterinos (ejemplo
óvulos, espirales, DIUs Mirena^(R)) que son cargados con un compuesto con actividad agonista-ER β o antagonista-ER β
para la administración local, varios polímeros son apropiados, tales como por ejemplo polímeros de silicona, etileno
45 vinil acetato, polietileno o polipropileno.

Para lograr mejor biodisponibilidad del ingrediente activo, los compuestos pueden ser formulados también como
ciclodextrinas clatratos. Para este propósito los compuestos son reaccionados con ciclodextrinas α -, β -, o γ o derivados
50 de estas (PCT/EP95/02656).

De acuerdo con la invención, los compuestos con actividad antagonista-ER β pueden ser también encapsulados con
liposomas.

55 Breve descripción de los dibujos

En las siguientes figuras agonista-ER β significa 8 β -Vinil-estra-1,3,5(10)-trien-3,17 β -diol y ER α significa 3,17 β -
dihidroxi-19-nor-17 α -pregna-1,3,5(10)-trien-21,16 α -lactona.

60 La Figura 1 es un gráfico que muestra el efecto del tratamiento con diferentes ligandos ER sobre el peso uterino en
SHR ovariectomizados (ovx).

La Figura 2 es un gráfico que muestra el efecto del tratamiento con diferentes ligandos ER sobre el peso corporal
de SHR ovx.

65 La Figura 3 es un gráfico que muestra el efecto del tratamiento con diferentes ligandos ER sobre la presión san-
guínea (SAP) de SHR ovx (media de dos estudios).

ES 2 307 064 T3

La Figura 4 es un gráfico que muestra el efecto del tratamiento con diferentes ligandos ER sobre el rendimiento cardíaco de SHR ovx (media de dos estudios).

La Figura 5 es un gráfico que muestra el efecto del tratamiento con diferentes ligandos ER sobre el volumen de derrame cerebral en SHR ovx (media de dos estudios).

La Figura 6 es un gráfico que muestra el efecto del tratamiento con diferentes ligandos ER sobre el peso cardíaco en SHR ovx (media de dos estudios).

10

Métodos

Estudios de unión al receptor estrogénico

15 La afinidad de la unión de 8β -vinil-estra-1,3,5(10)-trien-3,17 β -diol y 17β -fluor-9 α -vinil-estra-1,3,5(10)-trien-3,16 α -diol fue determinada por experimentos competitivos usando estradiol-[3H] como ligando. El receptor conteniendo citosol fue preparado a partir de próstatas de ratas (ER β conteniendo citosol) y útero de ratas (ER α conteniendo citosol).

20 La preparación de citosol de útero de rata y el estudio de unión fue llevado a cabo como descrito (Stack, Gorski 1985, Endocrinology 117, 2024-2032) con algunas modificaciones como descrito por Fuhrmann y otros. (Fuhrmann, U. y otros. 1995, Contraception 51: 45-52).

25 La preparación del citosol de próstata de rata y el estudio de unión fueron desempeñados como descrito (Testas, J. y otros, 1981, Endocrinology 109: 1287-1289).

30 8β -Vinil-estra-1,3,5(10)-trien-3,17 β -diol y 17β -Fluoro-9 α -vinil-estra-1,3,5(10)-trien-3,16 α -diol exhiben afinidad de unión superior para la próstata de rata comparado con el receptor estrogénico de útero de rata, ER β siendo el ER predominante en la próstata de rata, ER α en útero de rata. De acuerdo con esta suposición, fue encontrado que 8β -Vinil-estra-1,3,5(10)-trien-3,17 β -diol y 17β -Fluoro-9 α -vinil-estra-1,3,5(10)-trien-3,16 α -diol exhiben afinidad superior para ER β humano comparado con ER α , los receptores humanos siendo expresados por el sistema de expresión Baculovirus/SF-9.

