



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 102753564 B

(45)授权公告日 2017.04.05

(21)申请号 201080059521.4
 (22)申请日 2010.11.30
 (65)同一申请的已公布的文献号
 申请公布号 CN 102753564 A
 (43)申请公布日 2012.10.24
 (30)优先权数据
 12/627,874 2009.11.30 US
 (85)PCT国际申请进入国家阶段日
 2012.06.27
 (86)PCT国际申请的申请数据
 PCT/US2010/058342 2010.11.30
 (87)PCT国际申请的公布数据
 W02011/066542 EN 2011.06.03
 (73)专利权人 安德斯有限责任公司
 地址 美国威斯康星
 (72)发明人 J·G·雅格尔
 (74)专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专
 利商标事务所 11038
 代理人 李华英

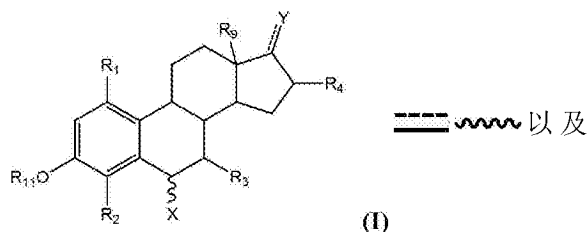
(51)Int.Cl.
 C07J 1/00(2006.01)
 A61K 31/565(2006.01)
 A61P 35/00(2006.01)
 (56)对比文件
 US 2008/0312202 A1,2008.12.18,说明书
 第[0029]-[0036]段.
 WO 2008/067450 A2,2008.06.05,说明书第
 1页第13-25行、第8页第5行至第9页第5行.
 US 3130210 ,1964.04.21,说明书第1栏第1
 行至第8栏第56行.
 US 2008/0119447 A1,2008.05.22,说明书
 第[0016]-[0020]段、流程图1、第[0050]段表1.
 Mitsuteru Numazawa et al..Structure-
 activity relationships of 2-, 4-, or 6-
 substituted estrogens as aromatase
 inhibitors.《Journal of Steroid
 Biochemistry & Molecular Biology》.2005,第
 96卷51-58.

审查员 于治萍

权利要求书2页 说明书41页

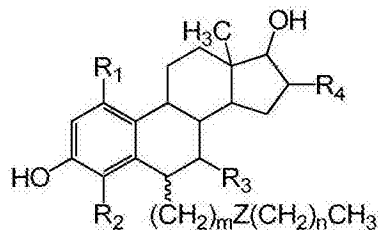
(54)发明名称
 6-取代的雌二醇衍生物及其使用方法

(57)摘要
 本发明公开了下式(I)的化合物:



所述化合物各自的对映异构体、其它立体化学异构体、水合物、溶剂化物、互变异构体和药学上可接受的盐。该化合物适用于治疗多种类型的癌症。

1. 化合物, 具有下式:



其中Z是-O-;

m是2-8;


n是0-3;

R₁是氢;

R₂是氢;

R₃是氢;

R₄是氢; 并且

符号  表示任何类型的键而不考虑立体化学;

或各自的对映异构体、立体化学异构体和药学上可接受的盐。

2. 根据权利要求1的化合物, 其中C-13甲基和C-17羟基都为(S)-构型。

3. 根据权利要求1的化合物, 其选自:

(6S, 8R, 9S, 13S, 14S)-6-(2-甲氧基乙基)-13-甲基-7, 8, 9, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17-十氢-6H-环戊二烯并[a]菲-3, 17-二醇,

(6R, 8R, 9S, 13S, 14S)-6-(4-甲氧基丁基)-13-甲基-7, 8, 9, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17-十氢-6H-环戊二烯并[a]菲-3, 17-二醇,

(6R, 8R, 9S, 13S, 14S)-6-(6-甲氧基己基)-13-甲基-7, 8, 9, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17-十氢-6H-环戊二烯并[a]菲-3, 17-二醇,

(6R, 8R, 9S, 13S, 14S)-6-(8-甲氧基辛基)-13-甲基-7, 8, 9, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17-十氢-6H-环戊二烯并[a]菲-3, 17-二醇,

(6R, 8R, 9S, 13S, 14S)-13-甲基-6-(4-丙氧基丁基)-7, 8, 9, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17-十氢-6H-环戊二烯并[a]菲-3, 17-二醇,

(6R, 8R, 9S, 13S, 14S)-13-甲基-6-(5-乙氧基戊基)-7, 8, 9, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17-十氢-6H-环戊二烯并[a]菲-3, 17-二醇,

(6R, 8S, 9S, 14S)-6-(6-甲氧基己基)-7, 8, 9, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17-十氢-6H-环戊二烯并[a]菲-3, 17-二醇, 以及

(6S, 8S, 9S, 13S, 14S)-6-(6-甲氧基己基)-13-甲基-7, 8, 9, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17-十氢-6H-环戊二烯并[a]菲-3, 17-二醇。

4. 权利要求1-3中任一项的化合物在制备药物中的用途, 所述药物用于抑制癌症生长。

5. 权利要求4所述的用途, 其中所述癌症生长表示与选自以下的癌症有关的实体瘤: 乳腺癌、胰腺癌、肺癌、结肠癌、前列腺癌、卵巢癌、脑癌、肝癌、脾癌、肾癌、淋巴结癌、小肠癌、骨癌、胃癌、子宫内膜癌、睾丸癌、卵巢癌、中枢神经系统癌、皮肤癌、头和颈癌、食管癌和骨髓癌。

6. 权利要求4所述的用途, 其中所述化合物为药物组合物的形式, 所述药物组合物包含

权利要求1-3中任一项的化合物和药学上可接受的载体。

6-取代的雌二醇衍生物及其使用方法

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求享有于2009年11月30日提交的美国专利申请No.12/627,874的优先权利益。该申请的教导通过其整体引入本文。

技术领域

[0003] 本发明涉及如本文阐述和描述的6-取代的雌二醇化合物及其药学上可接受的盐或其前药的组合物及其制备和使用方法。本发明还涉及含有此类化合物(在体外或体内存在)的药物组合物,其用于诊断应用以及治疗增殖性病症,诸如癌症。

背景技术

[0004] 增殖性细胞障碍,诸如具体的是肿瘤和原发性恶性肿瘤{本文的癌症}鉴于其侵入周围组织并转移至体内远端组织的趋势而不确定。迄今为止,最常用的治疗瘤形成,特别是瘤形成的实体瘤形式的方法包括手术操作、放射疗法、药物化学疗法及前述方法的组合。

[0005] 由于每年超过百万的经诊断的癌症病例,并且在美国每年声称有超过50万生命患有癌症,所以对这类病症的新治疗方式的需求增加。前列腺癌、肺癌和结肠直肠癌仍然是男性中最常见的癌症;而乳腺癌,结肠直肠癌和肺癌是女性中最常见的癌症。

[0006] 近年来,在处置这些病症中取得了显著进展。在癌症临床处置中的成功实例中的至少一个是早期的诊断和目前正用于原发性乳腺癌治疗选择。另一个是应用在其受体位点或其合成点阻断雌激素作用的有效的并且无毒性的抗雌激素药。

[0007] 显然对雌激素受体功能和活性、结构及其功能的研究是众多近期研究的主题。雌激素受体属于一个结构上相关的配体-可诱导转录因子的大家族,包括已知为核受体的类固醇受体、甲状腺/类视黄醇受体、维生素D受体。虽然尚未描述出核受体的真实配体,但存在能够与此类受体结合并引起细胞响应的不同的小分子。

[0008] 雌激素以及雌激素受体调节剂与归类为 α 和 β 这两类的雌激素受体结合形成分离的分子复合物,所述复合物通过调节靶基因的表达产生多向性组织特异性效应。与配体结合的雌激素受体在多种分子通路中作为关键转录因子起作用,并且调节ER表达水平在决定细胞生长潜能中是重要的。

[0009] 虽然这两种类型的受体均与雌激素以及其它激动剂和拮抗剂结合,但是,这两种受体在机体内具有明显不同的局部浓度。除 α 和 β 型之间的一些结构差异外,当与雌激素形成复合物时,两者显示出相反的信号,存在雌激素受体 α (ER α)时雌激素激活转录,而存在雌激素受体 β (ER β)时雌激素抑制转录。

[0010] 他莫昔芬是主要的首选雌激素受体调节剂之一,它们已经成为用于乳腺癌激素治疗的一线疗法,既用于辅助治疗,又可用于治疗转移性疾病。他莫昔芬为结合雌激素受体的雌二醇的竞争性抑制剂,其抑制所述的雌激素受体的雌激素结合DNA上的雌激素结合元件。已有如下暗示,他莫昔芬对雌激素受体的结合作用显著改变雌激素受体的结构构型,使结合位点对任何内源性雌激素都丧失功能。受体的该结构形变可以解释与他莫昔芬应用有关

的严重副作用性质。

[0011] 他莫昔芬的至少另一个缺点在于其对非雌激素依赖性肿瘤无效并且在绝经前女性中效果降低。此外,他莫昔芬在生理条件下经历异构化,从治疗有效的抗雌激素化合物异构化为能够刺激雌激素依赖性肿瘤细胞生长的雌激素异构体,后者在特别是患有雌激素依赖性肿瘤的患者中产生了不期望的临床结果。

[0012] 美国专利No.4,732,904公开了其它类型的通常已知为腺化合物的雌激素受体拮抗剂。认为这些抗雌激素的腺化合物在生理条件下不异构化为雌激素化合物(estrogenic compounds),因此不存在所观察到的他莫昔芬的雌激素副作用。这些腺化合物被建议作为雌激素依赖性乳腺癌的替代治疗。其中取代的二苯甲酮硝基苯基腺,诸如4,4'-二羟基二苯甲酮-2,4-二硝基苯腺被描述为是优良的。

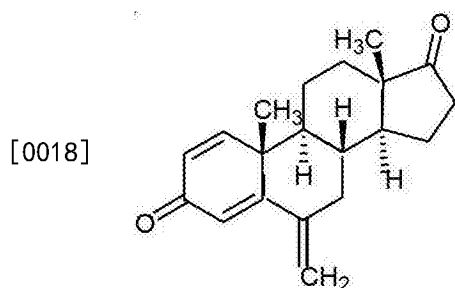
[0013] 受体和抗雌激素剂,诸如基于腺的化合物或他莫昔芬的复合物可以以非典型的方式结合于核染色质,结合时间长于普通的激素受体复合物。抗雌激素剂还能够耗尽胞浆中的游离受体。这些效果中的任一种或两者能够严重影响雌激素依赖性肿瘤的持续生长。

[0014] 对芳香酶抑制剂在特异性阻断雌激素局部产生中的应用的关注也已经增加,所述的雌激素的局部产生基本上促成激素应答性疾病,诸如乳腺癌。将芳香酶(CYP19)描述为将绝经前和绝经后女性中的雄激素转化成雌激素的主要酶。将通过芳香酶抑制作用造成的雌激素消耗描述为患有激素依赖性乳腺癌的某些绝经后患者的有效和选择性疗法。

[0015] 依西美坦(作为阿诺新销售,在化学上描述为6-亚甲基雄甾(androsta)-1,4-二烯-3,17-二酮)并且作为不可逆的甾体芳香酶失活剂起作用。它被认为作为芳香酶的假底物起作用并且被加工成不可逆结合该酶的活性位点的中间体,从而使其失活。美国专利US 4,808,616和US4,904,650中公开了6-亚烷基雄甾-1,4-二烯-3,17-二酮衍生物,诸如依西美坦及其制备方法,将该文献教导的内容完整地引入本文。美国专利US 4,876,045中公开了制备雄甾-1,4-二烯-3,17-二酮类的6-亚甲基衍生物的方法。美国专利US 4,990,635中公开了制备雄甾-1,4-二烯-3,17-二酮类的6-亚甲基衍生物的方法。

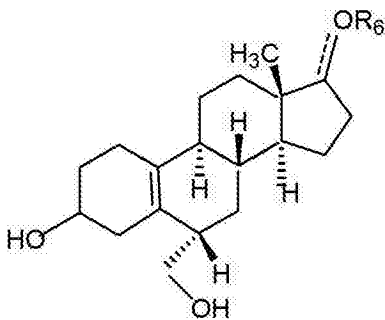
[0016] 可用于制备依西美坦的中间体的制备在美国专利US 3,274,176中公开。德国专利DD 258820中,由雄甾-1,4-二烯-3,17-二酮通过1,3-二吡咯烷并雄甾(dipyrrolidinoandrosta)-3,5-二烯-17-酮制备6-羟甲基-雄甾-1,4-二烯-3,17-二酮。

[0017] 于2005年1月14提交的共同未决的国际申请PCT/US2005/001248(PCT公开号W02005/070951)(其完整地引入本文作为参考)中还描述了用于制备依西美坦的中间体的制备方法。依西美坦的结构如下所示。



[0019] Schneider等人在“Course of the reaction of steroidal3,5-dienamines with formaldehyde”,*Helvetica Chimica Acta*(1973),56(7),2396-2404中公开了下述化合物:

[0020]



[0021] 当符号 \equiv 表示双键时,它意指酮基并且 R_6 不存在;并且当符号 \equiv 表示单键时, R_6 为氢(即醇基)。不同于本发明的化合物,Schneider的化合物不包括雌二醇、睾酮(testosterone)或二氢睾酮的变体。

[0022] 雌烷类的三羟基取代的衍生物在Tadanier等人的美国专利US3,377,363中公开,但本发明化合物的芳环上的3羟基取代物未公开。

[0023] De Funari等人的美国专利US 5,914,324中公开了用于高血压和心力衰竭的6-羟基和氧基雄甾烷衍生物。Gobbini等人的美国专利US6,384,250中公开了制备(E,Z)3-(2-氨基乙氧基亚氨基)-雄甾烷-6,17-二酮中6位上的羟基和酮取代物。这些化合物涉及治疗心力衰竭。6位上烷基羟基取代的作用未公开。

[0024] Tanenbaum等人在“Crystallographic comparison of the estrogen and progesterone receptor’s ligand binding domains”,Proc.Natl.Acad.Sci.USA, Biochemistry, Vol.95, pp 5998-6003中公开了ER受体的机制并且注意到含有3-羟基取代基的芳环的雌二醇充分结合ER配体结合区。其中公开不含19甲基取代基的平伏(flat)芳基是有利的。

[0025] D’Amato的美国专利5,892,069描述了在细胞有丝分裂过程中抑制微管蛋白聚合的雌二醇衍生物。鉴于以上情况,仍然存在鉴定新的有效用于治疗癌症的药物的需要。

[0026] 本领域的另一关注点是某些雌激素依赖性癌症,即乳腺癌向雌激素非依赖型的最终转化。这可以通过肿瘤细胞的天然分化缺失来解释。经常观察到雌激素依赖性癌细胞最终失去其产生雌激素-结合蛋白受体的能力,并退化成更具侵略性的雌激素非依赖性的危及生命的癌症。的确,使用抗雌激素剂治疗雌激素依赖性肿瘤可能导致雌激素非依赖性肿瘤细胞的克隆选择,从而可能促进雌激素依赖性癌症转化为雌激素非依赖性癌症。

[0027] 其它器官,诸如肺和结肠的癌症,可能与雌激素结合蛋白受体无关,因此认为其细胞复制不依赖于雌激素。此类雌激素非依赖性肿瘤对诸如他莫昔芬和芳香酶抑制剂等药物的抗雌激素性质不敏感。因此必须使用其它化疗药物治疗此类肿瘤。已证明有多种化合物对雌激素非依赖性肿瘤具有不同程度的效果。

[0028] 在很多参考文献中对这些化合物进行了综述,通常这些化合物与引起患者重大副作用的化学疗法组合施用。化学疗法中使用一般细胞毒类药物的根本原则基于观察到恶性肿瘤细胞以高于正常体细胞的速率复制并因此相应的对这些化合物更敏感。同样的,增殖迅速的正常组织(例如骨髓和肠上皮)一旦暴露于这些强效细胞毒类药物就面临重大损伤,此类毒性常常被限制其应用。

[0029] 在另一方面,具有小生长分数的缓慢生长的肿瘤,例如结肠或肺癌,常常对细胞毒类药物无应答。除雌激素依赖性和雌激素非依赖肿瘤的治疗外,很多细胞毒类药物目前用

于细胞迅速生长的其它增殖性疾病,包括非癌的或非恶性的过度增殖病症。

[0030] 病毒病,诸如AIDS、疱疹、多种类型的肝炎和细菌感染,特别是在免疫抑制患者中的有效治疗处置逐渐增加的重要性也需要具有有利的副作用特征的可替换治疗模式。

[0031] 因此,不仅需要新的、改进的、威胁易感患者群体生活质量的系统毒性的风险低的可用于治疗雌激素依赖性和雌激素非依赖性肿瘤的癌症化学疗法,还需要可受益于有效量雌二醇衍生物的靶向非癌的过度增殖性病症的治疗方案。过度增殖性细胞可以是正常的、迅速生长的细胞或不正常的细胞,并且可以包括具有迅速生长的内源性细胞或其不正常亚群的组织,或其它通常对患者为外源性的组织。

[0032] 现有技术中没有教导提供可以用于这些类型的病症的具有有利副作用特征的治疗性雌二醇衍生物。

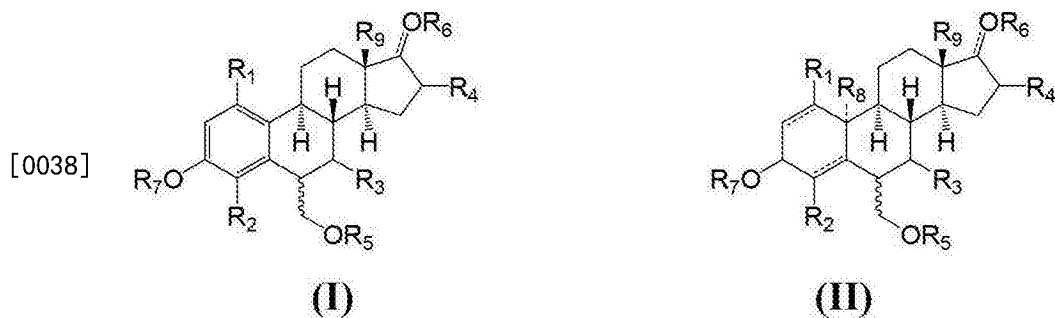
[0033] 发明概述

[0034] 如前所述,本发明涉及化学疗法的化合物、组合物及它们的使用和制备的方法,从而克服包括上述内容在内的现有技术中的多种缺陷和不足。因此,本发明的一个目的是提供用于治疗雌激素依赖性病症和肿瘤的化合物,其提供更好的患者耐受性、预后和顺应性。

[0035] 本发明的另一个目的是提供用于治疗雌激素非依赖性肿瘤的化合物和方法,所述化合物的副作用基本上少于那些目前患者可用的化合物。

[0036] 本发明的另一个目的是提供用于治疗受过度增殖病症影响的组织的化合物和可替代方法,所述病症包括病毒和细菌感染。

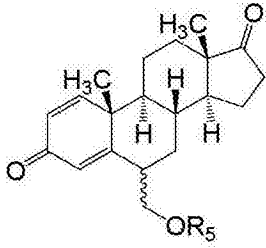
[0037] 本发明包括以式I-IV表示的下列化合物中的任何之一。本发明的一个方面涉及式I和II的化合物。