35 *Estudio del efecto de los agonistas ER β 8β -Vinil-estra-1,3,5(10)-trien-3,17 β -diol y 17β -Fluoro-9 α -vinil-estra-1,3,5(10)-trien-3,16 α -diol sobre la presión sanguínea y la función cardíaca en ratas espontáneamente hipertensas (SHR)*

40 Los efectos de los agonistas-ER β sobre la presión sanguínea (BP) en SHR ovariectomizados, un modelo animal de enfermedad cardíaca hipertensiva ampliamente aceptado, fueron investigados en tres estudios independientes. El estradiol y el agonista esterooidal ER α 3,17 β -dihidroxi-19-nor-17 α -pregna-1,3,5(10)-trien-21,16 α -lactona fueron usados como referencias.

45 *Alojamiento y cuidado animal*

Ratas hembras espontáneamente hipertensas (SHR-Nico; 12 semanas de edad, Laboratorios Charles River) fueron usadas para el experimento. Todos los animales fueron mantenidos bajo condiciones estándares (por ejemplo ciclo ON/OFF de luz de 12 h, dieta comercial y agua sin limitación). Los animales fueron asignados aleatoriamente a los diferentes grupos de tratamiento como esbozado abajo. Todos los animales fueron marcados individualmente por etiqueta en la oreja.

55 *Ovariectomía y tratamiento*

Ratas hembras (SHR; 12 semanas de edad) fueron ovariectomizadas (ovx) y tratadas durante 4 semanas comenzando el primer día después de ovx de acuerdo con el protocolo esbozado abajo.

60 *Fármacos*

Todos los compuestos fueron inoculados diariamente usando etanol (EtOH)/aceite de maní 4+1 como vehículo.

65

ES 2 307 064 T3

Protocolo de estudio y mediciones hemodinámicas

5	Grupo	Etapa de tratamiento	Animales/Grupo
10	1. OP falso	12 a 16 semanas de edad	10
15	2. ovx, EtOH/aceite de maní	12 a 16 semanas de edad	10
20	3. ovx, 17 β -estradiol (2 μ g/kg bw/d)	12 a 16 semanas de edad	10
25	4. ovx, 3,17 β -dihidroxi- 19-nor-17 α -pregna- 1,3,5(10)-trien- 21,16 α -lactona (30 μ g/kg bw/d/sc)	12 a 16 semanas de edad	10
30			
35			
40	5. ovx, agonistas ER β 8 β -Vinil-estra- 1,3,5(10)-trien- 3,17 β -diol (30 μ g/kg bw/d/sc)	12 a 16 semanas de edad	10
45			
50	[ó 17 β -Fluoro-9 α -vinil- estra-1,3,5(10)-trien- 3,16 α -diol (30 μ g/kg bw/d/sc)		
55	respectivamente]		
60			

SHR hembras de 12 semanas de edad (Charles RiverTM) fueron ovariectomizadas u operadas en falso. Comenzando el primer día después de la ovariectomía los animales fueron aleatoriamente seleccionados para la inyección subcutánea diaria de 17 β -estradiol (E2, 2 μ g/kg peso corporal/d), el agonista selectivo ER α 3,17 β -dihidroxi-19-nor-17 α -pregna-1,3,5(10)-trien-21,16 α -lactona (WO 02/26763) (30 μ g/kg peso corporal/d), el agonista selectivo ER β 8 β -Vinil-estra-1,3,5(10)-trien-3,17 β -diol (ó 17 β -Fluoro-9 α -vinil-estra-1,3,5(10)-trien-3,16 α -diol, respectivamente (30 μ g/kg peso corporal/d) o placebo. Todos los animales tuvieron libre acceso a comida estándar de rata y agua. E2, 3,17 β -dihidroxi-19-nor-17 α -pregna-1,3,5(10)-trien-21,16 α -lactona y 8 β -Vinil-estra-1,3,5(10)-trien-3,17 β -diol (ó 17 β -Fluo-

ro-9 α -vinil-estra-1,3,5(10)-trien-3,16 α -diol fueron disueltos en etanol e inyectados diariamente empelando aceite de maní como sustancia portadora, animales placebo recibieron solo etanol/aceite de maní. Después de 4 semanas fueron medidos los parámetros hemodinámicos de tratamiento como se describió previamente (Fraccarollo D, Hu K, Galuppo P, Graudon P, Ertl G. (1997), *Circulation*. 1997;96:3963-3973) y los animales fueron eutanizados.

5

Hemodinámicas in vivo

Los siguientes parámetros fueron determinados: presión sanguínea media, sistólica, diastólica,; fracción de eyección ventricular izquierda, presión ventricular izquierda sistólica y diastólica, rendimiento cardíaco, índice cardíaco, ritmo cardíaco, resistencia vascular sistémica. Todas las medidas fueron desempeñadas en reposo bajo anestesia con isoflurano.

15 *Hipertrofia cardíaca*

La hipertrofia cardíaca en todos los animales fue determinada midiendo el peso total cardíaco y la posterior normalización de la longitud de la tibia.

20

Peso uterino

El peso de útero fresco fue medido como un indicador de la acción estrogénica clásica mediada por ER α .

25

Estadística

Los valores son expresados como la media \pm SEM de los parámetros a partir de diferentes animales. El análisis estadístico fue desempeñado por el análisis de la varianza direccional (ANOVA) seguido por la prueba *post hoc* Bonferroni. Valores P < 0.05 fueron considerados estadísticamente significativos.

30

Resultados

Los resultados proporcionan claras evidencias para los efectos favorables de 8 β -Vinil-estra-1,3,5(10)-trien-3,17 β -diol (ó 17 β -Fluoro-9 α -vinil-estra-1,3,5(10)-trien-3,16 α -diol en modelos animales de hipertensión, hipertrofia cardíaca e insuficiencia cardíaca (ratas SHR).

35

40

- 8 β -Vinil-estra-1,3,5(10)-trien-3,17 β -diol (dosis: 30 μ g/kg/d), a diferencia del estradiol estrogénico natural (2 μ g/kg/d) y del agonista ER α 3,17 β -dihidroxi-19-nor-17 α -pregna-1,3,5(10)-trien-21,16 α -lactona(dosis: 30 μ g/kg/d), no causan estimulación ninguna del crecimiento uterino ni afectan el fenotipo adiposo ovx-inducido de SHR ovx (figuras 1, 2).

45

- 8 β -Vinil-estra-1,3,5(10)-trien-3,17 β -diol bajó los niveles de presión sanguínea en SHR comparado con los animales (placebo) tratados con el vehículo. El compuesto fue más efectivo que el estradiol y el agonista ER α 3,17 β -dihidroxi-19-nor-17 α -pregna-1,3,5(10)-trien-21,16 α -lactona (figura 3).

50

- 8 β -Vinil-estra-1,3,5(10)-trien-3,17 β -diol aumentó los índices del desempeño ventricular izquierdo global en ratas SHR deficientes en estradiol así como el rendimiento cardíaco, el volumen de derrame ventricular izquierdo (figuras 4, 5) y el índice cardíaco.

55

- 8 β -Vinil-estra-1,3,5(10)-trien-3,17 β -diol, diferente del estradiol y del agonista ER α 3,17 β -dihidroxi-19-nor-17 α -pregna-1,3,5(10)-trien-21,16 α -lactona, causó un efecto inhibitorio en la hipertrofia cardíaca indicado por la reducción en el peso cardíaco comparado con las ratas placebo tratadas (figura 6).

60

- 17 β -Fluoro-9 α -vinil-estra-1,3,5(10)-trien-3,16 α -diol (dosis: 30 μ g/kg/d) fue probado en un experimento independiente usando el mismo estudio diseñado. El agonista ER exhibió un perfil farmacológico similar a 8 β -Vinil-estra-1,3,5(10)-trien-3,17 β -diol en SHR (datos no mostrados).