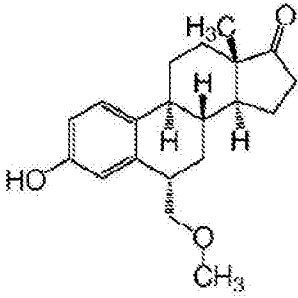
[0039] 其中R₁、R₂、R₃、R₄、R₅、R₆、R₇、R₈和R₉独立地选自氢、C₁-C₆烷基或取代的烷基、卤素、硫酸酯和葡萄糖醛酸苷部分;符号 --- 表示单键或双键并且当符号 --- 是双键且在3或17位形成酮基时,则R₇或R₆分别不存在;符号 --- 表示在10位存在或不存在的键;符号 ~~~~ 表示任何类型的键而不考虑立体化学或包括多种立体化学。化合物还包括其对映异构体、其它立体化学异构体、水合物、溶剂化物、互变异构体及药学上可接受的盐。

[0040] 在本发明的另一个方面,描述了具有式III的化合物,其中R₅如上所述。

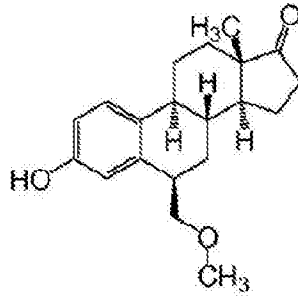
[0041]

**(III)**[0042] 其中R₅如上所述。

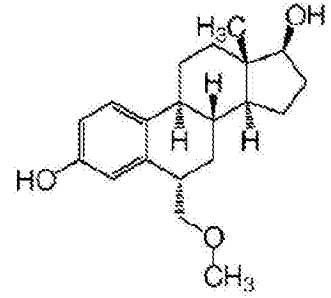
[0043] 式(I-III)的化合物的实例显示于下文：



1

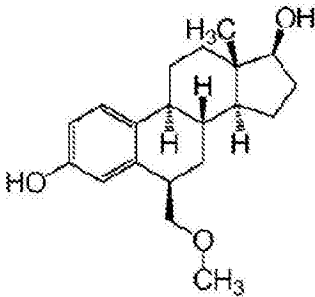


2

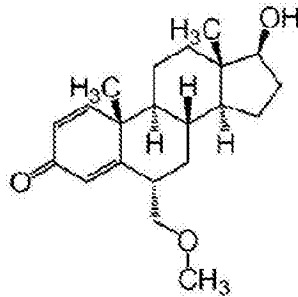


3

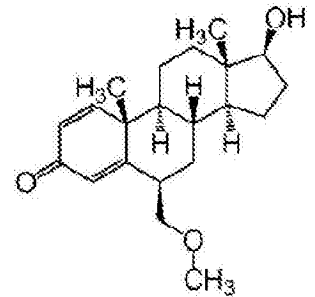
[0044]



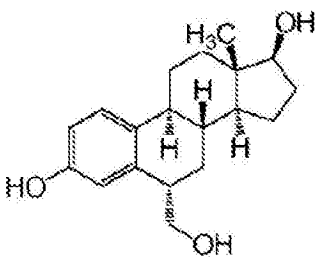
4



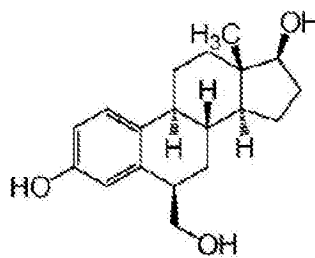
5



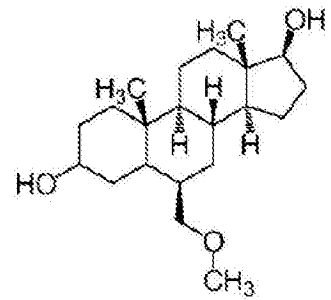
6



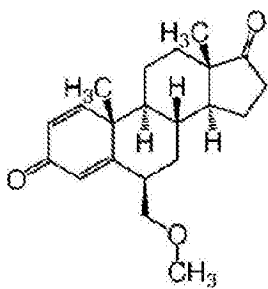
7



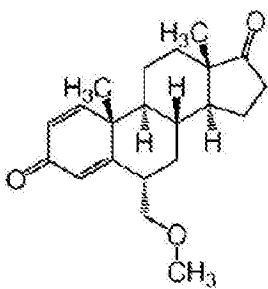
8



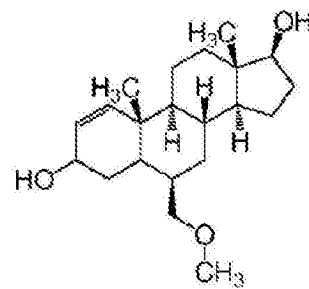
9



24

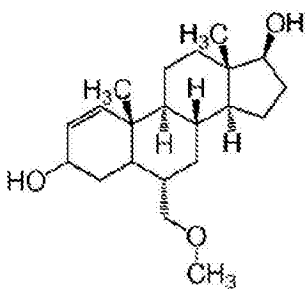


25

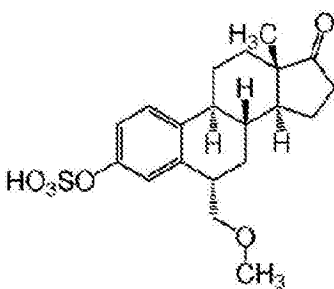


26

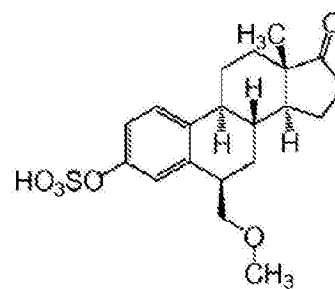
[0045]



27

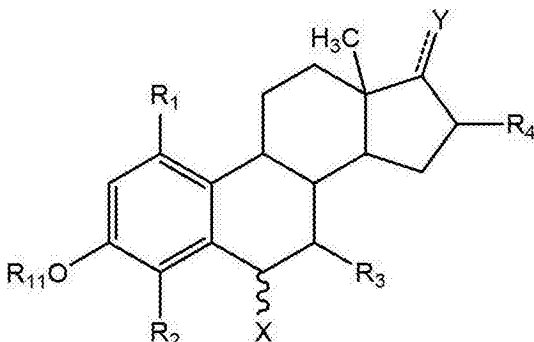


28



29



[0046] 本发明的另一个方面涉及式(I)-(III)化合物的胺衍生物。至少在本发明的该方面，胺部分位于分子核心上适合位置以改善物理和临床性质。式(IV)表示本发明通用的核心结构。式(IV)描述了具有此结构的化合物：



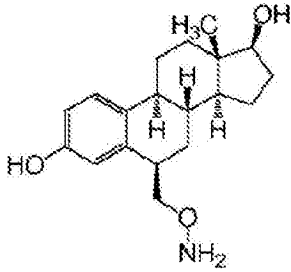
[0047]

(IV)

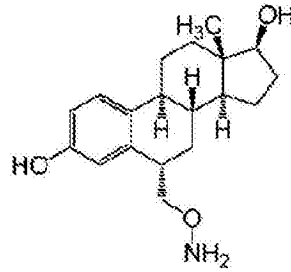
[0048] 其中R₁、R₂、R₃和R₄独立地是氢、C₁-C₆烷基、卤代、硫酸酯、葡萄糖醛酸苷、-OH、大体积基团(bulky group)、芳基、环烷基、杂芳基、杂环烷基、-N(CH₂)_n、磷酸酯基，和次磷酸酯基；R₁₁选自H、C₁-C₆烷基、卤素、硫酸酯、葡萄糖醛酸苷、-SO₂NH₂、-COOH、-CN、-CH₂CN-、-NHCN-、-CHO、=CHOCH₃、-COO盐、-OSO₂烷基、-NH₂和-NHCO(CH₂)_n；R₁₂选自H、C₁-C₆烷基、硫酸酯、葡萄糖醛酸苷、大体积基团、芳基、环烷基、杂芳基和杂环烷基；X选自C₁-C₁₂烷基、C₂-C₁₂烯基、C₂-C₁₂炔基、卤素、葡萄糖醛酸苷、-NH₂、-SO₂NH₂、-COOH、-CN、-CH₂CN、-NHCN、-CHO、-COO盐、-OSO₂烷基、-SH、-SCH₃、-CH[(CH₂)_nCH₃]COOCH₃、-(CH₂)_mCOOCH₃、-(CH₂)_m-O-CH₃、-(CH₂)_m-O-(CH₂)_nCH₃、(CH₂)_m-S-CH₃、-(CH₂)_m-S-(CH₂)_nCH₃、-(CH₂)_m-NH-(CH₂)_nCH₃、-C₂-C₈烯基-O-(CH₂)_nCH₃、-C₂-C₈烯基-S-(CH₂)_nCH₃、-C₂-C₈烯基-N-(CH₂)_nCH₃、-C₂-C₈炔基-O-(CH₂)_nCH₃、-C₂-C₈炔基-S-(CH₂)_nCH₃、-C₂-C₈炔基-N-(CH₂)_nCH₃、-(CH₂)_m-OH、-(CH₂)_m-NH₂、-(CH₂)_m-O-NH₂、-(CH₂)_m-S-NH₂、-NH(CH₂)_mCH₃、-NH(CH₂)_mOCH₃、-NH(CH₂)_mCHOH-COOH、-N(CH₃)₂、-(CH₂)_m(NH)CH₂OH、-NHCOOH、-(CH₂)_mNHCOOH、-NO₂、-SCN、-SO₂烷基、-B(OH)₂、-(CH₂)_mN(CH₃)-SO₂-NH₃、-(CH₂)_m-NH-

SO₂-NH₂、-NHC(=S)CH₃和-NHNH₂;以及Y选自氢、=O、-OCO(R₆)和-OH;其中m是在0-20之间的整数,n是在0-8之间的整数,符号  表示单键或能够在3或17位形成酮基的双键;以及符号  表示任何类型的键而不考虑立体化学或包括各种立体化学;以及所述化合物各自的对映异构体、其它立体化学异构体、水合物、溶剂化物、互变异构体和药学上可接受的盐。

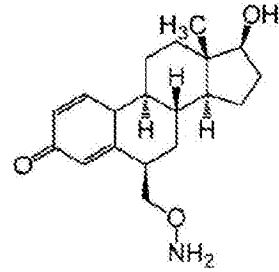
[0049] 式(IV)化合物的具体实例显示于下文:



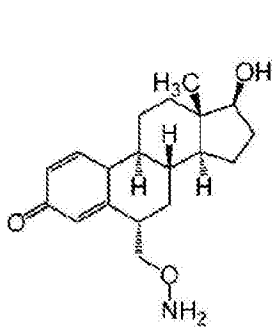
10



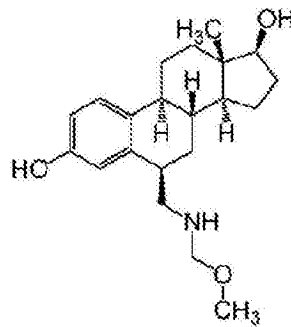
11



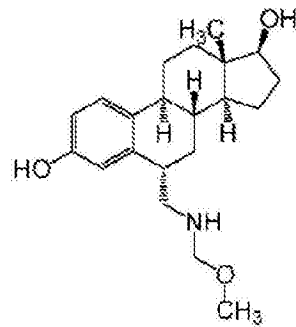
12



13

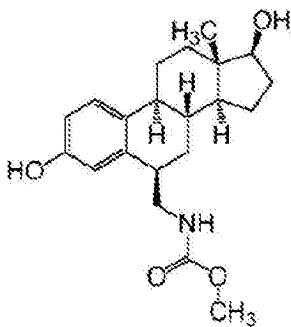


14

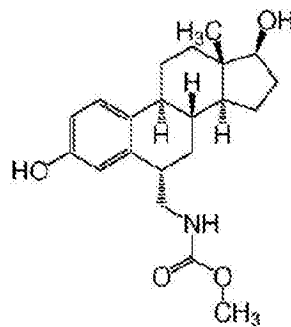


15

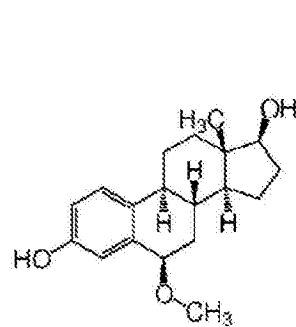
[0050]



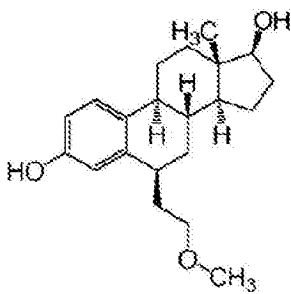
16



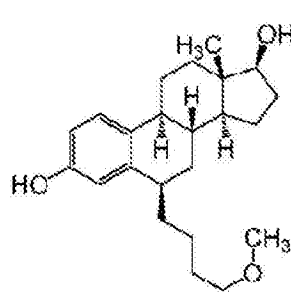
17



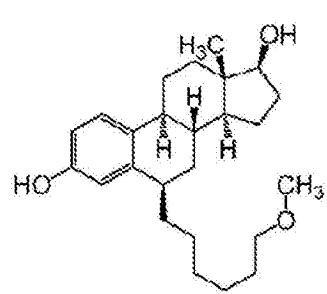
18



19



20



21

性疾病或难治性贫血。

[0056] 本发明的化合物还可以用于哺乳动物个体中基于组合治疗的癌症治疗。这类方法可以包括施用式(I)-(IV)的化合物并组合其它辅助癌症疗法,诸如化学疗法、放射疗法、基因疗法、激素疗法和其它本领域已知的癌症疗法。

[0057] 预计,本发明的任何化合物可以以药物、前药或甚至活性代谢物的形式施用于哺乳动物个体。在本发明的治疗方法中,术语“施用”应包括使用具体公开的化合物或可能未具体公开、但在施用于患者后在体内转化成特定的化合物并且表现出治疗活性的化合物,治疗所述的多种病症。

[0058] 本发明的其它目的、特征、有益性和优点从本概述和如下描述的某些实施方案中显而易见,并且对具有多种化学疗法的化合物、操作方法和/或方式的知识的本领域技术人员而言显而易见。

[0059] 发明详述

[0060] 除非另外定义,否则本文所用的所有技术术语和科学术语具有本发明所属技术领域普通技术人员通常所理解的相同的含义并且应理解为具有下述含义。将本文涉及的所有公开文献和专利完整地引入本文作为参考。除非另有限定,否则涉及的具体化合物包括所有这类化合物的异构体形式,包括其外消旋和其它混合物。除非另有限定,否则涉及的具体化合物还包括例如本文所述的其离子、盐、溶剂化物(例如水合物)、被保护形式、前药和其它立体异构体。

[0061] 制备、纯化和/或处理活性化合物的相应盐,例如药学上可接受的盐是方便或令人期望的。药学上可接受的盐的实例描述在Berge等人,1977,“Pharmaceutically Acceptable Salts,”J.Pharm.Sci.,Vol.66,pp.1-19中并且在本文中讨论。

[0062] 本发明的抗增殖性化合物具有治疗癌症的应用,且由此本发明进一步提供了抗癌药。本文所用的术语“抗癌药”涉及治疗癌症、延缓其进展、延长其复发期以及控制其症状的化合物(即用于治疗癌症的化合物)。抗癌作用可以通过一种或多种机制产生,包括但不限于调节细胞增殖、抑制血管发生(形成新血管)、抑制转移(肿瘤从其起源扩散)、抑制侵入(肿瘤细胞扩散入相邻的正常结构)、或促进细胞凋亡(程序性细胞死亡)、肿瘤坏死、肿瘤自体吞噬或其任何组合。

[0063] 本发明进一步提供了通过疗法用于治疗人或动物体的方法的活性化合物。这类方法可以包括施用于这类个体治疗有效量的活性化合物,优选如本文进一步讨论的药物组合物形式。

[0064] 如本文使用的术语“雌激素”包括天然形成的,并且能够穿过细胞膜,通过与雌激素受体结合在细胞内发挥其活性的甾体类激素。此类化合物的实例包括但不限于雌二醇、雌三醇或雌酮(estrols)和雌烯(esterenes)。

[0065] 本文在治疗病症的上下文中所用的术语“治疗”或“疗法”一般涉及哺乳动物个体的治疗或疗法,无论是人还是非人的动物(例如在兽医应用中),其中实现某些所需的治疗作用,例如抑制病症发展,并且包括减缓进展速率,使进展速率停止,改善病症和/或治愈病症。还包括作为预防性措施的治疗。治疗包括组合治疗和疗法,其中合并有两种或两种以上治疗或疗法,其例如相继或同时进行。治疗和疗法的实例包括但不限于化学疗法(施用活性剂,包括,例如药物、抗体(例如作为在免疫疗法中)、前药(例如使用保护基,包括在适合

位置,诸如3或17位上的磷酸衍生物和次磷酸酯,其它用于光动力疗法、GDEPT、ADEPT等的化合物);手术;放射疗法;和基因疗法。

[0066] 本文所用的术语“立体化学异构体”意指彼此仅在原子空间定向方面不同的异构体。在本发明中具有特别重要性的两种立体异构体为对映异构体和非对映异构体,这取决于两种异构体彼此是否为镜像。在优选的实施方案中,要求保护的制剂包含分离的、拆分的这样的化合物且“基本上不含其它异构体”。

[0067] 本文所用的术语“治疗有效量”涉及以具有相当的合理的利益/风险比且有效产生某些所需的治疗作用的活性化合物或材料、包含活性化合物的组合物或剂型的量。

[0068] 术语“患者”意指动物,包括哺乳动物,优选人类。

[0069] 术语“患者的部位”意指患有增殖性病症、癌症或肿瘤的患者特定区域或部分,并且在某些情况中意指遍及整个患者的部位。示例性的这类部位为肺部、胃肠部、乳腺部、肾部和其它身体部位,组织,淋巴细胞,受体,器官等,包括脉管系统、循环系统和癌性组织。“患者的部位”包括,例如用公开的化合物和组合物治疗的部位。“患者的部位”优选体内,不过可以为体外。

[0070] 术语“组织”一般意指可以执行特定功能的专用细胞。术语“组织”可以意指单个细胞或多个细胞或细胞聚集物,例如膜、血液或器官。术语“组织”还包括涉及的异常细胞或多个异常细胞。示例性的组织包括乳腺组织(包括乳腺细胞)、膜组织(包括内皮和上皮)、层、结缔组织(包括间质组织和肿瘤)。

[0071] 本发明中“烷基”意指具有1-20个,且优选1-12个碳原子的直链或支链烷基残基。实例包括但不限于甲基、乙基、丙基、异丙基、正-丁基、仲-丁基、叔-丁基、戊基、2-戊基、异戊基、新戊基、己基、2-己基、3-己基,以及3-甲基戊基。各烷基可以任选地被1个、2个或3个诸如卤代、环烷基、芳基、烯基或烷氧基等的取代基取代。

[0072] “芳基”意指具有单环(例如苯基)、多个环(例如联苯)或其中至少一个环是芳族的多个稠合环(例如1,2,3,4-四氢萘基)的芳族碳环残基。芳基还可以任选地被例如,卤代、烷基、烯基、环烷基或烷氧基等单-、双-或三取代。

[0073] “杂芳基”意指含有选自氮、氧或硫的至少一个和至多4个杂原子的5-、6-或7-元环的一个或多个稠合芳环系统。实例包括但不限于呋喃基、噻吩基、吡啶基、嘧啶基、苯并咪唑基和苯并噁唑基。杂芳基还可以任选地被例如,卤代、烷基、烯基、环烷基或烷氧基等单-、双-或三取代。

[0074] “环烷基”意指具有单环(例如环己基)、多个环(例如双环己基)或多个稠合环(例如)的碳环残基。环烷基可以任选地含有1-4个杂原子。此外,环烷基可以具有一个或多个双键。环烷基还可以任选地被例如,卤代、烷基、烯基、芳基或烷氧基等单-、双-或三取代。

[0075] “烷氧基”意指具有烷基部分的含氧基的残基。实例包括,但是不限于,甲氧基、乙氧基、丙氧基、丁氧基和叔-丁氧基。烷氧基还可以任选地被例如,卤代、芳基、环烷基或烷氧基等单-、双-或三取代。

[0076] “烯基”意指具有2-20个且优选2-6个碳原子,以及1-3个双键的直链或支链烃残基,包括例如,乙烯基、丙烯基、1-丁-3-烯基、1-戊-3-烯基、1-己-5-烯基。烯基还可以任选地被例如,卤代、芳基、环烷基或烷氧基等单-、双-或三取代。

[0077] “卤代”或“卤素”是氟、氯、溴或碘的卤素残基。

[0078] “葡萄糖醛酸苷”意指葡萄糖醛酸的苷残基。

[0079] 术语“硫酸酯”意指具有通式 $OS(O)_2-OR'$ 的残基,其中R'为氢,金属或烷基。

[0080] 术语“磷酸酯”意指具有通式 $OP(O)(OR')_2$ 的残基,其中每个R'独立地是氢、金属或烷基。

[0081] 术语“次膦酸酯”意指具有通式 $OP(O)(R')_2$ 的残基,其中每个R'独立地是氢、金属或烷基。

[0082] “大体积基团”意指在其连接空间周围产生位阻的取代基,例如叔-丁基。

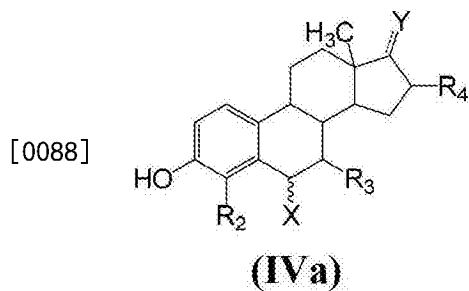
[0083] 如本文使用的术语“氨基烷基”意指在它上面具有氨基的烷基,例如 H_2N-CH_2- 、 $H_2N-CH_2CH_2-$ 、 Me_2NCH_2- 等,其中连接点是烷基链的碳;如本文使用的术语“烷基氨基”意指具有连接于氮原子的烷基的氨基,例如 CH_3NH- 、 $EtNH-$ 、 $iPr-NH-$ 等,其中连接点是通过氨基的氮原子。其中采用连续残基的所有其它术语都将遵循类似规则。

[0084] 如本文使用的术语“增殖性细胞障碍”意指诸如肿瘤、原发性恶性肿瘤以及其它过度增殖性病征的障碍。术语“原发性恶性肿瘤”和“癌症”可互换使用。

[0085] 化合物

[0086] 除了其它之外,本发明涉及在雌二醇B环6位具有特殊修饰的雌二醇衍生物。本发明的至少一个方面涉及具有上文所示式(IV)通式结构的此类化合物:

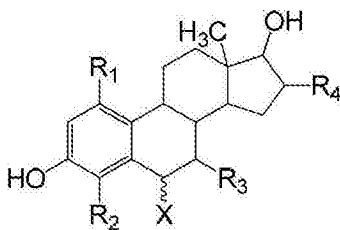
[0087] 在本发明的实施方案中,优选的化合物具有下列式(IVa)所示通式结构:



[0089] 其中R₂、R₃、R₄、X和Y如上文对式(IV)所定义。甚至更优选的是,Y选自=O和-OH;R₄选自氢、卤代和C₁-C₆烷基;R₂选自氢、-OH和卤代;R₃选自氢、卤代和-OH;且X选自C₁-C₁₂烷基、C₂-C₁₂烯基、 $-(CH_2)_mCOOCH_3$ 、 $-(CH_2)_m-O-CH_3$ 、 $-(CH_2)_m-O-(CH_2)_nCH_3$ 、 $(CH_2)_m-S-CH_3$ 、 $-(CH_2)_m-S-(CH_2)_nCH_3$ 、 $-(CH_2)_m-N-(CH_2)_nCH_3$ 、 $-C_2-C_8$ 烯基- $O-(CH_2)_nCH_3$ 、 $-C_2-C_8$ 烯基-S- $(CH_2)_nCH_3$ 、 $-C_2-C_8$ 烯基-N- $(CH_2)_nCH_3$ 、 $-(CH_2)_m-OH$ 、 $-(CH_2)_m-O-NH_2$ 、 $-(CH_2)_m-S-NH_2$ 、 $-NH(CH_2)_mCH_3$ 、 $-NH(CH_2)_mOCH_3$ 、 $-NH(CH_2)_mCHOH-COOH$ 、 $-(CH_2)_m(NH)CH_2OH$ 、 $-(CH_2)_mNHC(=O)OH$ 、 $-(CH_2)_mN(CH_3)-SO_2-NH_3$ 、以及 $-(CH_2)_m-NH-SO_2-NH_2$;m是1-20的整数;n是0-8的整数;并且符号 \equiv 表示单键或双键。然而甚至更优选的是,Y是(S)-OH;R₄选自氢或烷基;R₂为氢;R₃为氢;且X选自C₁-C₁₂烷基、C₂-C₁₂烯基、 $-(CH_2)_m-O-CH_3$ 、 $-(CH_2)_m-O-(CH_2)_nCH_3$ 、 $(CH_2)_m-S-CH_3$ 、以及 $-(CH_2)_m-S-(CH_2)_nCH_3$;m是1-12的整数;n是0-4的整数;且C-13甲基是处于(S)构型。

[0090] 然而本发明的另一个实施方案涉及式(IVb)的化学疗法化合物:

[0091]

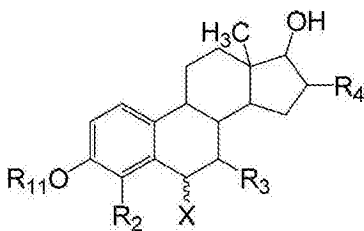


(IVb)

[0092] 其中 R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 和 X 如上文对式(IV)所定义。甚至更优选的是, R_1 选自氢、-OH和卤代; R_4 选自氢、卤代和 C_1 - C_6 烷基; R_2 选自氢和卤代; R_3 选自氢、卤代和-OH;且 X 选自 C_1 - C_{12} 烷基、 C_2 - C_{12} 烯基、 $-(CH_2)_mCOOCH_3$ 、 $-(CH_2)_m-O-CH_3$ 、 $-(CH_2)_m-O-(CH_2)_nCH_3$ 、 $(CH_2)_m-S-CH_3$ 、 $-(CH_2)_m-S-(CH_2)_nCH_3$ 、 $-(CH_2)_m-N-(CH_2)_nCH_3$ 、 $-C_2-C_8$ 烯基- $O-(CH_2)_nCH_3$ 、 $-C_2-C_8$ 烯基- $S-(CH_2)_nCH_3$ 、 $-C_2-C_8$ 烯基- $N-(CH_2)_nCH_3$ 、 $-C_2-C_8$ 炔基- $O-(CH_2)_nCH_3$ 、 $-C_2-C_8$ 炔基- $S-(CH_2)_nCH_3$ 、 $-C_2-C_8$ 炔基- $N-(CH_2)_nCH_3$ 、 $-(CH_2)_m-OH$ 、 $-(CH_2)_m-O-NH_2$ 、 $-(CH_2)_m-S-NH_2$ 、 $-NH(CH_2)_mCH_3$ 、 $NH(CH_2)_mOCH_3$ 、 $-NH(CH_2)_mCHOH-COOH$ 、 $-(CH_2)_m(NH)CH_2OH$ 、 $-(CH_2)_mNHC(=O)OH$ 、 $-(CH_2)_mN(CH_3)-SO_2-NH_3$ 、以及 $-(CH_2)_m-NH-SO_2-NH_2$; m 是1-20的整数;且 n 是0-8的整数。然而甚至更优选的是, R_1 为氢; R_4 选自氢或烷基; R_2 为氢; R_3 为氢;且 X 选自 C_1 - C_{12} 烷基、 C_2 - C_{12} 烯基、 $-(CH_2)_m-O-CH_3$ 、 $-(CH_2)_m-O-(CH_2)_nCH_3$ 、 $(CH_2)_m-S-CH_3$ 、以及 $-(CH_2)_m-S-(CH_2)_nCH_3$; m 是1-12的整数; n 是0-4的整数;且C-13甲基和C-17羟基都处于(S)构型。

[0093] 本发明的又一个实施方案,涉及式(IVc)化合物:

[0094]

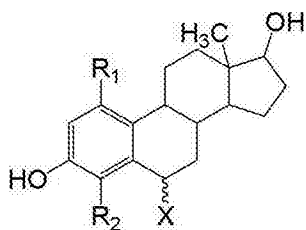


(IVc)

[0095] 其中 R_{11} 、 R_2 、 R_3 、 R_4 和 X 如上文对式(IV)所定义。甚至更优选的是, R_{11} 为氢或 C_1 - C_6 烷基; R_4 选自氢、卤代和 C_1 - C_6 烷基; R_2 选自氢和卤代; R_3 选自氢、卤代和-OH;且 X 选自 C_1 - C_{12} 烷基、 C_2 - C_{12} 烯基、 $-(CH_2)_mCOOCH_3$ 、 $-(CH_2)_m-O-CH_3$ 、 $-(CH_2)_m-O-(CH_2)_nCH_3$ 、 $(CH_2)_m-S-CH_3$ 、 $-(CH_2)_m-S-(CH_2)_nCH_3$ 、 $-(CH_2)_m-N-(CH_2)_nCH_3$ 、 $-C_2-C_8$ 烯基- $O-(CH_2)_nCH_3$ 、 $-C_2-C_8$ 烯基- $S-(CH_2)_nCH_3$ 、 $-C_2-C_8$ 烯基- $N-(CH_2)_nCH_3$ 、 $-C_2-C_8$ 炔基- $O-(CH_2)_nCH_3$ 、 $-C_2-C_8$ 炔基- $S-(CH_2)_nCH_3$ 、 $-C_2-C_8$ 炔基- $N-(CH_2)_nCH_3$ 、 $-(CH_2)_m-OH$ 、 $-(CH_2)_m-O-NH_2$ 、 $-(CH_2)_m-S-NH_2$ 、 $-NH(CH_2)_mCH_3$ 、 $NH(CH_2)_mOCH_3$ 、 $-NH(CH_2)_mCHOH-COOH$ 、 $-(CH_2)_m(NH)CH_2OH$ 、 $-(CH_2)_mNHC(=O)OH$ 、 $-(CH_2)_mN(CH_3)-SO_2-NH_3$ 、以及 $-(CH_2)_m-NH-SO_2-NH_2$; m 是1-20的整数;且 n 是0-8的整数。然而甚至更优选的是, R_{11} 为氢; R_4 选自氢或烷基; R_2 为氢; R_3 为氢;且 X 选自 C_1 - C_{12} 烷基、 C_2 - C_{12} 烯基、 $-(CH_2)_m-O-CH_3$ 、 $-(CH_2)_m-O-(CH_2)_nCH_3$ 、 $(CH_2)_m-S-CH_3$ 、以及 $-(CH_2)_m-S-(CH_2)_nCH_3$; m 是1-12的整数; n 是0-4的整数;且C-13甲基和C-17羟基都处于(S)构型。

[0096] 然而本发明的另一个实施方案涉及式(IVd)的化学疗法化合物:

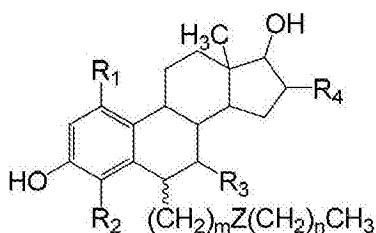
[0097]

**(IVd)**

[0098] 其中 R_1 、 R_2 和 X 如上文对式(IV)所定义。甚至更优选的是， R_1 选自氢、-OH和卤代； R_2 选自氢和卤代；且 X 选自 C_1 - C_{12} 烷基、 C_2 - C_{12} 烯基、 $-(CH_2)_mCOOCH_3$ 、 $-(CH_2)_m-O-CH_3$ 、 $-(CH_2)_m-O-(CH_2)_nCH_3$ 、 $(CH_2)_m-S-CH_3$ 、 $-(CH_2)_m-S-(CH_2)_nCH_3$ 、 $-(CH_2)_m-N-(CH_2)_nCH_3$ 、 $-C_2-C_8$ 烯基- $O-(CH_2)_nCH_3$ 、 $-C_2-C_8$ 烯基- $S-(CH_2)_nCH_3$ 、 $-C_2-C_8$ 烯基- $N-(CH_2)_nCH_3$ 、 $-C_2-C_8$ 炔基- $O-(CH_2)_nCH_3$ 、 $-C_2-C_8$ 炔基- $S-(CH_2)_nCH_3$ 、 $-C_2-C_8$ 炔基- $N-(CH_2)_nCH_3$ 、 $-(CH_2)_m-OH$ 、 $-(CH_2)_m-O-NH_2$ 、 $-(CH_2)_m-S-NH_2$ 、 $-NH(CH_2)_mCH_3$ 、 $NH(CH_2)_mOCH_3$ 、 $-NH(CH_2)_mCHOH-COOH$ 、 $-(CH_2)_m(NH)CH_2OH$ 、 $-(CH_2)_mNHC(=O)OH$ 、 $-(CH_2)_mN(CH_3)-SO_2-NH_2$ 、以及 $-(CH_2)_m-NH-SO_2-NH_2$ ； X 选自 C_1 - C_{12} 烷基、 C_2 - C_{12} 烯基、 $-(CH_2)_m-O-CH_3$ 、 $-(CH_2)_m-O-(CH_2)_nCH_3$ 、 $(CH_2)_m-S-CH_3$ 、以及 $-(CH_2)_m-S-(CH_2)_nCH_3$ ； m 是1-20的整数；且 n 是0-8的整数。依然甚至更优选的是， R_1 、 R_2 、 R_3 和 R_4 为氢； m 是1-12的整数； n 是0-4的整数；且C-13甲基和C-17羟基都处于(S)构型。

[0099] 然而本发明的另一个实施方案涉及式(IVe)的化学疗法化合物：

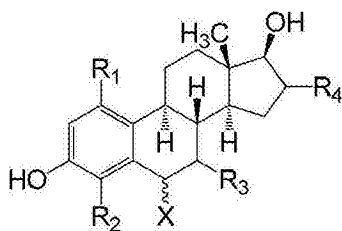
[0100]

**(IVe)**

[0101] 其中 m 、 n 、 R_1 、 R_2 、 R_3 和 R_4 如上文对式(IV)所定义，且 Z 选自-O-、-S-和-NH-。甚至更优选的是， m 是1-12， n 是0-4， R_1 选自氢、-OH和卤代； R_4 选自氢、卤代和 C_1 - C_6 烷基； R_2 选自氢和卤代； R_3 选自氢、卤代和-OH； Z 选自-O-和-S-；且C-13甲基和C-17羟基都处于(S)构型。

[0102] 本发明的又一个实施方案涉及式(IVf)的化学疗法化合物：

[0103]

**(IVf)**

[0104] 其中 R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 和 X 如上述对式(IV)所定义。甚至更优选的是， R_1 选自氢、-OH和卤代； R_4 选自氢、卤代和 C_1 - C_6 烷基； R_2 选自氢和卤代； R_3 选自氢、卤代和-OH；且 X 选自 C_1 - C_{12} 烷基、 C_2 - C_{12} 烯基、 $-(CH_2)_mCOOCH_3$ 、 $-(CH_2)_m-O-CH_3$ 、 $-(CH_2)_m-O-(CH_2)_nCH_3$ 、 $(CH_2)_m-S-CH_3$ 、 $-(CH_2)_m-S-(CH_2)_nCH_3$ 、 $-(CH_2)_m-N-(CH_2)_nCH_3$ 、 $-C_2-C_8$ 烯基- $O-(CH_2)_nCH_3$ 、 $-C_2-C_8$ 烯基- $S-(CH_2)_nCH_3$ 、 $-C_2-C_8$ 烯基-

基-N-(CH₂)_nCH₃、-C₂-C₈炔基-O-(CH₂)_nCH₃、-C₂-C₈炔基-S-(CH₂)_nCH₃、-C₂-C₈炔基-N-(CH₂)_nCH₃、-(CH₂)_m-OH、-(CH₂)_m-O-NH₂、-(CH₂)_m-S-NH₂、-NH(CH₂)_mCH₃、NH(CH₂)_mOCH₃、-NH(CH₂)_mCHOH-COOH、-(CH₂)_m(NH)CH₂OH、-(CH₂)_mNHCOOH、-(CH₂)_mN(CH₃)-SO₂-NH₃、以及-(CH₂)_m-NH-SO₂-NH₂；X选自C₁-C₁₂烷基、C₂-C₁₂烯基、-(CH₂)_m-O-CH₃、-(CH₂)_m-O-(CH₂)_nCH₃、(CH₂)_m-S-CH₃、以及-(CH₂)_m-S-(CH₂)_nCH₃；m是1-20的整数；且n是0-8的整数。依然甚至更优选的是，R₁、R₂、R₃和R₄为氢；m是1-12的整数；且n是0-4的整数。

[0105] 本发明的实施方案化合物可以用于药物组合物。此类组合物可以含有一种或多种选自上文讨论过的化合物，下列所示的化合物或在本文中以其它方式推知的化合物，及其组合。在某些实施方案中，此类组合物可以含有药学上可接受的载体组分。无限制的，此类组合物可以含有化合物的外消旋混合物。在某些实施方案中，此类化合物可以以S和R 对映异构体的形式存在，优选基本上不含其它异构体的分离和纯化形式，并且R₅或R₇可以选自H、C₁-C₆烷基或取代的烷基和卤素。

[0106] 本发明的化合物可以具有不对称中心，可以以外消旋体、外消旋混合物或以单个的和纯化的非对映异构体或对映异构体的形式出现，诸如(通过ChemDraw Ultra, 11.0(3)或12.0版命名)(6S, 8R, 9S, 13S, 14S)-3-羟基-6-(甲氧基甲基)-13-甲基-7, 8, 9, 11, 12, 13, 15, 16-八氢-6H-环戊二烯并[a]菲-17(14H)-酮(化合物1)；(6R, 8R, 9S, 13S, 14S)-3-羟基-6-(甲氧基甲基)-13-甲基-7, 8, 9, 11, 12, 13, 15, 16-八氢-6H-环戊二烯并[a]菲-17(14H)-酮(化合物2)；(6S, 8R, 9S, 13S, 14S)-6-(甲氧基甲基)-13-甲基-7, 8, 9, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17-十氢-6H-环戊二烯并[a]菲-3, 17-二醇(化合物3)；(6R, 8R, 9S, 13S, 14S)-6-(甲氧基甲基)-13-甲基-7, 8, 9, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17-十氢-6H-环戊二烯并[a]菲-3, 17-二醇(化合物4)；(6S, 8R, 9S, 10R, 13S, 14S)-17-羟基-6-(甲氧基甲基)-10, 13-二甲基-6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17-十二氢-3H-环戊二烯并[a]菲-3-酮(化合物5)；(6R, 8R, 9S, 10R, 13S, 14S)-17-羟基-6-(甲氧基甲基)-10, 13-二甲基-6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17-十二氢-3H-环戊二烯并[a]菲-3-酮(化合物6)；(6S, 8R, 9S, 13S, 14S)-6-(羟甲基)-13-甲基-7, 8, 9, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17-十氢-6H-环戊二烯并[a]菲-3, 17-二醇(化合物7)；(6R, 8R, 9S, 13S, 14S)-6-(羟甲基)-13-甲基-7, 8, 9, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17-十氢-6H-环戊二烯并[a]菲-3, 17-二醇(化合物8)；(6R, 8R, 9S, 10R, 13S, 14S)-6-(甲氧基甲基)-10, 13-二甲基十六氢-1H-环戊二烯并[a]菲-3, 17-二醇(化合物9)；(6R, 8R, 9S, 13S, 14S)-6-((氨基氧基)甲基)-13-甲基-7, 8, 9, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17-十氢-6H-环戊二烯并[a]菲-3, 17-二醇(化合物10)；(6S, 8R, 9S, 13S, 14S)-6-((氨基氧基)甲基)-13-甲基-7, 8, 9, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17-十氢-6H-环戊二烯并[a]菲-3, 17-二醇(化合物11)；(6R, 8R, 9S, 13S, 14S)-6-((氨基氧基)甲基)-17-羟基-13-甲基-6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17-十二氢-3H-环戊二烯并[a]菲-3-酮(化合物12)；(6S, 8R, 9S, 13S, 14S)-6-((氨基氧基)甲基)-17-羟基-13-甲基-6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17-十二氢-3H-环戊二烯并[a]菲-3-酮(化合物13)；(6R, 8R, 9S, 13S, 14S)-6-(((甲氧基甲基)氨基)甲基)-13-甲基-7, 8, 9, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17-十氢-6H-环戊二烯并[a]菲-3, 17-二醇(化合物14)；(6S, 8R, 9S, 13S, 14S)-6-(((甲氧基甲基)氨基)甲基)-13-甲基-7, 8, 9, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17-十氢-6H-环戊二烯并[a]菲-3, 17-二醇(化合物15)；1-(((6R, 8R, 9S, 13S, 14S)-3, 17-二羟基-13-甲基-7, 8, 9, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17-十氢-6H-环戊二烯并[a]菲-6-基)甲基)氨基)丙-2-酮(化合物16)；1-

((((6S,8R,9S,13S,14S)-3,17-二羟基-13-甲基-7,8,9,11,12,13,14,15,16,17-十氢-6H-环戊二烯并[a]菲-6-基)甲基)氨基)丙-2-酮(化合物17);(6R,8R,9S,13S,14S)-6-甲氧基-13-甲基-7,8,9,11,12,13,14,15,16,17-十氢-6H-环戊二烯并[a]菲-3,17-二醇(化合物18);(6S,8R,9S,13S,14S)-6-(2-甲氧基乙基)-13-甲基-7,8,9,11,12,13,14,15,16,17-十氢-6H-环戊二烯并[a]菲-3,17-二醇(化合物19);(6R,8R,9S,13S,14S)-6-(4-甲氧基丁基)-13-甲基-7,8,9,11,12,13,14,15,16,17-十氢-6H-环戊二烯并[a]菲-3,17-二醇(化合物20);(6R,8R,9S,13S,14S)-6-(6-甲氧基己基)-13-甲基-7,8,9,11,12,13,14,15,16,17-十氢-6H-环戊二烯并[a]菲-3,17-二醇(化合物21);(6R,8R,9S,13S,14S)-6-(6-甲氧基辛基)-13-甲基-7,8,9,11,12,13,14,15,16,17-十氢-6H-环戊二烯并[a]菲-3,17-二醇(化合物22);硬脂酸(6R,8R,9S,13S,14S)-3-羟基-6-(甲氧基甲基)-13-甲基-7,8,9,11,12,13,14,15,16,17-十氢-6H-环戊二烯并[a]菲-17-基酯(化合物23);(6R,8R,9S,10R,13S,14S)-6-(甲氧基甲基)-10,13-二甲基-7,8,9,10,11,12,13,14,15,16-十氢-3H-环戊二烯并[a]菲-3,17(6H)-二酮(化合物24);(6S,8R,9S,10R,13S,14S)-6-(甲氧基甲基)-10,13-二甲基-7,8,9,10,11,12,13,14,15,16-十氢-3H-环戊二烯并[a]菲-3,17(6H)-二酮(化合物25);(6R,8R,9S,10R,13S,14S)-6-(甲氧基甲基)-10,13-二甲基-4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17-十四氢-3H-环戊二烯并[a]菲-3,17-二醇(化合物26);(6S,8R,9S,10R,13S,14S)-6-(甲氧基甲基)-10,13-二甲基-4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17-十四氢-3H-环戊二烯并[a]菲-3,17-二醇(化合物27);硫酸氢(6S,8R,9S,13S,14S)-6-(甲氧基甲基)-13-甲基-17-氧代-7,8,9,11,12,13,14,15,16,17-十氢-6H-环戊二烯并[a]菲-3-基酯(化合物28);硫酸氢(6R,8R,9S,13S,14S)-6-(甲氧基甲基)-13-甲基-17-氧代-7,8,9,11,12,13,14,15,16,17-十氢-6H-环戊二烯并[a]菲-3-基酯(化合物29);(6R,8R,9S,13S,14S)-13-甲基-6-(4-丙氧基丁基)-7,8,9,11,12,13,14,15,16,17-十氢-6H-环戊二烯并[a]菲-3,17-二醇(化合物30);以及(6R,8R,9S,13S,14S)-13-甲基-6-(5-乙氧基戊基)-7,8,9,11,12,13,14,15,16,17-十氢-6H-环戊二烯并[a]菲-3,17-二醇(化合物31)。

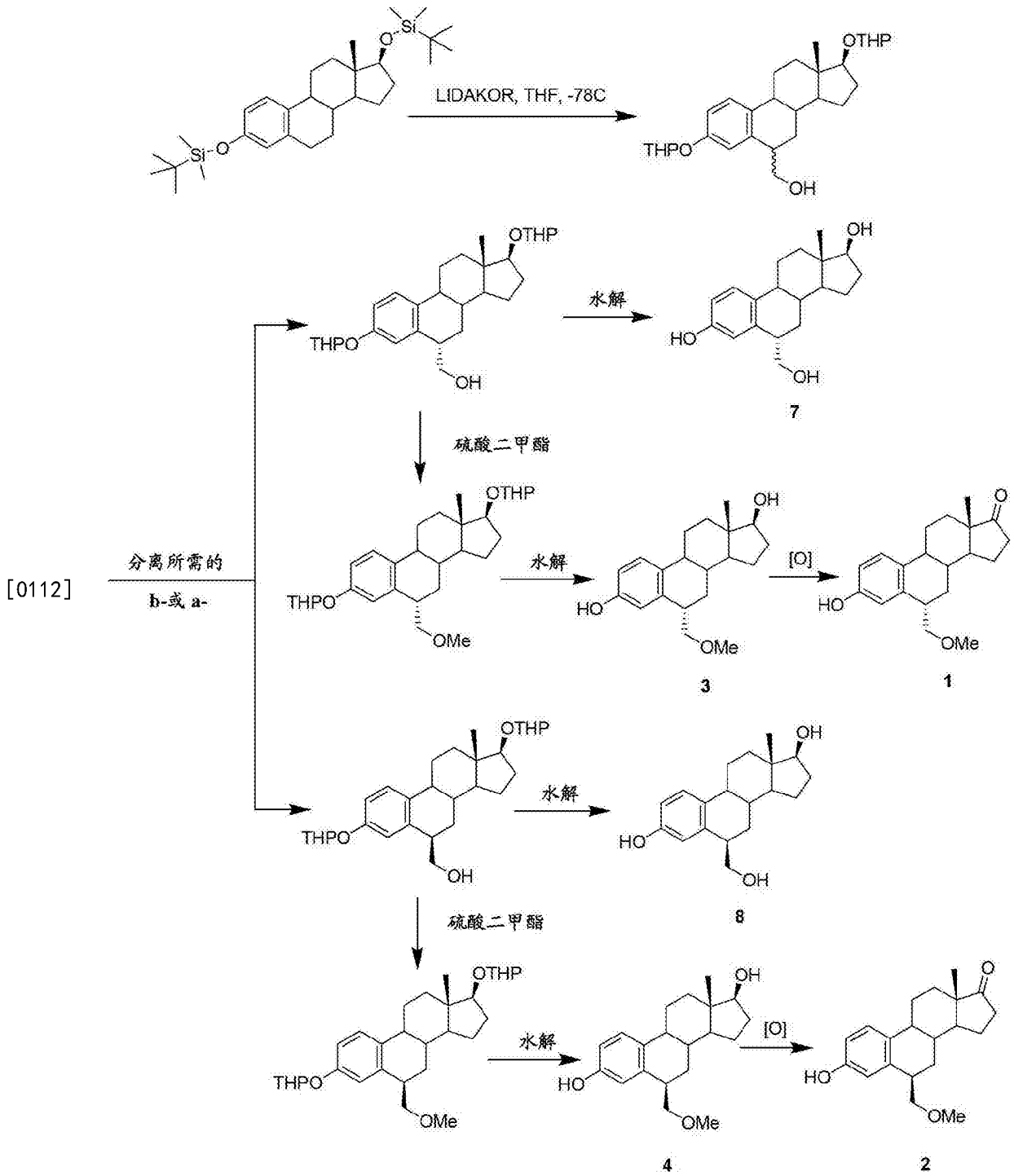
[0107] 本发明的一个实施方案涉及制备6取代的雌二醇类的R或S对映异构体,和/或R或S非对映异构体的方法。用于制备(例如不对称合成)和分离(例如分步结晶和色谱方式)这类异构体形式的方法通常为本领域已知或易于通过调整本文教导的方法获得。这类方法,例如在共同未决的美国申请USSN 11/541,987中所描述的,将该文献的教导完整地引入本文。

[0108] 本发明的另一个实施方案涉及用于制备雌二醇的6-羟甲基、6-烷氧基烷基、6-烷基硫代烷基、6-氨基甲氧基、6-甲基氨基甲氧基或6-甲氧基胺衍生物的方法。制备雌二醇衍生物的反应方案在下列方案1-3中给出。这类方法可以包括使雌二醇的叔丁基二甲基甲硅烷基衍生物与LIDAKOR/THF/甲醛反应而得到6-羟基化化合物,随后进行如下的这类步骤:(i)水解而得到雌二醇的6-羟甲基衍生物;和/或(ii)用硫酸二甲酯处理,随后水解而得到雌二醇的6-甲氧基甲基衍生物。可以通过进一步氧化NDC-1033的C-17羟基位置获得NDC-1088。

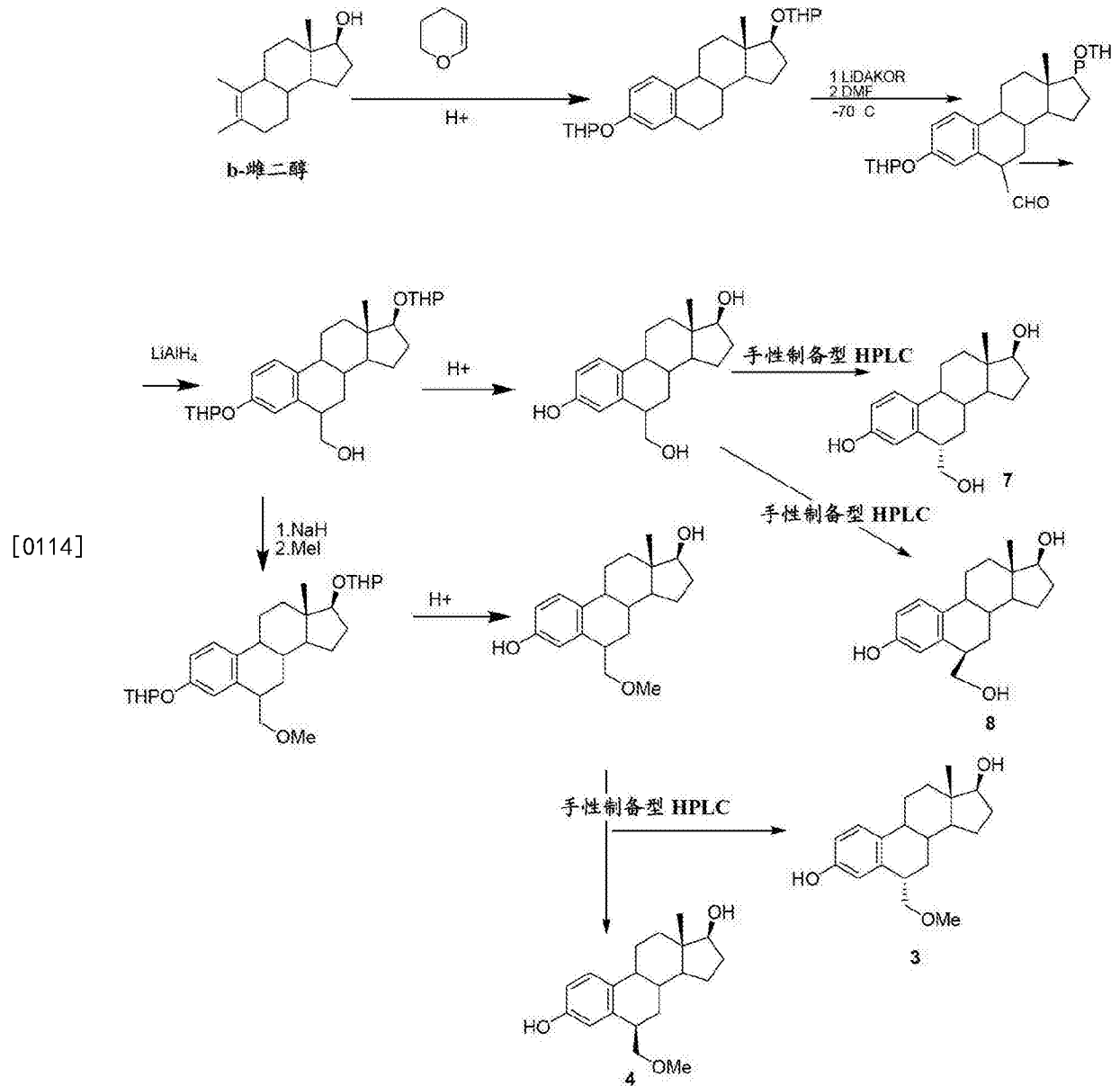
[0109] 在一种备选的方法中,还可以通过包括如下这类步骤的方法制备本发明的化合物:(i)保护雌二醇化合物,(ii)用LIDAKOR/丁基锂/二异丙胺/叔戊醇钾(potassium tert-amylate)使被保护的雌二醇化合物的苜基6-位酰化,(iii)用氢化铝锂还原6位醛,(iv)使雌二醇化合物的被保护部位脱保护。制备雌二醇衍生物的反应方案在下列方案2中给出。

[0110] 可以通过如下方案中所述的方法合成本发明的化合物：

[0111] 方案1



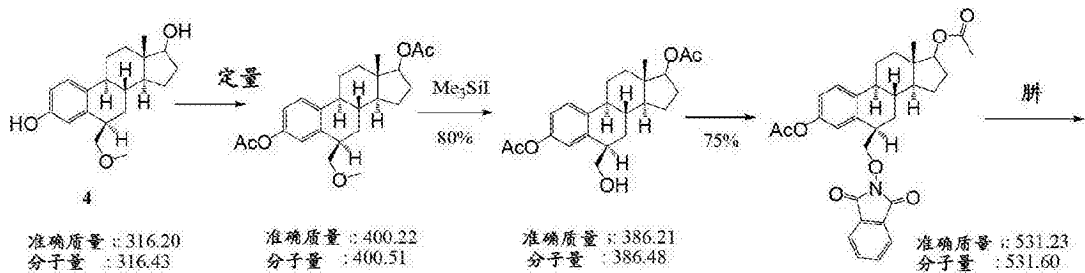
[0113] 方案2



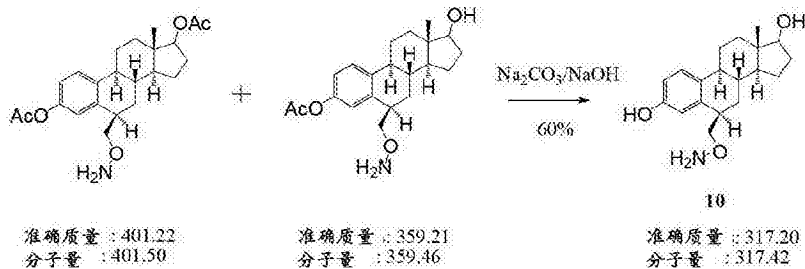
[0115] 本发明的多种烷基氧基烷基衍生物涉及选择烷化剂。知晓本发明的本领域技术人员将了解此类衍生物，并且可以通过本文描述的排序的合成过程获得。因此，无限制的，可以如本文所描述的使用多种C₁-C₆烷基和取代的烷基试剂制备相应的烷基氧基烷基衍生物。

[0116] 在本发明的另一个方面，在下列反应方案中公开了制备雌二醇的6-氨基衍生物的方法。相应地，使用方案1-2中描述的6-甲氧基化的雌二醇，并将其转化成其各自的氨基衍生物。

[0117] 方案3



[0118]



[0119] 使用方法

[0120] 本发明涉及治疗哺乳动物个体(例如,人类患者)中癌症的方法。在本发明的该方面,提供了用于抑制肿瘤或癌细胞生长的方法。在这类方法中,使所述细胞暴露于或与式I-IV(包括IVa-IVf)的化合物或其药学上可接受的盐或水合物接触。

[0121] 在本发明的至少另一个方面,将有效量的具有式(I)-(IV)(包括IVa-IVf)的化合物施用于需要此类疗法的患者。

[0122] 这些方法可以用于治疗直接或间接受到激素和/或雌激素相关活性影响的任何肿瘤,包括但不以任何方式限于涉及下述的实体瘤:乳腺癌、胰腺癌、肺癌、结肠癌、前列腺癌、卵巢癌和脑癌、肝癌、脾癌、肾癌、淋巴结癌、小肠癌、血细胞癌、骨癌、胃癌、子宫内膜癌、睾丸癌、卵巢癌、中枢神经系统癌、皮肤癌、头和颈癌、食道癌或骨髓癌以及血癌(hematological cancer),所述血癌诸如白血病、急性早幼粒细胞白血病、淋巴瘤,多发性骨髓瘤、脊髓发育不良、骨髓增生性疾病或难治性贫血。

[0123] 除了其它之外,本发明提供了一种新的治疗雌激素依赖性或非依赖性肿瘤的作用方式。传统方法使用的药物一旦与ERs结合就改变ERs的构型以至于实际上导致其被破坏。因此,破坏此类结合的ERs将使所有对细胞活力必要的外部 and 内部信号的传导停止,导致细胞生长停止。

[0124] 据信本文公开的化合物能够与多种受体结合,包括雌激素、睾酮和雄激素受体。发明人出乎意料地观察到结合后本发明的化合物能够调节细胞的第一和第二信使信号通路,并进一步通过基因依赖性或非依赖性机制增强它们的临床效果,例如,本领域已经对基因依赖性雌激素活性有详尽的描述,本领域普通技术人员能够确定涉及雌激素依赖性基因失活的通路。

[0125] 然而,在本发明中,要求保护的化合物能够在不依赖于传统基因调节机制的水平上调节细胞活性。在本发明的该方面,本发明的化合物能够直接与血浆膜上的多个类固醇受体结合,并引起涉及内质网上非折叠蛋白应答(“UPR”)的内部细胞介导的应激机制。UPR应激应答随后通过诸如也被称作GADD153的CHOP、TRIB3等应激应答基因的调节导致生长抑制和细胞死亡。

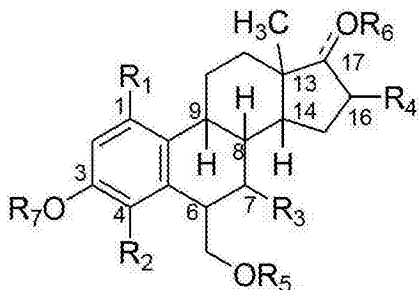
[0126] 此外,用于治疗多种癌症状态的本发明化合物的施用可以包括施用式I-IV(包括IVa-IVf)的化合物与其它辅助癌症疗法,诸如化学疗法、放射疗法、基因疗法、激素疗法和其它本领域已知的癌症疗法的组合。本文公开的化合物与其它抗癌药或化学疗法的药剂的组合属于本发明的范围。这类药剂的实例可以在V.T.Devita和S.Hellman(编辑),第6版(2001年2月15日),Lippincott Williams & Wilkins Publishers的Cancer Principles and Practice of Oncology中找到。本领域普通的医师,兽医或临床医师能够基于药物的具体特性和涉及的癌症确认哪些药剂的组合是有用的。这类抗癌药包括以下:雌激素受体调节剂、雄激素受体调节剂、类视黄醇受体调节剂、细胞毒类药物、抗增殖剂、异戊二烯蛋白转移酶抑制剂、HMG-CoA还原酶抑制剂、EHV蛋白酶抑制剂、逆转录酶抑制剂、芳香酶抑制剂和血管生成抑制剂。

[0127] 示例性化合物

[0128] 在本发明的至少一个方面,本发明的化合物包括下列表I中的那些:

[0129] 表I

[0130]



[0131] R_1, R_2, R_3, R_4 : 独立地为H、 C_1-C_6 烷基、取代的烷基或卤素

[0132] R_5, R_7 : H、 C_1-C_6 烷基、取代的烷基、硫酸酯、或葡萄糖醛酸苷

[0133] R_6 : 当 \equiv 是单键时,为H、 C_1-C_6 烷基、或取代的烷基、硫酸酯或葡萄糖醛酸苷;当 \equiv 是双键时,不存在

项目	取代基			空间构型					
	R ₅	R ₆	R ₇	C-6	C-8	C-9	C-13	C-14	C-17
1	H	H	H	S	S	S	S	S	S
2	H	H	H	S	R	R	R	R	R
3	H	H	H	S	S	S	S	S	R
4	H	H	H	S	R	R	R	R	S
化合物 7	H	H	H	S	R	S	S	S	S
化合物 8	H	H	H	R	R	S	S	S	S
5	H	-	H	S	S	S	S	S	C=O
6	H	-	H	S	R	R	R	R	C=O
7	H	H	H	R	R	R	R	R	R
8	H	H	H	R	S	S	S	S	S
9	H	H	H	R	S	S	S	S	R
10	H	H	H	R	R	R	R	R	S
11	H	-	H	R	S	S	S	S	C=O
12	H	-	H	R	R	R	R	R	C=O
13	Me	H	H	S	S	S	S	S	S
14	Me	H	H	S	R	R	R	R	R
化合物 3	Me	H	H	S	R	S	S	S	S
16	Me	H	H	S	R	R	R	R	S
17	Me	-	H	S	S	S	S	S	C=O
18	Me	-	H	S	R	R	R	R	C=O
19	Me	H	H	R	R	R	R	R	R
化合物 4	Me	H	H	R	R	S	S	S	S
21	Me	H	H	R	S	S	S	S	R
22	Me	H	H	R	R	R	R	R	S
23	Me	-	H	R	S	S	S	S	C=O
24	Me	-	H	R	R	R	R	R	C=O
化合物 1	H	-	H	S	R	S	S	S	C=O
化合物 2	H	-	H	R	R	S	S	S	C=O
25	H	H	SO ₃ H	S	S	S	S	S	S
26	H	H	SO ₃ H	S	R	R	R	R	R
27	H	H	SO ₃ H	S	S	S	S	S	R
28	H	H	SO ₃ H	S	R	R	R	R	S
29	H	-	SO ₃ H	S	S	S	S	S	C=O
30	H	-	SO ₃ H	S	R	R	R	R	C=O
31	H	H	SO ₃ H	R	R	R	R	R	R
32	H	H	SO ₃ H	R	S	S	S	S	S
33	H	H	SO ₃ H	R	S	S	S	S	R

[0134]

34	H	H	SO ₃ H	R	R	R	R	R	S
35	H	-	SO ₃ H	R	S	S	S	S	C=O
36	H	-	SO ₃ H	R	R	R	R	R	C=O
37	Me	H	SO ₃ H	S	S	S	S	S	S
38	Me	H	SO ₃ H	S	R	R	R	R	R
39	Me	H	SO ₃ H	S	S	S	S	S	R
40	Me	H	SO ₃ H	S	R	R	R	R	S
41	Me	-	SO ₃ H	S	S	S	S	S	C=O
42	Me	-	SO ₃ H	S	R	R	R	R	C=O
43	Me	H	SO ₃ H	R	R	R	R	R	R
44	Me	H	SO ₃ H	R	S	S	S	S	S
45	Me	H	SO ₃ H	R	S	S	S	S	R
46	Me	H	SO ₃ H	R	R	R	R	R	S
47	Me	-	SO ₃ H	R	S	S	S	S	C=O
48	Me	-	SO ₃ H	R	R	R	R	R	C=O
化合物 28	H	-	SO ₃ H	S	R	S	S	S	C=O
化合物 29	H	-	SO ₃ H	R	R	S	S	S	C=O
49	H	H	葡萄糖醛酸苷	S	S	S	S	S	S
50	H	H	葡萄糖醛酸苷	S	R	R	R	R	R
51	H	H	葡萄糖醛酸苷	S	S	S	S	S	R
52	H	H	葡萄糖醛酸苷	S	R	R	R	R	S
53	H	-	葡萄糖醛酸苷	S	S	S	S	S	C=O
54	H	-	葡萄糖醛酸苷	S	R	R	R	R	C=O
55	H	H	葡萄糖醛酸苷	R	R	R	R	R	R
56	H	H	葡萄糖醛酸苷	R	S	S	S	S	S
57	H	H	葡萄糖醛酸苷	R	S	S	S	S	R
58	H	H	葡萄糖醛酸苷	R	R	R	R	R	S
59	H	-	葡萄糖醛酸苷	R	S	S	S	S	C=O
60	H	-	葡萄糖醛酸苷	R	R	R	R	R	C=O
61	Me	H	葡萄糖醛酸苷	S	S	S	S	S	S
62	Me	H	葡萄糖醛酸苷	S	R	R	R	R	R
63	Me	H	葡萄糖醛酸苷	S	S	S	S	S	R
64	Me	H	葡萄糖醛酸苷	S	R	R	R	R	S
65	Me	-	葡萄糖醛酸苷	S	S	S	S	S	C=O
66	Me	-	葡萄糖醛酸苷	S	R	R	R	R	C=O
67	Me	H	葡萄糖醛酸苷	R	R	R	R	R	R
68	Me	H	葡萄糖醛酸苷	R	S	S	S	S	S
69	Me	H	葡萄糖醛酸苷	R	S	S	S	S	R
70	Me	H	葡萄糖醛酸苷	R	R	R	R	R	S
71	Me	-	葡萄糖醛酸苷	R	S	S	S	S	C=O
72	Me	-	葡萄糖醛酸苷	R	R	R	R	R	C=O
化合物 23	Me	C(O) - (CH ₂) ₁₆ CH ₃	H	R	R	S	S	S	S
化合物 10	NH ₂	H	H	S	R	S	S	S	S
化合物 11	NH ₂	H	H	S	R	S	S	S	S

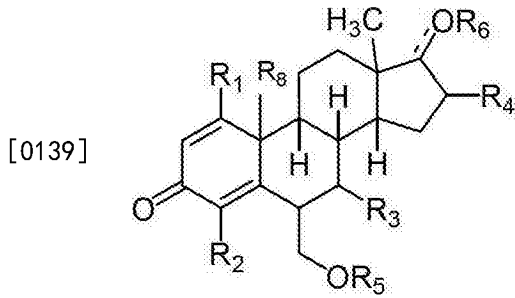
[0135]

[0136] 表I中优选的化合物包括化合物1、2、3、4、7、8、10、11、23、28和29。本发明的至少一

个方面涉及这些优选的化合物,其使用和制备方法。

[0137] 在本发明的至少另一个方面,本发明的化合物示于下列表II中。

[0138] 表II:



[0140] R₁、R₂、R₃、R₄:独立地为H、C₁-C₆烷基、取代的烷基或卤素

[0141] R₅:H、C₁-C₆烷基、取代的烷基、硫酸酯、或葡萄糖醛酸苷

[0142] R₆:当 ==是单键时,为H、C₁-C₆烷基、或取代的烷基、硫酸酯、或葡萄糖醛酸苷;当 ==是双键时,不存在,

[0143] R₈:H、C₁-C₆烷基、或取代的烷基,

[0144]

项目	取代基		空间构型						
	R ₅	R ₆	C-6	C-8	C-9	C-10	C-13	C-14	C-17
73	H	H	S	S	S	R	S	S	S
74	H	H	S	R	R	R	R	R	R
75	H	H	S	S	S	R	S	S	R
76	H	H	S	R	R	R	R	R	S
77	H	-	S	S	S	R	S	S	C=O
78	H	-	S	R	R	R	R	R	C=O
79	H	H	R	R	R	R	R	R	R
80	H	H	R	S	S	R	S	S	S
81	H	H	R	S	S	R	S	S	R
82	H	H	R	R	R	R	R	R	S
83	H	-	R	S	S	R	S	S	C=O
84	H	-	R	R	R	R	R	R	C=O
85	Me	H	S	S	S	R	S	S	S
86	Me	H	S	R	R	R	R	R	R

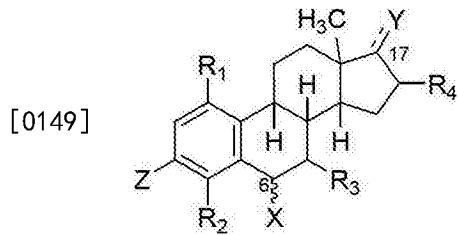
87	Me	H	S	S	S	R	S	S	R
88	Me	H	S	R	R	R	R	R	S
化合物 25	Me	-	S	R	S	R	S	S	C=O
化合物 24	Me	-	R	R	S	R	S	S	C=O
91	Me	H	R	R	R	R	R	R	R
92	Me	H	S	S	S	R	S	S	S
93	Me	H	S	R	R	R	R	R	R
94	Me	H	S	S	S	R	S	S	R
95	Me	H	S	R	R	R	R	R	S
96	Me	-	R	R	S	-	R	S	C=O
97	Me	-	S	R	R	R	R	R	C=O
化合物 5	Me	H	S	R	S	R	S	S	S
99	Me	H	R	S	S	R	S	S	S
100	Me	H	R	S	S	S	S	S	R
101	Me	H	R	R	R	S	R	R	S
102	Me	-	R	S	S	R	S	S	C=O
103	Me	-	R	R	R	R	R	R	C=O
104	H	H	S	S	S	R	S	S	S
105	H	H	S	R	R	R	R	R	R
106	H	H	S	S	S	R	S	S	R
107	H	H	S	R	R	R	R	R	S
108	H	-	S	S	S	R	S	S	C=O
109	H	-	S	R	R	R	R	R	C=O
110	H	H	R	R	R	R	R	R	R
111	H	H	R	S	S	R	S	S	S
112	H	H	R	S	S	R	S	S	R
113	H	H	R	R	R	R	R	R	S
114	H	-	R	S	S	R	S	S	C=O
115	H	-	R	R	R	R	R	R	C=O
116	Me	H	S	S	S	R	S	S	S
117	Me	H	S	R	R	R	R	R	R
118	Me	H	S	S	S	R	S	S	R
119	Me	H	S	R	R	R	R	R	S
120	Me	-	S	S	S	S	S	S	C=O
121	Me	-	S	R	R	R	R	R	C=O
122	Me	H	R	R	R	R	R	R	R
123	Me	H	R	S	S	R	S	S	S
124	Me	H	R	S	S	S	S	S	R
125	Me	H	R	R	R	S	R	R	S
126	Me	-	R	S	S	R	S	S	C=O
127	Me	-	R	R	R	R	R	R	C=O
化合物 6	Me	H	R	R	S	R	S	S	S
化合物 12	NH ₂	H	R	R	S	S	S	S	S
化合物 13	NH ₂	H	S	R	S	S	S	S	S

[0145]

[0146] 表II中优选的化合物包括化合物5、6、12、13、24和25。本发明的至少一个方面涉及这些优选的化合物,其使用和制备方法。

[0147] 在本发明的又一个方面,发明人将本发明的化合物示于下列表III中:

[0148] 表III



[0150] R₁、R₂、R₃、R₄: 独立地为H、C₁-C₆烷基、取代的烷基、或卤素且 \equiv 是单键或双键;不存在。

[0151]

项目	X	Z	Y	C-6	C-8	C-9	C-13	C-14	C-17
129	CH ₂ OH	OH	OH	S					S
130	CH ₂ OH	OH	OH	S					R
131	CH ₂ OH	OH	OH	R					R
132	CH ₂ OH	OH	OH	R					S
133	CH ₂ ONH ₂	OH	OH	S					S
134	CH ₂ ONH ₂	OH	OH	S					R
135	CH ₂ ONH ₂	OH	OH	R					R
136	CH ₂ ONH ₂	OH	OH	R					S
137	CH ₂ ONHMe	OH	OH	S					S
138	CH ₂ ONHMe	OH	OH	S					R
139	CH ₂ ONHMe	OH	OH	R					R
140	CH ₂ ONHMe	OH	OH	R					S
141	CH ₂ ONMe ₂	OH	OH	S					S
142	CH ₂ ONMe ₂	OH	OH	S					R
143	CH ₂ ONMe ₂	OH	OH	R					R
144	CH ₂ ONMe ₂	OH	OH	R					S
145	CH ₂ ONHAc	OH	OH	S					S
146	CH ₂ ONHAc	OH	OH	S					R
147	CH ₂ ONHAc	OH	OH	R					R
148	CH ₂ ONHAc	OH	OH	R					S

[0152]

149	CH ₂ NH ₂	OH	OH	S				S
150	CH ₂ NH ₂	OH	OH	S				R
151	CH ₂ NH ₂	OH	OH	R				R
152	CH ₂ NH ₂	OH	OH	R				S
153	CH ₂ NHMe	OH	OH	S				S
154	CH ₂ NHMe	OH	OH	S				R
155	CH ₂ NHMe	OH	OH	R				R
156	CH ₂ NHMe	OH	OH	R				S
157	CH ₂ NMe ₂	OH	OH	S				S
158	CH ₂ NMe ₂	OH	OH	S				R
159	CH ₂ NMe ₂	OH	OH	R				R
160	CH ₂ NMe ₂	OH	OH	R				S
161	CH ₂ NHAc	OH	OH	S				S
162	CH ₂ NHAc	OH	OH	S				R
163	CH ₂ NHAc	OH	OH	R				R
164	CH ₂ NHAc	OH	OH	R				S
165	CH ₂ NHOH	OH	OH	S				S
166	CH ₂ NHOH	OH	OH	S				R
167	CH ₂ NHOH	OH	OH	R				R
168	CH ₂ NHOH	OH	OH	R				S
169	CH ₂ NHOMe	OH	OH	S				S
170	CH ₂ NHOMe	OH	OH	S				R
171	CH ₂ NHOMe	OH	OH	R				R
172	CH ₂ NHOMe	OH	OH	R				S
173	CH ₂ NHNH ₂	OH	OH	S				S
174	CH ₂ NHNH ₂	OH	OH	S				R
175	CH ₂ NHNH ₂	OH	OH	R				R
176	CH ₂ NHNH ₂	OH	OH	R				S
177	CH ₂ NHNHMe	OH	OH	S				S
178	CH ₂ NHNHMe	OH	OH	S				R
179	CH ₂ NHNHMe	OH	OH	R				R
180	CH ₂ NHNHMe	OH	OH	R				S
181	CH ₂ NHNMe ₂	OH	OH	S				S
182	CH ₂ NHNMe ₂	OH	OH	S				R
183	CH ₂ NHNMe ₂	OH	OH	R				R
184	CH ₂ NHNMe ₂	OH	OH	R				S
185	CH ₂ NHNHAc	OH	OH	S				S
186	CH ₂ NHNHAc	OH	OH	S				R
187	CH ₂ NHNHAc	OH	OH	R				R
188	CH ₂ NHNHAc	OH	OH	R				S
189	CH ₂ N(Me)-NH ₂	OH	OH	S				S
190	CH ₂ N(Me)-NH ₂	OH	OH	S				R
191	CH ₂ N(Me)-NH ₂	OH	OH	R				R
192	CH ₂ N(Me)-NH ₂	OH	OH	R				S
193	CH ₂ N(Me)-NHMe	OH	OH	S				S

[0153]

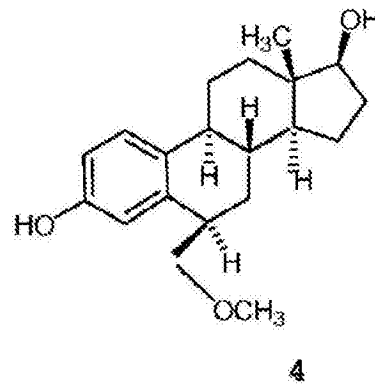
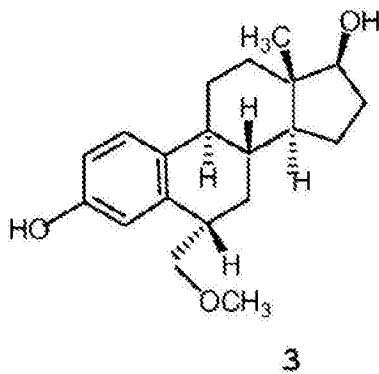
194	CH ₂ N(Me)-NHMe	OH	OH	S				R
195	CH ₂ N(Me)-NHMe	OH	OH	R				R
196	CH ₂ N(Me)-NHMe	OH	OH	R				S
197	CH ₂ N(Me)-NHAc	OH	OH	S				S
198	CH ₂ N(Me)-NHAc	OH	OH	S				R
199	CH ₂ N(Me)-NHAc	OH	OH	R				R
200	CH ₂ N(Me)-NHAc	OH	OH	R				S
201	OCH ₂ NH ₂	OH	OH	S				S
202	OCH ₂ NH ₂	OH	OH	S				R
203	OCH ₂ NH ₂	OH	OH	R				R
204	OCH ₂ NH ₂	OH	OH	R				S
205	OCH ₂ NHMe	OH	OH	S				S
206	OCH ₂ NHMe	OH	OH	S				R
207	OCH ₂ NHMe	OH	OH	R				R
208	OCH ₂ NMe	OH	OH	R				S
209	OCH ₂ NHAc	OH	OH	S				S
210	OCH ₂ NHAc	OH	OH	S				R
211	OCH ₂ NHAc	OH	OH	R				R
212	OCH ₂ NHAc	OH	OH	R				S
213	NHCH ₂ OH	OH	OH	S				S
214	NHCH ₂ OH	OH	OH	S				R
215	NHCH ₂ OH	OH	OH	R				R
216	NHCH ₂ OH	OH	OH	R				S
217	NHCH ₂ OMe	OH	OH	S				S
218	NHCH ₂ OMe	OH	OH	S				R
219	NHCH ₂ OMe	OH	OH	R				R
220	NHCH ₂ OMe	OH	OH	R				S
221	NHCH ₂ OAc	OH	OH	S				S
222	NHCH ₂ OAc	OH	OH	S				R
223	NHCH ₂ OAc	OH	OH	R				R
224	NHCH ₂ OAc	OH	OH	R				S
225	NHCH ₂ NH ₂	OH	OH	S				S
226	NHCH ₂ NH ₂	OH	OH	S				R
227	NHCH ₂ NH ₂	OH	OH	R				R
228	NHCH ₂ NH ₂	OH	OH	R				S
229	NHCH ₂ NHMe	OH	OH	S				S
230	NHCH ₂ NHMe	OH	OH	S				R
231	NHCH ₂ NHMe	OH	OH	R				R
232	NHCH ₂ NHMe	OH	OH	R				S
233	NHCH ₂ NMe ₂	OH	OH	S				S
234	NHCH ₂ NMe ₂	OH	OH	S				R
235	NHCH ₂ NMe ₂	OH	OH	R				R
236	NHCH ₂ NMe ₂	OH	OH	R				S
237	NHCH ₂ NHAc	OH	OH	S				S
238	NHCH ₂ NHAc	OH	OH	S				R
239	NHCH ₂ NHAc	OH	OH	R				R
240	NHCH ₂ NHAc	OH	OH	R				S
241	N(Me)- CH ₂ OH	OH	OH	S				S

[0154]

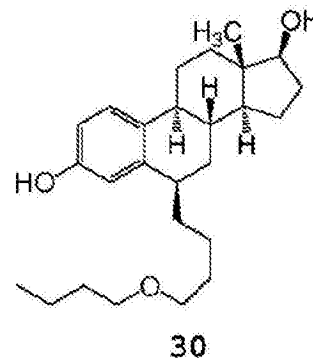
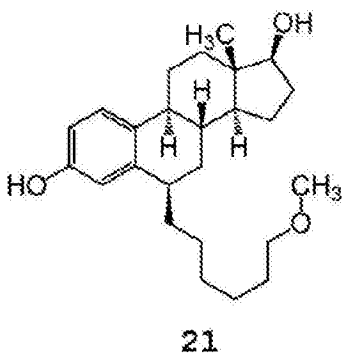
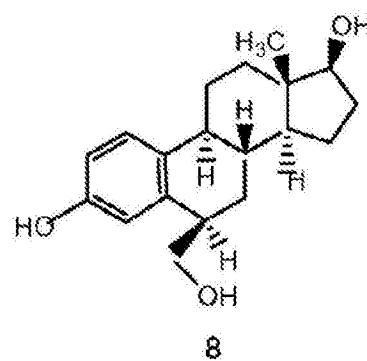
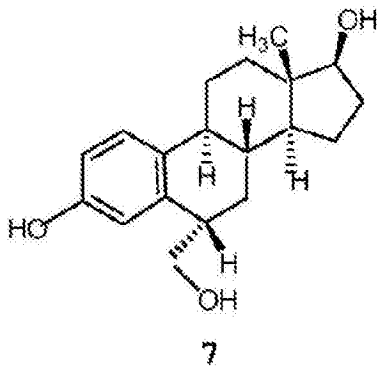
242	N(Me)CH ₂ OH	OH	OH	S					R
243	N(Me)CH ₂ OH	OH	OH	R					R
244	N(Me)CH ₂ OH	OH	OH	R					S
245	N(Me)CH ₂ OMe	OH	OH	S					S
246	N(Me)CH ₂ OMe	OH	OH	S					R
247	N(Me)CH ₂ OMe	OH	OH	R					R
248	N(Me)CH ₂ OMe	OH	OH	R					S
249	N(Me)CH ₂ OAc	OH	OH	S					S
250	N(Me)CH ₂ OAc	OH	OH	S					R
251	N(Me)CH ₂ OAc	OH	OH	R					R
252	N(Me)CH ₂ OAc	OH	OH	R					S
253	N(Me)CH ₂ NH ₂	OH	OH	S					S
254	N(Me)CH ₂ NH ₂	OH	OH	S					R
255	N(Me)CH ₂ NH ₂	OH	OH	R					R
256	N(Me)CH ₂ NH ₂	OH	OH	R					S
257	N(Me)CH ₂ NHMe	OH	OH	S					S
258	N(Me)CH ₂ NHMe	OH	OH	S					R
259	N(Me)CH ₂ NHMe	OH	OH	R					R
260	N(Me)CH ₂ NHMe	OH	OH	R					S
261	N(Me)CH ₂ NMe ₂	OH	OH	S					S
262	N(Me)CH ₂ NMe ₂	OH	OH	S					R
263	N(Me)CH ₂ NMe ₂	OH	OH	R					R
264	N(Me)CH ₂ NMe ₂	OH	OH	R					S
265	N(Me)CH ₂ NHAc	OH	OH	S					S
266	N(Me)CH ₂ NHAc	OH	OH	S					R
267	N(Me)CH ₂ NHAc	OH	OH	R					R
268	N(Me)CH ₂ NHAc	OH	OH	R					S
化合物 18	OMe	OH	OH	R	R	S	S	S	S
化合物 14	CH ₂ NHCH ₂ OCH ₃	OH	OH	R	R	S	S	S	S
化合物 15	CH ₂ NHCH ₂ OCH ₃	OH	OH	S	R	S	S	S	S
化合物 16	CH ₂ NHC(O)- OCH ₃	OH	OH	R	R	S	S	S	S
化合物 17	CH ₂ NHC(O)- OCH ₃	OH	OH	S	R	S	S	S	S
化合物 19	(CH ₂) ₃ OMe	OH	OH	S	R	S	S	S	S
化合物 20	(CH ₂) ₄ OMe	OH	OH	R	R	S	S	S	S
化合物 21	(CH ₂) ₅ OMe	OH	OH	R	R	S	S	S	S
化合物 22	(CH ₂) ₆ OMe	OH	OH	R	R	S	S	S	S
化合物 30	(CH ₂) ₄ O(CH ₂) ₂ - CH ₃	OH	OH	R	R	S	S	S	S
化合物 31	(CH ₂) ₅ O(CH ₂) ₂ - CH ₃	OH	OH	R	R	S	S	S	S

[0155] 表III中优选的化合物包括化合物14、15、16、17、18、19、20、21、22和31。本发明的至少一个方面涉及这些优选的化合物，其使用和制备方法。

[0156] 用于治疗如本文所述鉴定的癌症状态的一个具体的非限制性实例包括诸如下式的式IV化合物的应用:



[0157]



[0158] 上述活性化合物还可以作为体外测定法的组成部分使用,例如,以便确定候选宿主是否能够得益于使用所讨论的化合物治疗。本发明的任何活性化合物也可以作为标准品使用,例如,在测定法中以便鉴定其它活性化合物、其它抗增殖药、其它抗炎药等。

[0159] 至少在本发明的一个方面,评价候选化合物对雌激素受体拮抗活性。可以通过本领域中已知的多种方法对化合物是否为雌激素受体拮抗剂进行评价。在本申请中,可以通过按照本文所述的筛选方法进行荧光素酶结合测定来确定这类能力。

[0160] 在本发明该方面的一个更优选的实施方案中,通过使用ER(α)或ER(β)+ERE-tk-荧光素酶报告构建体(reporter construct)的表达构建体瞬时转染CV-1细胞来评价雌激素受体结合能力。然后将细胞分成对照组和候选组,其中对照不接受处理,或使用单独的雌二醇(1nM)处理,而候选组接受雌二醇+不同浓度的本发明的化合物。在16-24小时后,收集细胞并且使用商购测定试剂盒测定荧光素酶活性。

[0161] 在本发明的又一个方面,测定候选化合物的IC₅₀或半数最大抑制浓度,以便评价体

内应用的药物效力和可能的给药方案。本领域技术人员能够易于使用常用的已知方法确定这类信息。正如本领域中充分描述的, IC_{50} 表示并且测定了将某些生物学过程抑制50%需要多少具体物质/分子。在这种情况下, 将候选化合物的 IC_{50} 测定为与媒介物对照细胞相比产生50%响应的浓度。

[0162] 如本文所述, 本发明化合物的盐意指无毒性的“药学上可接受的盐”。然而, 其它的盐可以用于制备本发明的化合物或其药学上可接受的盐。当本发明的化合物含有碱性基团时, 术语“药学上可接受的盐”中包括的盐意指一般通过使游离碱与适合的有机或无机酸反应制备的无毒性盐。代表性的盐包括本领域中已知的任何这类盐。如果本发明的化合物携带酸性部分, 那么其适合的药学上可接受的盐可以包括碱金属盐, 例如钠或钾盐; 碱土金属盐, 例如钙或镁盐; 和与适合的有机配体形成的盐, 例如季铵盐。

[0163] 为了治疗哺乳动物个体, 诸如人类患者, 将有效量的本发明的一种或多种化合物或其药学上可接受的盐施用于该哺乳动物个体以便促进对癌细胞或靶向的肿瘤生长的暴露或接触。可以根据经验确定有效的剂型、施用方式和剂量, 并且做出这类决定属于本领域技术的范围。本领域普通的医师、兽医或临床医师应理解, 剂量根据所用具体化合物的活性、疾病状态的过程和/或进展、施用途径、化合物的排泄速率、患者的肾功能和肝功能、治疗期限、施用于个体的任何其它药物的鉴定、年龄、大小等医学领域众所周知的因素的不同而改变。正如本文讨论的, 可以以例如片剂、胶囊(它们各自包括缓释或定时释放制剂)、丸剂、粉末、微粉化组合物、颗粒、酞剂、酞剂、混悬剂、糖浆剂和乳剂这类口服剂型施用本发明的化合物。同样, 还可以以静脉内(推注(bolus)或输注)、腹膜内、局部(例如眼用滴眼液)、皮下、肌内或透皮(例如贴剂)形式(均使用制药领域普通技术人员众所周知的形式)施用它们。此外, 本领域普通的医师、兽医或临床医师易于确定用于预防、抗击(counter)或阻止病症进展所需的药物有效量并且开据其处方。

[0164] 在用于指定的作用时, 本发明的口服剂量为约0.01mg/kg体重/天(mg/kg/天)-约100mg/kg/天, 优选0.01-10mg/kg/天, 且最优选0.1-5.0mg/kg/天。就口服施用而言, 优选以含有0.01、0.05、0.1、0.5、1.0、2.5、5.0、10.0、15.0、25.0、50.0、100和500毫克活性组分的片剂形式提供组合物, 以便根据要治疗患者的症状调整剂量。药剂通常含有约0.01mg-约500mg活性组分, 优选约1mg-约100mg活性组分。在静脉内方面, 在恒定速率输注过程中的最优选剂量为约0.1-约10mg/kg/分钟。可以以每日单剂量施用本发明的化合物, 或可以以每日两次、三次或四次的分份剂量施用总每日剂量。

[0165] 如本文所述, 本发明的化合物可以与其它抗癌药或其它将增强哺乳动物个体的治疗方案的药剂组合。这类组合中的单个组分可以在疗法过程期间在不同时间单独地、或以分份的或单一的组合形式同时地施用于需要这类疗法的患者或这类患者的部位。因此, 应将本发明理解为包括所有同时或交替治疗的这类方案, 并且由此解释术语“施用”。可以理解本发明化合物与其它用于治疗靶向癌症病症的药剂的组合的范围主要包括与用于治疗涉及雌激素起作用的障碍的任何药物组合物的任何组合。

[0166] 制备、纯化和/或处理前药形式的活性化合物可以是方便的或令人期望的。如本文使用的术语“前药”涉及在代谢时产生所需的活性化合物或其自身为活性化合物的化合物。这包括, 例如在适合位置, 诸如位置3、6、10或17上添加磷酸酯部分。通常, 前药为无活性的或其活性低于活性化合物, 但可以提供有利的处理、施用或代谢特性。例如, 某些前药为

活性化合物的醚类；在代谢过程中，醚基被裂解而产生活性药物。此外，某些前药是以酶促方式被活化而产生活性化合物，或是在进一步化学反应时产生活性化合物的化合物。因此，在本文公开的本发明治疗方法中，术语“施用”应包括使用具体公开的化合物或可能未具体公开、但在施用于患者后在体内转化成具体公开的化合物的化合物，治疗所述的多种病症。这些化合物的代谢物包括在将本发明化合物引入哺乳动物个体后产生的活性物质种类。

[0167] 本发明的化合物可以为有效抗增殖药的前药。表现出低或中度内在活性的化合物可以作为前药起作用，并且以代谢方式被活化(例如在体内)而生成更有效的化合物。这种情况尤其用于可以通过在肿瘤中表达的酶来实现代谢活化的癌症疗法。作为底物起作用的前药可以被CYP19、17 β -HSD、HS-脱甲基酶或其它甾体连接酶代谢而生成有效的抗癌药。依西美坦的(R)或(S)-6-甲基氧代烷基衍生物提示它可对除乳腺癌之外的许多形式的癌症具有活性。对NDC-1011对映异构体观察到在抑制来源于乳腺、肺、结肠、前列腺、子宫内膜和卵巢癌的细胞系中的肿瘤细胞生长中的活性。例如，肿瘤细胞生长的体外研究在为CYP19阳性(MDA-MB-213和SK-OV-3)的细胞系中最高并且在CYP19阴性(MCF-7和NIH:OVCAR-3)的那些细胞系中降低，这表明化合物24可以作为前药起作用。

[0168] 尽管不受任何理论约束，但是例如，如果化合物24为前药，那么任何数量的身体正常类固醇生成酶应对化合物24具有活性，由此将化合物24转化成活性代谢物。本发明的该方面可以以相同的方式适用于S和R非对映异构体。

[0169] 本发明的前药化合物可以以与对内源性雄烷酮二酮(androstenedione)观察到的类似的方式起作用。将化合物24通过CYP19在化合物24的C-3碳上发生羟基化而转化成芳环，从而产生代谢物化合物2。化合物2可以通过17 β -羟类固醇脱氢酶(17 β -HSD)的可逆作用进一步在C-17碳上进行羟基化而产生二醇化合物4。

[0170] 与雌二醇一样，二醇化合物4具有芳环，但在C-6碳上的甲氧基烷基取代基方面不同于雌二醇。化合物24代谢成二醇化合物4可以以任何顺序发生。例如，通过17 β -HSD形成的化合物6通过CYP19芳构化活性被转化成化合物4二醇。

[0171] 不受任何理论约束，已经报导了雌二醇通过C17-OH(通过His 524)和C3-OH(通过Arg 394和Glu 353)与雌激素受体(ER α 和ER β)的受体配体袋(pocket)结合。与雌二醇一样，ER α 和ER β 的相同配体袋中化合物4二醇的结合可以通过类似的氨基酸结合发生。此外，在化合物4的C-6碳上存在的甲氧基烷基取代基可以改变正常配体结合受体的构型，从而产生解释观察到的抗肿瘤活性的改变的活性。

[0172] 此外，涉及化合物24(或化合物24的代谢物之一)的C-6甲基的脱甲基酶活性可以表明形成三元醇代谢物化合物8。由于在C-3、C-6和C-17碳上的醇基，这类化合物8三元醇代谢物可以结合涉及C-3、C-6和C-17醇类的多种组合的一系列组织中的广谱类固醇受体。

[0173] 组合物

[0174] 如本文使用的术语“组合物”意欲包括含有特定量的特定组分的产品以及任何直接或间接得自特定量的特定组分的组合的产品。

[0175] 本发明的药物制剂包括那些适合于口服、经鼻、局部(包括口腔和舌下)、直肠、阴道和/或胃肠外施用的制剂。无论选择的施用途径如何，通过本领域技术人员已知的常规方法将活性组分配制成药学上可接受的剂型。

[0176] 将与载体物质组合成单一剂型的活性组分的量将根据所治疗的宿主、具体施用方

式和所有上述其它因素的不同而改变。与载体物质组合成单一剂型的活性组分的量一般为有效产生治疗作用的最低剂量的活性组分的量。

[0177] 制备药物制剂或组合物的方法包括将活性组分与载体和任选的一种或多种辅助组分混合的步骤。一般而言,该制剂通过将活性组分与液体载体或细分的固体载体或两者均匀且紧密地结合在一起,然后,根据需要,将产物成型来制备。

[0178] 适合于口服施用的本发明制剂可以为胶囊、扁囊剂、丸剂、片剂、锭剂(使用矫味基质、通常为蔗糖和阿拉伯胶或黄耆胶)、粉末、颗粒或为在水性或非水性液体中的溶液或混悬剂或为水包油型或油包水型液体乳剂或酞剂或糖浆剂或为软锭剂(使用惰性基质,例如明胶和甘油或蔗糖和阿拉伯胶)和/或为漱口剂等的形式,它们各自含有预定量的活性组分。该活性成分还可以作为大丸剂(bolus)、药糖剂或糊剂施用。

[0179] 在用于口服施用的本发明的固体剂型(胶囊、片剂、丸剂、糖锭剂、粉末、颗粒等)中,将前药、活性组分(以其微粉化形式)与一种或多种药学上可接受的载体混合,所述载体例如柠檬酸钠或磷酸二钙,和/或下列的任何一种:(1)填充剂或增量剂,诸如淀粉、乳糖、蔗糖、葡萄糖、甘露糖醇和/或硅酸;(2)粘合剂,诸如,例如羧甲基纤维素、藻酸盐、明胶、聚乙烯吡咯烷酮、蔗糖和/或阿拉伯胶;(3)保湿剂,诸如甘油;(4)崩解剂,诸如琼脂、碳酸钙、马铃薯或木薯淀粉、海藻酸、某些硅酸盐和碳酸钠;(5)溶液阻滞剂,诸如石蜡;(6)吸收促进剂,诸如季铵类化合物;(7)润湿剂,诸如,例如,鲸蜡醇和单硬脂酸甘油酯;(8)吸收剂,诸如高岭土和膨润土;(9)润滑剂,诸如滑石粉、硬脂酸钙、硬脂酸镁、固体聚乙二醇、十二烷基硫酸钠及其混合物;和(10)着色剂。就胶囊、片剂和丸剂而言,药物组合物还可以包含缓冲剂。相似类型的固体组合物还可以用作使用诸如乳糖或奶糖这类赋形剂和高分子量聚乙二醇等的软和硬填充明胶胶囊中的填充剂。

[0180] 可以通过任选使用一种或多种辅助组分压制或模制制备片剂。可以使用粘合剂(例如明胶或羟丙基甲基纤维素)、润滑剂、惰性稀释剂、防腐剂、崩解剂(例如,淀粉羟乙酸钠或交联羧甲基纤维素钠)、表面活性剂或分散剂制备压制片剂。模制片剂可以通过在适合的机器中对经惰性液体稀释剂润湿的粉末状活性组分混合物进行模制来制备。

[0181] 本发明药物组合物的片剂和其它固体剂型,诸如糖锭剂、胶囊、丸剂和颗粒可任选地刻痕或可以任选使用包衣材料和壳,诸如肠溶衣和其它制药领域众所周知的包衣材料来制备。还可以使用例如不同比例的羟丙基甲基纤维素将它们配制成使其中的活性组分缓释或控释以便提供所需的释放特征、其它聚合物基质、脂质体和/或微球。例如,可以通过经截留细菌的过滤器过滤使它们无菌。这些组合物还可以任选地含有遮光剂,并且可以是仅仅,或优选在胃肠道的某些部位,任选以延缓方式,释放活性组分的组合物。可以使用的包埋组合物的实例包括聚合物物质和蜡。活性组分还可以在微囊化形式中。

[0182] 用于活性组分口服施用的液体剂型包括药学上可接受的乳剂、微乳、溶液、混悬剂、糖浆剂和酞剂。除活性组分外,液体剂型还可以含有本领域中常用的惰性稀释剂,诸如,例如,水或其它溶剂,增溶剂和乳化剂,诸如乙醇、异丙醇、乙酸乙酯、丁醇、苯甲酸苄酯、丙二醇、乙二醇、油(具体的是棉籽油、花生油、玉米油、胚油、橄榄油、蓖麻油和芝麻油)、甘油、戊醇、四氢呋喃(醇)聚乙二醇(tetrahydrofuryl polyethylene glycol)和脱水山梨糖醇的脂肪酸酯类,及其混合物。

[0183] 除惰性稀释剂外,口服组合物还可以包括助剂,诸如润湿剂、乳化剂和悬浮剂、甜

味剂、矫味剂、着色剂、芳香剂和防腐剂。混悬剂除包含活性组分外还可含有悬浮剂,例如,乙氧基化醇、聚氧乙烯山梨醇和脱水山梨糖醇酯类、微晶纤维素、偏氢氧化铝(aluminum metahydroxide)、膨润土、琼脂和黄耆胶,及其混合物。

[0184] 可以将用于直肠或阴道施用的本发明药物组合物的制剂制成栓剂,所述栓剂可以通过将活性组分与一种或多种适合的无刺激性赋形剂或载体混合来制备,所述的无刺激性赋形剂或载体包括,例如,可可脂、聚乙二醇、蜡或水杨酸酯,其在室温下为固体,而在体温下为液体,且由此将在直肠或阴道腔熔化并且释放活性组分。本发明适合于阴道施用的制剂还包括阴道栓剂、棉塞、乳膏剂、凝胶剂、糊剂、泡沫或喷雾剂,它们含有本领域已知适合的这类载体。

[0185] 用于活性组分局部或透皮施用的剂型包括粉末剂、喷雾剂、软膏剂、糊剂、乳膏剂、洗剂、凝胶剂、溶液、贴剂和吸入剂。活性组分可以在无菌条件下和药学上可接受的载体、以及可能需要的任何缓冲剂或抛射剂混合。

[0186] 软膏剂、糊剂、乳膏剂和凝胶剂除含有活性组分外还可以含有赋形剂,诸如动物和植物脂肪、油、蜡、石蜡、淀粉、黄耆胶、纤维素衍生物、聚乙二醇、硅酮、膨润土、硅酸、滑石粉和氧化锌,或其混合物。粉末剂和喷雾剂除活性组分外还可以含有赋形剂,诸如乳糖、滑石粉、硅酸、氢氧化铝、硅酸钙和聚酰胺粉末,或这些物质的混合物。喷雾剂还可以含有常用的抛射剂,诸如氯氟烃和挥发性未取代的烃,诸如丁烷和丙烷。

[0187] 还可以通过局部应用适合的鼻内媒介物或通过透皮途径,使用本领域技术人员众所周知的那些透皮贴剂形式以鼻内形式施用本发明的化合物。透皮递送系统在整个剂量方案中提供了连续施用。透皮贴剂具有使活性组分受控递送至身体的额外优点。可以通过溶解、分散、或另外将活性组分掺入适当的介质,诸如弹性基质材料制备这类剂型。吸收促进剂还可以用于增加活性组分通过皮肤的流量。可以通过提供速率控制膜或将活性组分分散于聚合物基质或凝胶中控制这类流动速率。

[0188] 本发明的化合物还可以以脂质体递送系统的形式,诸如小单层囊泡(vesicle)、大单层囊泡和多层囊泡施用。脂质体可以由各种磷脂类构成,诸如胆固醇、十八酰胺或磷脂酰胆碱类。

[0189] 可以通过使用单克隆抗体作为化合物分子所偶联的单个载体来递送另一种递送模式的本发明化合物。还可以使本发明的化合物与作为靶向药物载体的可溶性聚合物偶联。这类聚合物可以包括聚乙烯吡咯烷酮、吡喃共聚物、聚羟丙甲基丙烯酸酯-苯酚、聚羟乙基天冬酰胺-苯酚或被棕榈酰残基取代的聚环氧乙烷-聚赖氨酸。此外,本发明的化合物可以与一类用于实现药物控释的生物可降解聚合物偶联,所述聚合物例如为聚乳酸、聚乙醇酸、聚乳酸和聚乙醇酸共聚物、聚 ϵ -己内酯、聚羟基丁酸、聚原酸酯类、聚缩醛类、聚二氢吡喃类、聚氰基丙烯酸酯类和水凝胶的交联或两亲性嵌段共聚物。

[0190] 适合于胃肠外施用的本发明的药物组合物包含活性组分与一种或多种药学上可接受的无菌等渗水性或非水性溶液、混悬剂或乳剂或可在临用前用无菌可注射溶液或分散液重构的无菌粉末的组合,其可以含有抗氧化剂、缓冲剂、使制剂与指定接受者的血液等渗的溶质或悬浮剂或增稠剂。

[0191] 可以用于本发明药物组合物的合适的水性和非水性载体的实例包括水、乙醇、多元醇(诸如甘油、丙二醇、聚乙二醇等)及其合适的混合物、植物油,诸如橄榄油、和可注射的

有机酯类,诸如油酸乙酯。例如,可以通过使用包衣材料,诸如卵磷脂,通过维持所需的粒度,并且通过使用表面活性剂维持适当的流动性。

[0192] 这些组合物还可以含有助剂,诸如润湿剂、乳化剂和分散剂。还期望在组合物中包括等渗剂,诸如糖类、氯化钠等。此外,可以通过包含延缓吸收的试剂,诸如单硬脂酸铝和明胶使可注射的药物形式延长吸收。

[0193] 在某些情况中,为了延长活性组分的作用,期望从皮下或肌肉注射中缓慢吸收药物。可以通过使用具有差的水溶性结晶或无定形物质的液体悬浮液实现这一目的。然后活性组分的吸收速率取决于其溶出速率,由此可以依赖于晶体尺寸和晶型。或者,通过将活性组分溶于或悬浮于油媒介物来延缓胃肠外施用的活性组分的吸收。

[0194] 通过使活性组分在生物可降解聚合物,诸如聚乳酸-聚乙醇酸交酯中形成微囊基质而制备可注射的长效剂型(depot form)。根据活性组分与聚合物之比和所用具体聚合物性质的不同,可以控制活性组分释放速率。其它生物可降解聚合物的实例包括聚(原酸酯)和聚(酸酐)。还通过将活性组分俘获在与身体组织相容的脂质体或微乳中制备长效可注射制剂。例如,可以通过经截留细菌的过滤器过滤使可注射物质无菌。

[0195] 优选地,以可注射剂型递送的组合物含有生物相容性聚合物,相容形式的本发明公开的化合物,以及使生物相容性聚合物增溶的生物相容性溶剂,其中生物相容性聚合物、本发明化合物、生物相容性溶剂的重量百分比基于整个组合物的总重量;进一步地其中在所述组合物中使用了足量的所述聚合物,使得递送至血管部位后所述聚合物能够沉淀并释放出足以使肿瘤停止生长的剂量的活性化合物。

[0196] 该实施方案的另一个方面将观察所述组合物的适当的粘度,优选在40°C时在约10-200cSt的范围内。

[0197] 更优选的,局部递送至实体瘤的组合物含有浓度为约1-95重量百分比的生物相容性聚合物,浓度为约5-约75重量百分比的活性化合物,以及约5-约95重量百分比的生物相容性溶剂,其中所有组分的重量百分比基于整个组合物的总重量,并且进一步地其中组合物在40°C时具有至少10-约200cSt,并且更优选至少为约200cSt的粘度。

[0198] 生物可降解聚合物已在本领域公开。例如,Dunn等人在美国专利4,938,663中公开了生物可降解聚合物的下列实例:直链聚合物诸如聚乳酸、聚乙醇酸交酯、聚己酸内酯、聚酞、聚酰胺、聚氨基甲酸酯、聚酯酰胺、聚原酸酯、聚二噁烷酮、聚缩醛、聚缩酮(polyketal)、聚碳酸酯、聚原碳酸酯(polyorthocarbonate)、含磷氮链聚合物(polyphosphazene)、聚羟基丁酸酯、聚羟基戊酸酯、聚亚烷基草酸酯(polyalkylene oxalate)、聚亚烷基琥珀酸酯(polyalkylene succinate)、聚(苹果酸)、聚(氨基酸)、聚乙烯吡咯烷酮、聚乙二醇、聚羟基纤维素、壳多糖、壳聚糖、共聚物、三聚物及其组合。其它生物可降解聚合物包括,例如明胶、胶原等。

[0199] 适合的非生物可降解聚合物包括,例如,醋酸纤维素、乙烯乙醇共聚物、水凝胶(例如丙烯酸酯类)、聚丙烯腈、聚乙烯乙酸酯、醋酸丁酸纤维素、硝酸纤维素、氨基甲酸乙酯/碳酸酯共聚物、苯乙烯/顺丁烯二酸共聚物,及其混合物。

[0200] 优选的生物相容性聚合物可以包括丙烯酸酯聚合物、二醋酸纤维素和乙烯乙醇共聚物、聚乙二醇、壳糖(chitosen)、胶原和明胶。此类共聚物可商购得到或可以用本领域公认的方法制备。在一种优选的实施方案中,用凝胶渗透色谱确定的组合物的数均分子量

为约5,000-约200,000,更优选为约25,000-约180,000,依然更优选为约50,000-100,000。

[0201] 本发明的另一个方面是在组合物中使用生物相容性造影剂以观察并监测感兴趣的局部位点的临床进展。这些造影剂包括水溶性造影剂和水不溶性造影剂。优选的是,水不溶性造影剂选自硫酸钡、钽粉和氧化钽的生物相容性材料。

[0202] 在又一种更优选的实施方案中,生物相容性溶剂是水、二甲基亚砜(DMSO)、乙醇、乳酸乙酯或丙酮。

[0203] 制剂可以存在于单位剂量或多剂量密封容器中,例如安瓿和小瓶,并且可以以冻干的状态保存,仅需要在使用前即刻加入无菌液体载体,例如注射用水。临时的注射溶液和混悬液可以用上述类型的无菌粉末、颗粒、纳米颗粒和片剂制备。

[0204] 本发明的药物组合物还可以以兽用制剂的形式使用,包括适合于如下的那些:(1)口服施用,例如,混合了饲料的兽用顿服药(水性或非水性溶液或混悬剂)、片剂、大丸剂、粉末剂、颗粒或丸粒,施用于舌的糊剂;(2)胃肠外施用,例如皮下,肌肉或静脉内注射,例如为无菌溶液或混悬液,当合适时,通过乳房内注射,其中将混悬液或溶液通过其乳头引入动物乳房;(3)局部施用,例如,为施用于皮肤的乳膏剂、软膏剂或喷雾剂;或(4)阴道内,例如,为阴道栓剂、乳膏剂或泡沫或本领域技术人员认为适合于对感兴趣的部位施用的任何其它方法。

[0205] 尽管参照某些实施方案描述了本发明,但是本领域技术人员可以理解可以通过未描述的实施方案实施本发明,提出所描述的实施方案是为了说明的目的,而非起限定作用。因此,所附权利要求的范围不应限于本文包含的实施方案的描述。

[0206] 方案1,2和3中给出的用于制备上述示例于式I-IV中和表I,II和III中的化合物的一般方法进一步通过下列实施例说明。具体地,方案1和2中给出的用于制备6-烷氧基烷基雌二醇化合物的方法通过下列所示的实施例1-5来说明,且方案3用于制备雌二醇的6-氨基衍生物。在实施例4中阐述评价雌激素受体结合能力的实例,并且在实施例5中给出了本发明优选化合物的IC₅₀的最终评价及其对比效力。除非另有限定,否则所有原料物质和试剂均是标准商品级,并且无需进一步纯化即可使用,或易于通过常规方法由这类物质制备。有机合成领域技术人员已知可以改变原料物质和反应条件以便获得所需的终产物。

[0207] 实施例1

[0208] 制备6-羟甲基-雄甾-1,4-二烯-3,17二酮的方法。

[0209] 在反应系统中,将足量的(+)雄甾-1,4-二烯-3,17-二酮(ADD)、12.2当量的吡咯烷、催化的乙酸、变性乙醇(95/5乙醇/甲醇)和6-7%四氢呋喃(THF)加热至30-40°C最少16小时,以便形成1,3-二吡咯烷并雄甾-3,5-二烯-17酮。一旦ADD含量按HPLC面积计达到低于3%,或它变得稳定或所得的二吡咯烷并雄甾二烯开始恢复成ADD,就将该反应混合物冷却至5±5°C。然后收集所得化合物并且用冷变性乙醇洗涤。产率折干计算一般为70-80%,纯度按HPLC面积的百分比计一般为90-95%。

[0210] 然后在室温下将1当量的所得1,3-二吡咯烷并雄甾-3,5-二烯-17酮与在10ml二氯甲烷/g中的2.6当量的福尔马林(甲醛)混合。随后用2%硫酸溶液将该反应混合物酸化至pH约2。因此,形成有机层,将该层用2%硫酸和1:1水/盐水洗涤。然后将溶剂交换成甲苯(约10ml/g),其中产物随着甲苯交换蒸发而结晶。收集、洗涤并且干燥所述产物而得到6-羟甲基-雄甾-1,4-二烯-3,17二酮。只要期望,那么本领域技术人员就可以通过使用本领域的已

知技术进一步改变6位上的立体化学。

[0211] 实施例2

[0212] 制备化合物3和4的方法。

[0213] 正如方案2中概括的,按照下列方式合成雌二醇化合物3和4。通过使 β -雌二醇与二氢吡喃在THF中反应,使用甲苯磺酸或樟脑磺酸作为催化剂制备被保护的雌二醇。如本领域技术人员可以理解的,该反应为平衡反应并且在这种条件下可能无法进行完成。因此,可以在该反应混合物中发现两种单保护的雌二醇类。这类粗反应混合物可以与乙腈一起经历研磨步骤,产生以约70%产率结晶的所需双-THP雌二醇。

[0214] 如方案2中所示,通过使用称作LiDAKOR的强碱混合物(丁基锂、二异丙胺和叔戊醇钾)使苄基6-位酰化获得中间体醛。在-70°C的这类条件下,本领域技术人员可以理解在苄基位置上夺取质子。然后通过柱色谱法纯化中间体醛而得到糖浆状物,产率约为50%。使用过量的氢化铝锂还原醛而得到高产率的玻璃状泡沫外消旋羟甲基雌二醇化合物。

[0215] 为了制备化合物3和4,通过使用氢氧化钠和甲基碘使外消旋羟甲基雌二醇化合物甲基化而制备甲氧基甲基中间体化合物。通过柱色谱法纯化甲氧基甲基中间体而得到玻璃状泡沫。使保护基团脱保护可以得到脱保护的外消旋6-甲氧基甲基雌二醇。使用手性制备型HPLC分离对映异构体而得到化合物3和4。就化合物4而言,获得了>95:5的R:S的手性纯度。就化合物3而言,获得了86:14的S:R的手性纯度。在本领域技术人员水平范围内可以充分使用NMR测定6-位的绝对立体化学,其中4-和6-质子为特征。

[0216] 实施例3

[0217] 制备化合物7和8的方法。

[0218] 使用与实施例2中所述相同的方法,合成外消旋的羟甲基雌二醇化合物。然后使用催化的氯化氢在甲醇中实现其的脱保护,并且使用手性制备型HPLC分离所得外消旋三元醇而得到两种级分,一种富集化合物7,而另一种富集化合物8。就每种化合物而言,分别实现>95:5的R:S和S:R的手性纯度。通过NMR确立6-位的绝对立体化学,其中4-和6-质子为特征。

[0219] 实施例4

[0220] 制备化合物10的方法。

[0221] 使用如实施例1-2中相同的方法,制备化合物4。向化合物4(0.32g,1mmol)在DCM(30ml)中的溶液加入醋酸酐(0.6ml,6mmol,3eq)、TEA(0.5ml,3.6mmol,1.8eq)和DMAP(50mg)。将反应溶液室温下搅拌3小时。采用薄层色谱("TLC")追踪反应的完成。

[0222] 分别用1M HCl(20ml)、饱和NaHCO₃(20ml)和盐水(20ml)洗涤反应溶液。用MgSO₄干燥DCM相并过滤。蒸发滤液,并在高真空中于60°C干燥3小时,室温下过夜以提供纯的所需的方案3的经保护的甲氧基化合物(0.4g,白色,定量的)。

[0223] 在室温下向方案3保护的甲氧基化合物(0.35g,0.87mmol)在DCM中的溶液加入碘化三甲基硅烷(6ml,44mmol,50eq)。将黄色溶液在氩气下38°C搅拌过夜。

[0224] 将反应溶液在冰浴中冷却。缓慢加入过量饱和的NaHCO₃(10ml)以淬灭反应。在分离出混合物之后,用盐水洗涤有机相,并浓缩用于硅胶纯化,使用在DCM中3%MeOH作为流动相。得到产率(80%)为270mg纯的方案3的羟基化合物。

[0225] 将方案3的羟基化合物(250mg,0.65mmol)、三苯基膦(222mg,0.85mmol,1.3eq)和

N-羟基邻苯二甲酰亚胺(140mg, 0.85mmol, 1.3eq)在THF(20ml)中的溶液在冰浴中冷却。向冷却的溶液中加入偶氮二甲酸二乙酯(0.6ml, 1mmol, 1.5eq)。将反应混合物加热至室温,并搅拌过夜。

[0226] 然后将反应混合物蒸发,并将所得残渣用DCM(50ml)稀释,用盐水洗涤,并浓缩用于硅胶纯化,使用3%MeOH/DCM作为流动相,以产生260mg(75%)所需的方案3的白色邻苯二甲酰亚胺化合物。

[0227] 将方案3的邻苯二甲酰亚胺化合物(580mg, 1.1mmol)在无水DCM(30ml)中的溶液在冰浴中冷却。加入甲胍(0.22ml, 2.2mmol, 4eq)。将混合物加热至室温并搅拌3小时。用LC-MS监测反应的完成。

[0228] 用盐水和饱和的NaHCO₃(1:1, 10ml)的溶液洗涤反应溶液。用DCM(10ml)洗涤水相。将合并的DCM相在高真空下蒸发至干。LC-MS证实了粗产物含有方案3的两种主要的氨基氧基产物。

[0229] 将在MeOH(60ml)中的方案3的氨基氧基化合物的粗混合物(~0.7mmol)在冰浴中冷却。随后加入碳酸钠(0.5g, 4.7mmol)在水(10ml)中的溶液和NaOH(0.8g, 20mmol)在水(10ml)中的溶液。将反应物加热至室温,并搅拌过夜。

[0230] 最终反应溶液的pH约为14。加入饱和碳酸氢钠溶液(~10ml)以调节pH至10。然后将混合物蒸发以移除大部分的甲醇。向所得混合物中加入用于萃取的DCM(100ml)和饱和碳酸氢钠(30ml)。用DCM(2×50ml)洗涤水相。将合并的DCM相蒸发至干以得到粗混合物400mg。

[0231] 通过硅胶柱纯化粗混合物,使用5%MeOH/DCM作为流动相,以提供所需的终产物化合物10(135mg, 灰白色, 产率60%, HPLC纯度98%, 经NMR和LC-MS证实)。

[0232] 实施例5

[0233] 制备化合物21的方法。

[0234] a)(8R, 9S, 13S, 14S, 17S)-3, 17-双(甲氧基甲氧基)-13-甲基-7, 8, 9, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17-十氢-6H-环戊二烯并[a]菲-将氯甲基甲基醚(7.0mL, 92.0mmol)加到β-雌二醇(5g, 18.4mmol)和二异丙基乙胺(16.0mL, 92mmol)在100mL THF中的溶液中。将反应混合物加热回流并搅拌18小时。在真空中移除THF,并将黄色/棕色的油分配在水和CH₂Cl₂之间。分离有机层,用盐水洗涤,干燥(Na₂SO₄),过滤,并在真空中蒸发以得到金色的油。通过硅胶柱色谱(10%EtOAc/Hex)纯化提供了为粘稠澄清油的标题化合物(5.7g, 86%)。

[0235] b)(8R, 9S, 13S, 14S, 17S)-3, 17-双(甲氧基甲氧基)-13-甲基-7, 8, 9, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17-十氢-6H-环戊二烯并[a]菲-6-醇-向氩气下冷却至-78℃的叔丁醇钾(8.87g, 79.0mmol)和二异丙胺(11.2mL, 79.0mmol)在80mL无水THF中的溶液中滴加正-丁基锂(49.4mL, 79.0mmol, 在己烷中1.6M)。将反应混合物在-78℃下搅30-45分钟。然后滴加来自a)的化合物(5.7g, 15.8mmol)在45mL THF中的溶液,并将反应混合物在-78℃搅拌3小时。在加入来自a)的化合物期间,反应物转变为深红色。然后缓慢加入硼酸三甲酯(10.6mL, 94.8mmol),并将混合物加热至0℃,并搅拌2小时。然后加入过氧化氢(24mL 30%水溶液),并将反应混合物加热至室温,并再搅拌1小时。将反应冷却回0℃,并用10%的Na₂S₂O₃水溶液(70ml)小心淬灭。将所得混合物用EtOAc(2×)萃取,并将合并的有机提取物干燥(Na₂SO₄),过滤,并在真空中蒸发以得到黄色/棕色的油。通过硅胶柱色谱(25%EtOAc/Hex)纯化提供了为白色固体的标题化合物(3.5g, 59%)。

[0236] c) (8R,9S,13S,14S,17S)-3,17-双(甲氧基甲氧基)-13-甲基-7,8,9,11,12,13,14,15,16,17-十氢-6H-环戊二烯并[a]菲-6-酮-将戴斯-马丁氧化剂(Dess-Martin Periodinane)(9.46g,22.3mmol)分次加到来自b)的化合物(7.0g,18.6mmol)在300mL CH₂Cl₂中的溶液中。将所得反应混合物在室温下搅拌3小时。将混合物倾注至水中,并分离层。用CH₂Cl₂萃取水层,并用盐水洗涤合并的有机提取物,干燥(Na₂SO₄),过滤,并在真空中蒸发以得到胶粘的、棕色固体。通过硅胶柱色谱(15%EtOAc/Hex)纯化提供为淡黄色、粘稠油状物的标题化合物(6.0g,86%)。

[0237] d) 2-(((8R,9S,13S,14S,17S)-3,17-双(甲氧基甲氧基)-13-甲基-7,8,9,11,12,13,14,15,16,17-十氢-6H-环戊二烯并[a]菲-6-亚基)乙酸乙酯-三乙基磷酰乙酸(4.1mL,20.8mmol)在室温下加到氢氧化钠(832mg,20.8mmol)在25mL THF中的混合物中。在约10分钟之后,滴加来自c)的化合物(3.9g,10.4mmol)在10mL THF中的溶液。将所得反应混合物在密封的管中加热回流72小时。将混合物在真空中浓缩,并通过硅胶柱色谱(梯度从5%EtOAc/Hex至40%EtOAc/Hex)纯化以得到为澄清的、粘稠油状物的标题化合物(3.4g,74%)。

[0238] e) 2-((8R,9S,13S,14S,17S)-3,17-双(甲氧基甲氧基)-13-甲基-7,8,9,11,12,13,14,15,16,17-十氢-6H-环戊二烯并[a]菲-6-亚基)乙醇-将来自d)的化合物(3.1g,6.97mmol)在65mL THF中的溶液在0℃下用氢化铝锂(5.2mL,10.46mmol,在THF中2M)逐滴处理。移除冷水浴,并将反应混合物在室温下搅拌15分钟。将反应冷却回0℃并通过小心加入1.3mL水,接着2.6mL 2N NaOH,然后1.3mL水淬灭。将混合物强力搅拌直至白色固体形成。过滤混合物,并将滤液在真空中浓缩以得到为澄清油的标题化合物(2.8g,99%)。

[0239] f) 2-((6S,8R,9S,13S,14S,17S)-3,17-双(甲氧基甲氧基)-13-甲基-7,8,9,11,12,13,14,15,16,17-十氢-6H-环戊二烯并[a]菲-6-基)乙醛-将来自e)的化合物(3.09g,7.68mmol)和10%Pd/C(500mg)在100mL乙酸乙酯中的混合物在40psi H₂(g)下和室温下搅拌5小时。通过硅藻土过滤混合物,并用乙酸乙酯充分洗涤硅藻土。将滤液在真空中浓缩以得到浅黄色的油(3.1g)。将该油溶解于100mL二氯甲烷中,并分次加入戴斯-马丁氧化剂(3.9g,9.22mmol)。将所得反应混合物在室温下搅拌30小时。将混合物倾注至水中并用CH₂Cl₂萃取。将合并的有机提取物用盐水洗涤,干燥(Na₂SO₄),过滤,并在真空中蒸发以得到棕色固体。通过硅胶柱色谱(15%EtOAc/Hex)纯化提供为澄清油的标题化合物(2.0g,65%)。

[0240] g) 4-(((6R,8R,9S,13S,14S,17S)-3,17-双(甲氧基甲氧基)-13-甲基-7,8,9,11,12,13,14,15,16,17-十氢-6H-环戊二烯并[a]菲-6-基)丁-2-烯-1-醇-将双(三甲基硅烷基)氨基锂(18.4mL,18.4mmol,在THF中1.0M)在0℃下滴加到(2-羟乙基)溴化三苯膦(3.37g,8.70mmol)在60mL THF中的混悬液中。在1小时之后,将金棕色溶液用来自f)的化合物(1.4g,3.48mmol)在10mL THF中的溶液逐滴处理。将所得反应混合物在0℃下搅拌40分钟,然后用饱和NH₄Cl水溶液淬灭。将所得混合物用EtOAc(2×)萃取,并将合并的有机提取物干燥(Na₂SO₄),过滤,并蒸发以得到棕色的油。通过硅胶柱色谱(梯度从20%EtOAc/Hex至75%EtOAc/Hex)纯化提供为淡黄色、粘稠油的标题化合物(680mg,45%)。

[0241] h) 4-(((6R,8R,9S,13S,14S,17S)-3,17-双(甲氧基甲氧基)-13-甲基-7,8,9,11,12,13,14,15,16,17-十氢-6H-环戊二烯并[a]菲-6-基)丁-2-烯醛-将戴斯-马丁氧化剂(437mg,1.03mmol)在室温下加到来自g)的化合物(370mg,0.86mmol)在15mL CH₂Cl₂中的溶液中。将所得反应混合物搅拌10分钟,然后倾注至水中。分离层并将水层用CH₂Cl₂(2×)萃

取。将合并的有机提取物用盐水洗涤,干燥(Na_2SO_4),过滤,并在真空中蒸发以得到棕色的油。通过硅胶柱色谱(梯度从5%EtOAc/ CH_2Cl_2 至10%EtOAc/ CH_2Cl_2)纯化提供为淡黄色、粘稠油的标题化合物(358mg,86%)。

[0242] i) 6-((6R,8R,9S,13S,14S,17S)-3,17-双(甲氧基甲氧基)-13-甲基-7,8,9,11,12,13,14,15,16,17-十氢-6H-环戊二烯并[a]菲-6-基)-2,4-二烯-1-醇-将双(三甲基硅烷基)氨基锂(4.3mL,4.29mmol,1.0M在THF中)在0℃下滴加到(2-羟乙基)溴化三苯膦(786mg,2.03mmol)在14mL THF中的混悬液。在30分钟之后,将金棕色溶液用来自h)的化合物(345mg,0.81mmol)在2mL THF中的溶液逐滴处理。将所得反应混合物在0℃下搅拌20分钟,并用饱和 NH_4Cl 水溶液淬灭。将所得混合物用EtOAc(2×)萃取,并将合并的有机提取物干燥(Na_2SO_4),过滤,并蒸发以得到棕色的油。通过硅胶柱色谱(梯度从5%EtOAc/ CH_2Cl_2 至40%EtOAc/ CH_2Cl_2)纯化提供为黄色、粘稠油的标题化合物(140mg,38%)。

[0243] j) (6R,8R,9S,13S,14S,17S)-6-(6-甲氧基己-2,4-二烯-1-基)-3,17-双(甲氧基甲氧基)-13-甲基-7,8,9,11,12,13,14,15,16,17-十氢-6H-环戊二烯并[a]菲-将在i)中的化合物(135mg,0.3mmol)的溶液冷却至0℃,分次加入氢氧化钠(120mg,3.0mmol)。在5-10分钟之后,滴加碘甲烷(0.19mL,3.0mmol),并将所得反应混合物加热至室温,并搅拌4小时。加入EtOAc并将反应用水小心淬灭。分离层并将有机层干燥(Na_2SO_4),过滤,并蒸发以得到棕色油状残余物。通过硅胶柱色谱(梯度从5%EtOAc/Hex至20%EtOAc/Hex)纯化提供为澄清油的标题化合物(92mg,65%)。

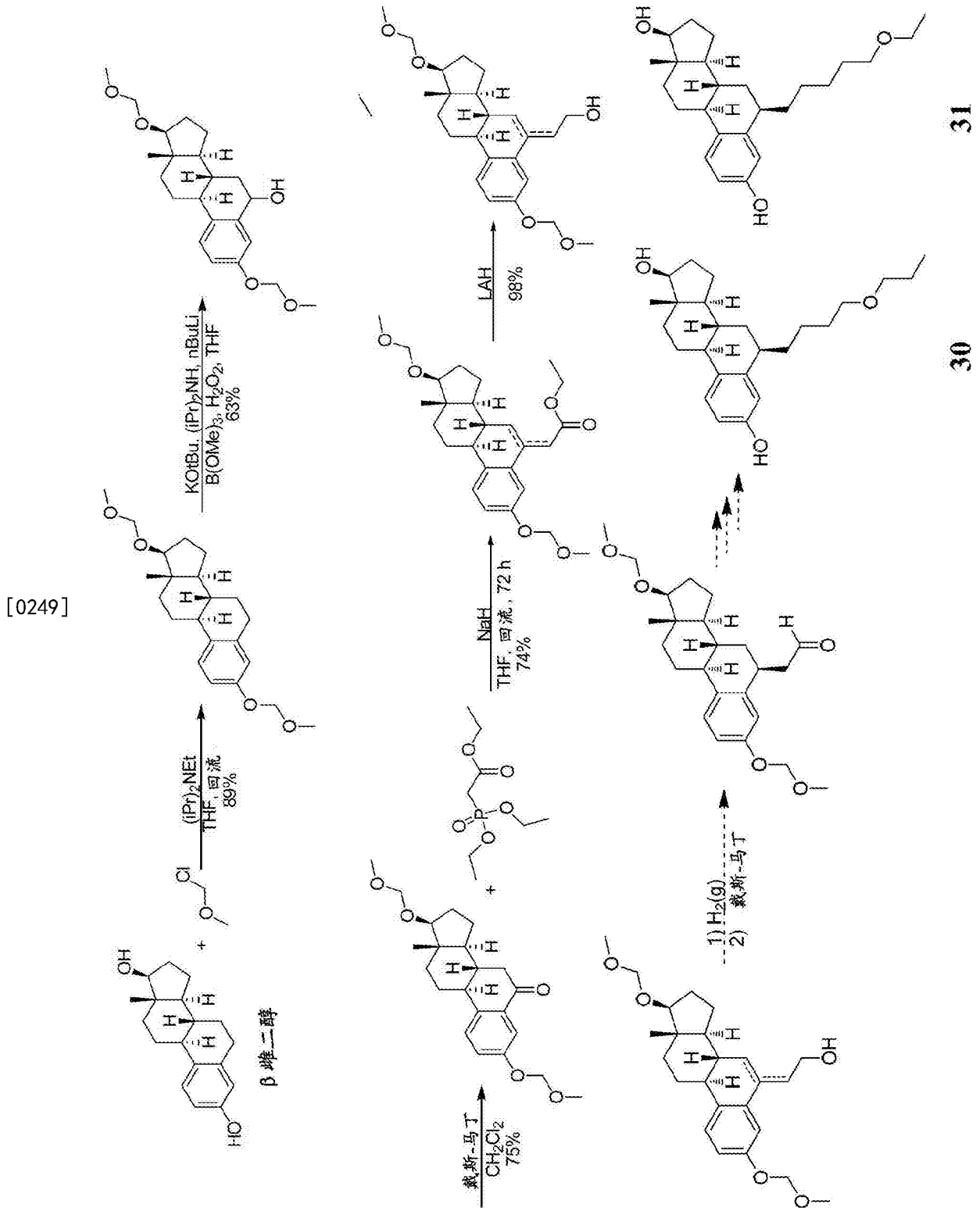
[0244] k) (6R,8R,9S,13S,14S,17S)-6-(6-甲氧基己基)-3,17-双(甲氧基甲氧基)-13-甲基-7,8,9,11,12,13,14,15,16,17-十氢-6H-环戊二烯并[a]菲-在j)中的化合物(90mg,0.19mmol)和10%Pd/C(100mg)在5-10mL乙酸乙酯中的混合物在 $\text{H}_2(\text{g})$ 气球下和室温下搅拌16小时。通过硅藻土过滤混合物,并用乙酸乙酯充分洗涤硅藻土。将滤液在真空中浓缩以得到为澄清油的标题化合物(90mg,99%)。

[0245] l) (6R,8R,9S,13S,14S)-6-(6-甲氧基己基)-13-甲基-7,8,9,11,12,13,14,15,16,17-十氢-6H-环戊二烯并[a]菲-3,17-二醇(化合物21)-来自k)的化合物(90mg,0.19mmol)在1.5mL每个6N HCl和THF中的溶液在室温下搅拌5小时。将反应混合物用水稀释,并用EtOAc(2×)萃取。将合并的有机提取物干燥(Na_2SO_4),过滤,并在真空中蒸发以得到澄清的,油状残余物。通过硅胶柱色谱(梯度从 CH_2Cl_2 至30%EtOAc/ CH_2Cl_2)纯化,提供为白色固体泡沫的化合物21(38mg,52%)。

[0246] 实施例6

[0247] 制备化合物30和31的方法。

[0248] 根据方案4制备化合物30和31(提供实际产率)。



[0250] 实施例7

[0251] 使用荧光素酶活性测定雌激素受体结合能力的方法。

[0252] 将雌激素受体-阴性CV-1肾细胞维持在37°C下和加湿的5%CO₂环境中的含4.5g/L葡萄糖(补充了10%胎牛血清和100单位/ml青霉素-链霉素)的Dulbecco改良Eagle培养基中。然后以2×10⁵个细胞/孔的密度将细胞铺板在6-孔盘中的无酚红的Dulbecco改良Eagle培养基中,该培养基含有10%活性炭-葡聚糖-处理的胎牛血清。使用LipofectAMINE试剂根

据制造商的方案转染CV-1细胞。转染包括1.5 μ g报告质粒(包含含有胸苷激酶启动子和荧光素酶基因的单一ERE克隆的上游的ERE-tk-荧光素酶)和0.5 μ g ER α 或ER β 表达载体(分别含有CMV-ER α 或CMV-ER β 全长编码序列)。第二天,细胞不接受处理(对照)或单独用雌二醇(1nM)或用雌二醇+本发明的化合物(以不同浓度)进行处理。16-24小时后,收集细胞并且测定荧光素酶活性。

[0253] 开始时,用冰冷的磷酸盐缓冲盐水将细胞单层洗涤两次,并且在250 μ l的1X细胞培养溶胞试剂(Promega, Madison, WI)中孵育15分钟。将细胞提取物转入新鲜试管并且使用荧光素酶测定系统(Promega)测定。就每次测定而言,用90 μ l的1X细胞培养溶胞试剂稀释10 μ l提取物。使用AutoLumat LB953发光计读取发光。

[0254] 通过本文所述结合测定法鉴定的化合物或其盐为抑制雌二醇在雌二醇受体的配体结合位点上的结合的化合物。具体地说,其为预计导致细胞增殖停滞且由此发挥其药理学活性的化合物或其盐。

[0255] CV-1细胞用两种质粒构建体(报告基因构建体ERE-tk-荧光素酶和CMV-ER- β 构建体)转染。转染对照(对照)CV-1细胞不接受治疗,而雌二醇治疗的细胞接受以 10^{-9} M(1nM)单独加入的雌二醇(E2)。就本发明的化合物而言,各化合物分别单独以 10^{-8} M(10nM)或以 10^{-8} M+ 10^{-9} M雌二醇(E2)加入。

[0256] 实施例8

[0257] 测定候选化合物的IC₅₀值的方法。

[0258] 将所列的细胞系维持在约5%CO₂、37°C、95%相对湿度的适合于该细胞系的培养基中。每2-3天传代培养细胞,并且以 1×10^4 个细胞/孔的密度铺板于澄清底的96-孔培养板中,且在约5%CO₂、37°C下孵育过夜,然后开始测定。为了开始进行细胞存活测定,用新鲜培养基(100 μ L)替代细胞培养板中的培养基(100 μ L)。在新鲜培养基中一式两份连续地按照1:2稀释测试品并且以在200 μ L总体积中0.46、1.37、4.12、12.35、37.04、111.1、333.3和1000 μ M的样品终浓度($\leq 1\%$ DMSO)加到细胞(100 μ L)中。将不含细胞的孔和含有用0.1% Triton-X溶胞的细胞的孔用于基线对照。他莫昔芬用作每次测定的已知对照,并且DMSO仅作为媒介物对照运用。将样品在约37°C下的加湿5%CO₂环境中孵育72小时。在孵育期间每天监测培养板一次,特别要注意汇合水平。如果在72小时孵育期结束前细胞接近汇合,那么就终止实验并且如下所述测定细胞存活。

[0259] 使用用于测定ATP水平的商购试剂盒根据发光测定细胞存活。简言之,细胞培养板已经除去了培养基并且用100 μ L新鲜培养基替代,并且使缓冲液和冻干底物平衡至室温。缓冲液在临加到细胞培养板的各孔中(100 μ L/孔)之前用于重构底物。将培养板放入Infinite M200培养板读数器,将其振摇10分钟,随后是10分钟的等待期。然后使用0.5秒的积分时间读取培养板,无衰减现象。

[0260] 从总发光中扣除平均基线对照(具有Triton X-100或无细胞的孔)而得到该孔的净发光。仅将该总数与DMSO的对照比较。将IC₅₀计算为与媒介物对照细胞相比产生50%响应的浓度。因此,本领域技术人员可以理解本发明要求保护的组合物的R构型(在C-6上)优于其它立体异构体。

[0261] 表IV给出本发明的化合物对多种细胞系的IC₅₀。

[0262] 表IV

化合物	IC50	IC50	IC50
	肺 (A549)	卵巢 (Ovcar-3)	胰腺 (Capan-1)
18	139 μ M (91%)	207 μ M (89%)	192 μ M (85%)
4	70 μ M (97%)	100 μ M (95%)	32 μ M (93%)
3	84 μ M (95%)	94 μ M (90%)	168 μ M (80%)
19	80 μ M (98%)	96 μ M (98%)	32 μ M (90%)
20	34 μ M (99%)	60 μ M (99%)	16 μ M (99%)
21	17 μ M (100%)	24 μ M (100%)	23 μ M (100%)
22	13 μ M (100%)	20 μ M (100%)	22 μ M (100%)
10	170 μ M (87%)	317 μ M (52%)	277 μ M (66%)
8	184 μ M (80%)	221 μ M (70%)	212 μ M (75%)
23	1000 μ M (7%)	1000 μ M (35%)	775 μ M (65%)
9	1000 μ M (18%)	1000 μ M (25%)	1000 μ M (4%)
30	5 μ M (100%)	29 μ M (100%)	10 μ M (100%)
31	7 μ M (100%)	28 μ M (100%)	15 μ M (100%)

[0263]