65

REIVINDICACIONES

- 5 1. Uso de los agonistas ER β 8 β -Vinil-estra-1,3,5(10)-trien-3,17 β -diol y/o 17 β -Fluoro-9 α -vinil-estra-1,3,5(10)-trien-3,16 α -diol para la producción de medicamentos para el tratamiento de enfermedades cardíacas hipertensivas.
- 10 2. Uso de los agonistas ER β 8 β -Vinil-estra-1,3,5(10)-trien-3,17 β -diol y/o 17 β -Fluoro-9 α -vinil-estra-1,3,5(10)-trien-3,16 α -diol de acuerdo con la reivindicación 1 para la producción de medicamentos para el tratamiento de más de una de las condiciones seleccionadas a partir del grupo de (1) hipertensión, (2) hipertrofia cardíaca y (3) insuficiencia cardíaca.
- 15 3. Uso de los agonistas ER β 8 β -Vinil-estra-1,3,5(10)-trien-3,17 β -diol para la producción de medicamentos para el tratamiento de una o más de las condiciones seleccionadas a partir del grupo de (1) hipertensión, (2) hipertrofia cardíaca y (3) insuficiencia cardíaca.
- 20 4. Uso de los agonistas ER β 17 β -Fluoro-9 α -vinil-estra-1,3,5(10)-trien-3,16 α -diol para la producción de medicamentos para el tratamiento de una o más de las condiciones seleccionadas a partir del grupo de (2) hipertrofia cardíaca y (3) insuficiencia cardíaca.
- 25 5. Uso de los agonistas ER β 8 β -Vinil-estra-1,3,5(10)-trien-3,17 β -diol y/o 17 β -Fluoro-9 α -vinil-estra-1,3,5(10)-trien-3,16 α -diol de acuerdo con la reivindicación 1 para el tratamiento de enfermedades cardíacas hipertensivas relacionadas a la deficiencia de estrógeno.
- 30 6. Uso de acuerdo con la reivindicación 5 para el tratamiento disfunción vascular relacionada con la hipertensión.
- 35 7. Uso de acuerdo con la reivindicación 6 para el tratamiento disfunción vascular relacionada con la no producción del daño vascular.
- 40 8. Uso de acuerdo con la reivindicación 6 para el tratamiento de la insuficiencia cardíaca.
- 45 9. Uso de acuerdo con la reivindicación 6 para el tratamiento de la hipertrofia cardíaca.
- 50 10. Uso de los agonistas ER β 8 β -Vinil-estra-1,3,5(10)-trien-3,17 β -diol y/o 17 β -Fluoro-9 α -vinil-estra-1,3,5(10)-trien-3,16 α -diol de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 5 a 9 en mujeres posmenopáusicas.
- 55 11. Uso de los agonistas ER β 8 β -Vinil-estra-1,3,5(10)-trien-3,17 β -diol y/o 17 β -Fluoro-9 α -vinil-estra-1,3,5(10)-trien-3,16 α -diol de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 5 a 10 en mujeres ovariectomizadas.
- 60 12. Uso de los agonistas ER β 8 β -Vinil-estra-1,3,5(10)-trien-3,17 β -diol y/o 17 β -Fluoro-9 α -vinil-estra-1,3,5(10)-trien-3,16 α -diol de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 5 a 10 en mujeres tratadas con agonistas GnRH o antagonistas GnRH.
- 65 13. Uso de los agonistas ER β 8 β -Vinil-estra-1,3,5(10)-trien-3,17 β -diol y/o 17 β -Fluoro-9 α -vinil-estra-1,3,5(10)-trien-3,16 α -diol de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 5 a 10 en mujeres tratadas con al menos uno de los compuestos del grupo de antiestrógenos, SERMs o inhibidores de aromatasa.
14. Uso de los agonistas ER β 8 β -Vinil-estra-1,3,5(10)-trien-3,17 β -diol y/o 17 β -Fluoro-9 α -vinil-estra-1,3,5(10)-trien-3,16 α -diol de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 5 a 9 en varones tratados con al menos uno de los compuestos seleccionados del grupo de antiestrógenos, SERMs, agonistas GnRH, antagonistas GnRH, inhibidores de aromatasa o progestinas.
15. Uso de acuerdo con la reivindicación 8 para mejorar el rendimiento cardíaco disminuido y/o el volumen de derrame en la insuficiencia cardíaca.
16. Uso de los agonistas ER β 8 β -Vinil-estra-1,3,5(10)-trien-3,17 β -diol y/o 17 β -Fluoro-9 α -vinil-estra-1,3,5(10)-trien-3,16 α -diol de acuerdo con la reivindicación 15 en mujeres posmenopáusicas.
17. Uso de los agonistas ER β 8 β -Vinil-estra-1,3,5(10)-trien-3,17 β -diol y/o 17 β -Fluoro-9 α -vinil-estra-1,3,5(10)-trien-3,16 α -diol de acuerdo con la reivindicación 16 en mujeres ovariectomizadas.
18. Uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 15 a 17 en mujeres tratadas con agonistas GnRH o antagonistas GnRH.
19. Uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 15 a 17 en mujeres tratadas con al menos uno de los compuestos del grupo de antiestrógenos, SERMs o inhibidores de aromatasa.

ES 2 307 064 T3

20. Uso de los agonistas ER β 8 β -Vinil-estra-1,3,5(10)-trien-3,17 β -diol y/o 17 β -Fluoro-9 α -vinil-estra-1,3,5(10)-trien-3,16 α -diol de acuerdo con la reivindicación 15 ó 16 en varones tratados con al menos uno de los compuestos seleccionados del grupo de antiestrógenos, SERMs, agonistas GnRH, antagonistas GnRH, inhibidores de aromatasa o progestinas.

5

21. Uso de los agonistas ER β 8 β -Vinil-estra-1,3,5(10)-trien-3,17 β -diol y/o 17 β -Fluoro-9 α -vinil-estra-1,3,5(10)-trien-3,16 α -diol de acuerdo con la reivindicación 1 para el tratamiento de hipertensión relacionada con el embarazo.

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

Figura 1

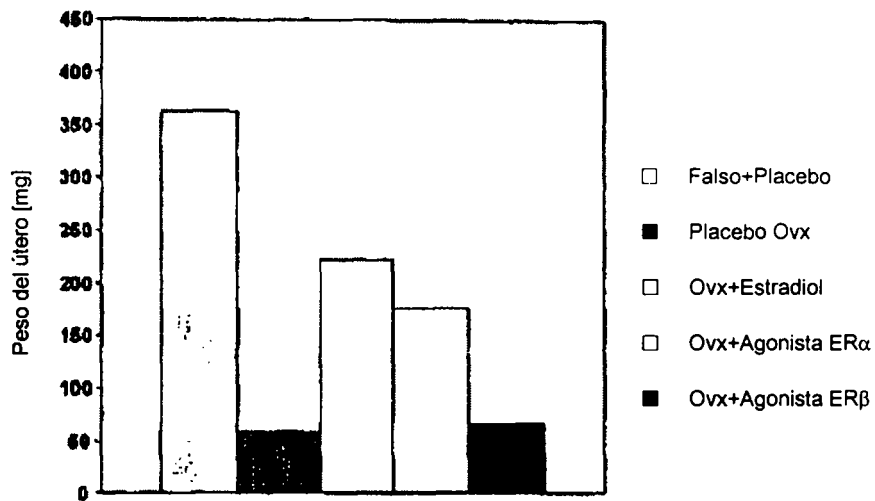


Figura 2:

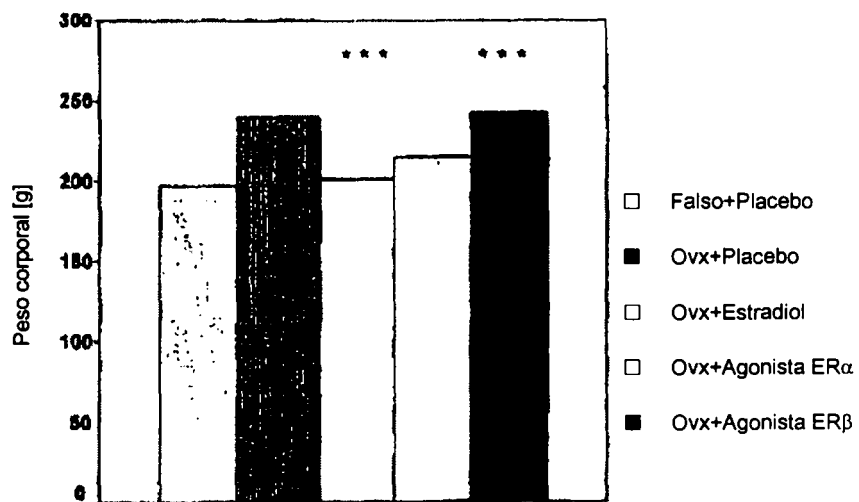


Figura 3:

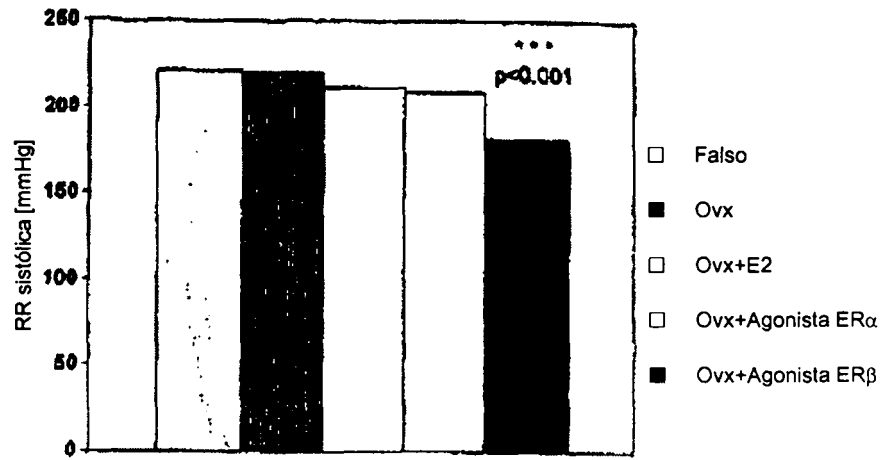


Figura 4:

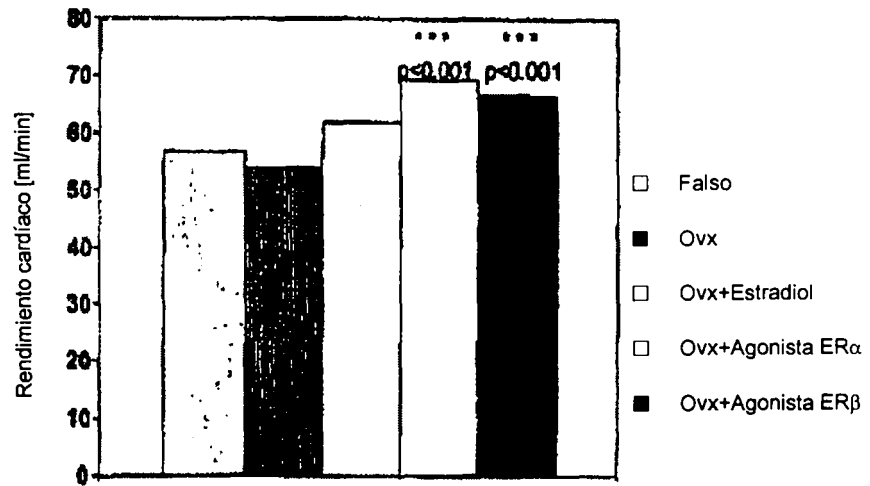


Figura 5:

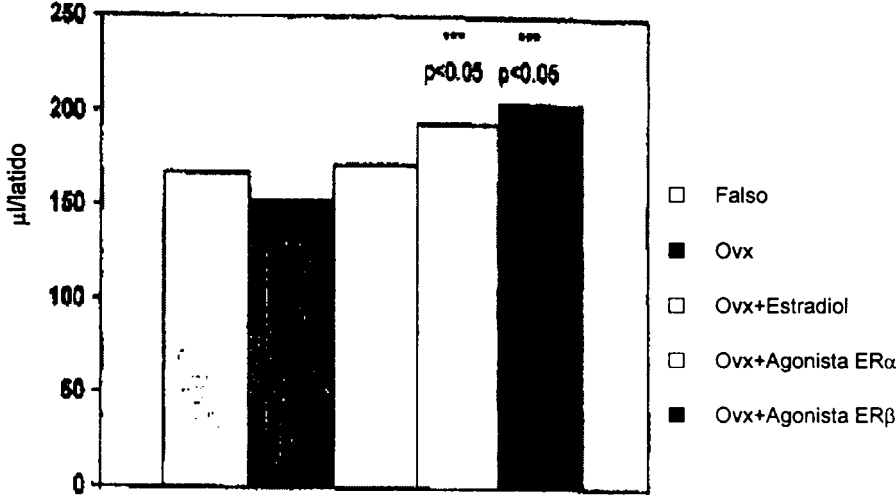


Figura 6:

