



SOLICITUD
PATENTE L
INVENCION

TRAMITE 02 EVENTO 01 ACTUACION 411

SUPERINDUSTRIA Y CIENCIA

Radicación : 0390980 03303339

Folios: 80

Fecha (RDD): 2000-11-28 16:55:41

Tramite : 002 PATENTES D 1 REGISTRO/ 411 PRESENTAC

Dependencia: 2020 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

DATOS DEL SOLICITANTE

(71) Nombres y Apellidos o Razón Social **AKZO NOBEL N.V.**

No. de Identificación

Representante Legal (Persona Jurídica)

País de Domicilio

Holanda

Departamento o Estado

Dirección

Velperweg 76

Ciudad

6824 BM Arnhem

Teléfono

(74) DATOS DEL APODERADO

Nombre

EMILIO FERRERO

Dirección y Domicilio

Carrera 4 No. 72-35

Ciudad

Bogotá, Colombia.

Teléfono: 3-47-36-11

DATOS DEL INVENTOR

(72) Nombre del Inventor (es)

1- Ralf PLATE

2- Wilhelmina Maria BAGCHUS

Identificación

Dirección

1- Kortenhorststraat 1,5344 KD Oss, Holanda.

2- Van Lawick Van Pabststraat 155, 6814 HE Arnhem, Holanda.

Ciudad

Teléfono

DATOS DE LA PATENTE DE INVENCION

(54) Título de la Invención

DERIVADOS DE 8-METILENO ESTEROIDES

PRIORIDAD REIVINDICADA

SI ☒

NO ☐

TIPO DE PRIORIDAD

ANDINA ☐

UNIONISTA ☒

(33) País

(32) Fecha

(31) No. Solicitud

EP.

29 de Noviembre de 1999

99204000.6

Convención de París

Para Publicar a los

☐ 6 meses

☐ 12 meses

☒ 18 meses a partir de la fecha de la presente solicitud

Colo: 11214--801-021-1 JJC/mrm-ID.107

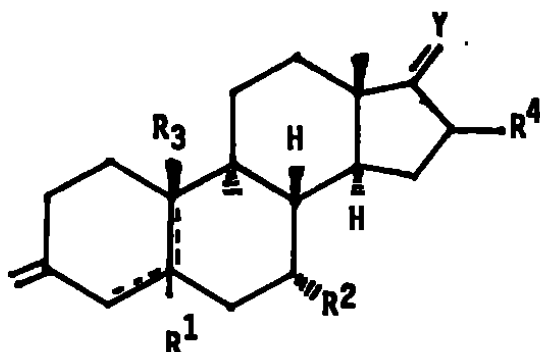
(51) CLASIFICACION INTERNACIONAL

A61K 31/56

28 NOV. 2000

RESUMEN CON EL OBJETO Y LA FINALIDAD DE LA INVENCION

La presente invención se refiere a un derivado de 3-metileno esteroide que tiene la fórmula general (I):



donde R¹ es H o junto con R³ forma un β-epóxido, o bien R¹ está ausente si hay un doble enlace 5-10 ó 4-5; R² es (C₁-C₆)-alquilo ó CF₃; R³ es βH, βCH₃ o junto con R¹ forma un β-epóxido, o bien R³ está ausente si hay un doble enlace 5-10; R⁴ es H, alquilo inferior; Y es [H,H] [OH, H], =O, [OH, alquilo inferior], [OH, (C₂-C₆)-alqueno], [OH, (C₂-C₆)-alquino] ó (C₁-C₆)-alquilideno, donde dicho alquilo, alqueno, alquino y alquilideno está opcionalmente halogenado; =NOR⁵, donde R⁵ es H, alquilo inferior, las líneas de puntos representan un doble enlace opcional, o profármaco del mismo, para el tratamiento de enfermedades artríticas y/o enfermedades autoinmunes.

ANEXOS DE LA SOLICITUD

- | | |
|--|-------------------------------------|
| Certificado de Existencia y Representación Legal cuando el solicitante sea Persona Jurídica | ☒ |
| Los poderes debidamente otorgados, o mención de su protocolización ante la SIC | ☒ |
| Recibo de la tasa respectiva <i>por v/r de \$608.000.-</i> | ☒ |
| Recibo de la tasa por concepto de excedente de palabras en la publicación | ☐ |
| Si se reivindica prioridad Andina: | |
| Copla de la primera solicitud | ☐ |
| Traducción oficial | ☐ |
| Si se reivindica prioridad Unionista: | |
| Copia certificada de la primera solicitud: <i>Europea No. 9920 4000 . 6</i> | ☒ |
| Nota: Debe presentarse dentro de los tres (3) meses, contados a partir de la fecha de radicación de la solicitud posterior | |
| Traducción simple | ☒ |
| Capítulo descriptivo | ☒ |
| Dibujos, planos necesarios | ☐ |
| Capítulo reivindicatorio | ☒ |
| Tarjeta archivo propietarios según formato | ☒ |
| Tarjeta archivo temático según formato | ☒ |
| Extracto para publicación según formato | ☒ |
| Arte final 12 x 12 cms Y 6x6 cms | ☒ |
| Otros Documentos | ☐ |

SOLICITO LA CONCESION DE LA PATENTE DE INVENCION Y DECLARO QUE LA INVENCION ES NUEVA Y DE MI PROPIEDAD

FIRMA

Emilio Ferrero

NOMBRE

EMILIO FERRERO

CC.

438.019 de Usaquén

T.P.No.

81.929

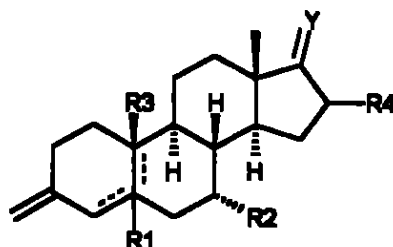
DERIVADOS DE 3-METILENO ESTEROIDES

MEMORIA DESCRIPTIVA

La invención se refiere a nuevos derivados de 3-metileno esteroides con efectos terapéuticos, y a la preparación de preparados farmacéuticos que comprenden un 3-alkilideno esteroide.

Los esteroides con sustituyentes metileno en la posición 3 del esqueleto del esteroide y dobles enlaces 1-2 ó 4-5 son conocidos y reivindicados como útiles para el uso terapéutico (patentes belgas BE 696.235 y BE 654.772, respectivamente). La supuesta indicación médica se debe a acciones anabólicas, estrogénicas y progestogénicas. Ninguno de estos compuestos ha cumplido con las expectativas para tal uso, y no había ninguna expectativa para su utilidad como medicamentos en otras áreas, a pesar de que muchas enfermedades todavía son tratadas en forma poco satisfactoria con los fármacos actualmente disponibles. Notablemente, las enfermedades del sistema inmune, tales como artritis reumatoidea y enfermedades autoinmunes, necesitan de mejores fármacos. Los agentes corticosteroides son de alguna utilidad en el tratamiento de estas enfermedades, pero se necesitan mejoras, tanto con respecto a la eficacia como al número o severidad de los efectos secundarios.

Esta invención proporciona derivados de 3-metileno esteroides y profármacos de los mismos, cuyos derivados de esteroides tienen la fórmula general 1



Fórmula 1

donde

R^1 es H o junto con R^3 forma un β -epóxido, o bien R^1 está ausente si hay un doble enlace 5-10 ó 4-5;

R^2 es (C_1-C_5) alquilo ó CF_3 ;

R^3 es βH , βCH_3 o junto con R^1 forma un β -epóxido, o bien R^3 está ausente si hay un doble enlace 5-10;

R^4 es H, alquilo inferior;

Y es [H, H] [OH, H], =O, [OH, alquilo inferior], [OH, (C_2-C_5) -alquenilo], [OH, (C_2-C_5) alquinilo] ó (C_1-C_6) alquilideno, donde dicho alquilo, alquenilo, alquinilo y alquilideno está opcionalmente halogenado; ó =NOR⁵, donde R⁵ es H, alquilo inferior.

Las líneas de puntos representan un doble enlace opcional.

Los compuestos preferidos de acuerdo con la invención son aquéllos en que R^4 es H e Y es [OH, H], =O, [OH, alquilo inferior], [OH, (C_2-C_5) alquenilo], [OH, (C_2-C_5) alquinilo] ó (C_1-C_6) alquilideno, donde dicho alquilo, alquenilo, alquinilo y alquilideno podría estar opcionalmente halogenado.

En esta descripción, los términos tienen el siguiente significado:

Un alquilo inferior es un grupo alquilo ramificado o no ramificado que de preferencia tiene 1-6 átomos de carbono, como hexilo, isobutilo, butilo terciario, propilo, isopropilo, etilo y metilo. Son más preferidos los grupos alquilo que tienen 1-3 átomos de carbono.

(C₁-C₅)alquilo es un grupo alquilo ramificado o no ramificado que tiene 1-5 átomos de carbono, por ejemplo metilo, etilo, isopropilo, butilo, sec-butilo, ter-butilo, etc. Son preferidos los grupos alquilo que tienen 1-3 átomos de carbono.

(C₂-C₅)alquenilo es un grupo alquenilo ramificado o no ramificado que tiene 2 a 5 átomos de carbono, tal como etenilo, 2-butenilo, etc. Son preferidos los grupos alquenilo que tienen 2-3 átomos de carbono.

(C₂-C₅)alquinilo es un grupo alquinilo ramificado o no ramificado que tiene 2-5 átomos de carbono, tal como etinilo, propinilo, etc. Son preferidos los grupos alquinilo que tienen 2-3 átomos de carbono.

(C₁-C₅)alquilideno es un grupo alquilideno ramificado o no ramificado que tiene 1-5 átomos de carbono, tal como metenilo, butilideno, etc. Son preferidos los grupos alquilideno que tienen 2-3 átomos de carbono.

Halógeno es flúor, cloro, bromo y yodo.

Profármacos son compuestos que están destinados a formar un compuesto de la invención en el cuerpo de un receptor del tratamiento. En general, estos profármacos pueden ser ésteres o éteres de la función 17-hidroxilo.

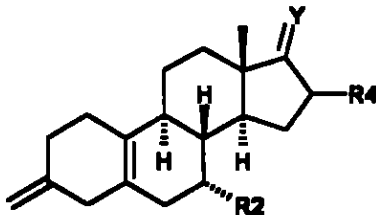
Una modalidad preferida de esta invención es un compuesto como el descrito más arriba, que tiene un doble enlace

5-10. El más preferido es el compuesto (7 α ,17 α)-7-metil-3-metilen-19-norpregn-5(10)-en-20-in-17-ol.

Están excluidos de la invención los compuestos (7 α ,17 β)-7 α -metil-3-metilen-4-estren-17-ol, (7 α ,17 α)-7-metil-3-metilen-19-norpregn-4-en-17-ol, (7 α ,17 α)-7-metil-3-metilen-19,21-dinorpregn-4-en-17-ol, (7 α)-17-ceto-7-metil-3-metilen-4-estreno, (7 α ,17 α)-7-metil-3-metilen-19-norpregn-4-en-20-in-17-ol, 17 β -hidroxi-7 α -metil-3-metilen-17 α -propen-2-11-4-estreno, y 17 β -hidroxi-7 α -metil-3-metilen-17 α -buten-2-11-4-estreno.

Esta renuncia se relaciona con las enseñanzas de la patente belga BE 696.235.

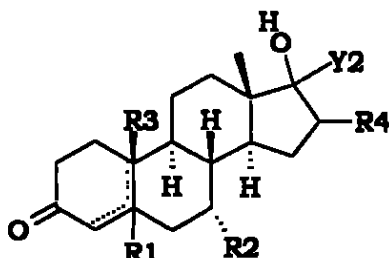
Los compuestos epóxidos (R1 y R3 juntos forman β -O-) de esta invención pueden prepararse por oxidación de un compuesto que tiene la fórmula 2, donde los símbolos tienen los significados definidos más arriba, con ácido meta-cloroperoxibenzoico.



Fórmula 2

El grupo 3-metileno en un compuesto de la invención puede obtenerse efectuando una reacción de Wittig usando bromuro de metiltrifenilfosfonio y t-butóxido de potasio con los 3-cet esteroides precursores correspondientes, caracterizados por la fórmula 3, donde Y² es como Y, definido anteriormente, excepto

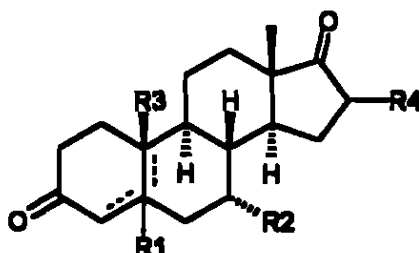
que no es =O, y los otros símbolos tienen los significados definidos anteriormente.



Fórmula 3

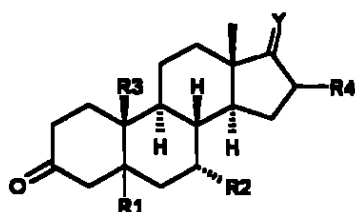
Los compuestos 17-alkilidenos de la invención pueden prepararse por una reacción de Wittig de un 3-cetal derivado del 17-ceto derivado de acuerdo con la fórmula 4, donde los símbolos tienen los significados definidos anteriormente, con un bromuro de alquiltrifenilfosfonio, seguido por la hidrólisis de la función 3-cetal. Los compuestos que tienen Y= H,H en la posición 17 (fórmula 2) de la invención pueden prepararse por reducción de Wolff-Kishner de la porción 17-ceto del 3-cetal compuesto de fórmula 4, donde los símbolos tienen los significados definidos anteriormente. Los 17-oxima derivados de de la invención pueden prepararse por condensación de la función 17-ceto (fórmula 4) con derivados de hidroxilaminas. El 16-alkil compuesto de la invención puede prepararse por alquilación de la posición 16 del 17-ceto compuesto (Y=O, fórmula 4).

Fórmula 4

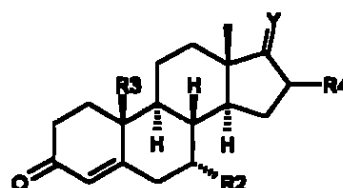


Los reactivos indicados más arriba para la transformación de los compuestos de partida y sus formas de reaccionar con los compuestos son conocidos en el arte, pero no han sido aplicados todavía al grupo de compuestos que deben prepararse para obtener los compuestos de la invención. Los materiales de partida pueden obtenerse por métodos descritos en la literatura. Una referencia específicamente relevante es Van Vliet y colaboradores, Recl.Trav.Chim.Pays-Bas; EN; 105; 4; 1986; 111-115, cuyo texto se incorpora en esta descripción a modo de referencia. Notablemente, se describe allí que los 17-alquil-3-ceto-derivados de acuerdo con la fórmula 3, donde Y^2 es [OH, alquilo inferior] y los otros símbolos tienen los significados definidos anteriormente, pueden obtenerse por hidrogenación catalítica, por ejemplo con PtO_2/H_2 , de un compuesto de acuerdo con la fórmula 3, donde Y^2 es [OH, alquenilo] u [OH, alquinilo], y los otros símbolos tienen los significados definidos anteriormente.

Derivados de acuerdo con la fórmula 5 pueden obtenerse por purificación a partir de una mezcla de compuestos formados después de la reducción de Birch del 4-en-3-ona derivado de acuerdo con la fórmula 6, donde tanto en la fórmula 5 como en la fórmula 6, los símbolos tienen los significados definidos anteriormente.

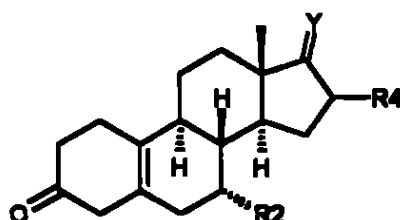


Fórmula 5



Fórmula 6

Un 4-en-3-ona derivado de acuerdo con la fórmula 6, donde R^3 es H y los otros símbolos tienen los significados definidos anteriormente, puede obtenerse a partir de un compuesto de acuerdo con la fórmula 7 por isomerización del doble enlace (de acuerdo con los métodos descritos en van Vliet y colaboradores, 1986).



Fórmula 7

Un 4-en-3-ona derivado de acuerdo con la fórmula 6, donde R^3 es metilo y los otros símbolos tienen los significados definidos anteriormente, puede obtenerse de acuerdo con los métodos descritos en Grunwell y colaboradores, Steroids Vol. 27, páginas 759-771, 1976, cuya publicación se incorpora aquí por referencia.

Otros métodos para obtener compuestos de acuerdo con la fórmula 7 como materiales de partida, pueden usarse como se describe en van Vliet y colaboradores, 1986.

El uso de los compuestos definidos por la fórmula 1 es para la inmunomodulación en los mamíferos. Un compuesto de esta invención puede usarse, en particular, en el tratamiento de enfermedades artríticas tal como artritis reumatoidea (RA) y enfermedades autoinmunes (AIDs) tales como síndrome de Sjögren y lupus eritematoso sistémico (SLE). También puede usarse profilácticamente para estas enfermedades. Además, un compuesto de acuerdo con esta invención puede usarse para la preparación de medicamentos que comprenden un compuesto de esta invención como un constituyente activo.

La presente invención también se refiere a una composición farmacéutica que comprende el compuesto esteroide de acuerdo con la invención, mezclado con uno o más auxiliares farmacéuticamente aceptables, como se describe en la referencia estándar Gennaro y colaboradores, "Remington's Pharmaceutical Sciences", (18a. Ed., Mack Publishing Company, 1990, véase especialmente Parte 8: Pharmaceutical Preparations and Their Manufacture). Una mezcla de uno o más de los compuestos esteroides de acuerdo con la invención y uno o más auxiliares farmacéuticamente aceptables, puede ser comprimida a unidades de dosificación sólidas, tales como píldoras o tabletas, o puede ser procesada para formar cápsulas o supositorios. Por medio de líquidos farmacéuticamente adecuados, los compuestos también pueden ser aplicados como un preparado inyectable en la forma de una solución, suspensión, emulsión, o como un rocío, por ejemplo

un rocío nasal. Para fabricar unidades de dosificación, por ejemplo tabletas, se contempla el uso de aditivos convencionales tales como rellenos, colorantes, aglutinantes poliméricos y similares. En general, puede usarse cualquier aditivo farmacéuticamente aceptable que no interfiera con la función de los compuestos activos. Los compuestos esteroides de la invención también pueden ser incluidos en un implante, un parche, un gel, y cualquier otro preparado para liberación sostenida.

Vehículos adecuados con los cuales pueden administrarse las composiciones incluyen lactosa, almidón, derivados de celulosa y similares, o mezclas de los mismos, usados en cantidades adecuadas.

En otro aspecto, la invención se refiere al uso del compuesto esteroide de acuerdo con la invención para la fabricación de un medicamento para la modulación del sistema inmune de un mamífero. Más específicamente, la invención se refiere al uso del compuesto esteroide de acuerdo con la invención para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de enfermedades artríticas tal como artritis reumatoidea (RA) y enfermedades autoinmunes (AIDs) tales como síndrome de Sjögren y lupus eritematoso sistémico (SLE). Estos medicamentos también pueden ser preparados para el uso profiláctico para estas enfermedades. El medicamento de preferencia se hace adecuado, en particular para el tratamiento de seres humanos, cumpliendo con los reglamentos de las autoridades sanitarias en diversos países. El uso de los derivados de 3-metileno esteroides ($7\alpha,17\beta$)- 7α -metil-3-metilen-

4-estren-17-ol, (7 α ,17 α)-7-metil-3-metilen-19-norpregn-4-en-17-ol, (7 α ,17 α)-7-metil-3-metilen-19,21-dinorpregn-4-en-17-ol, (7 α)-17-ceto-7-metil-3-metilen-4-estreno, (7 α ,17 α)-7-metil-3-metilen-19-norpregn-4-en-20-in-17-ol, 17 β -hidroxi-7 α -metil-3-metilen-17 α -propen-2-il-4-estreno, y 17 β -hidroxi-7 α -metil-3-metilen-17 α -buten-2-il-4-estreno, está dentro del ámbito de la presente invención.

Además, la invención se refiere al tratamiento de enfermedades artríticas tal como artritis reumatoidea (RA) y enfermedades autoinmunes (AIDs) tales como síndrome de Sjögren y lupus eritematoso sistémico (SLE), que comprende la administración a un paciente de un compuesto como el descrito anteriormente (en una forma de dosificación farmacéutica adecuada).

Las cantidades de dosificación de los presentes esteroides estarán en el rango de 0,001 a 100 mg por administración a un sujeto que necesita el tratamiento. En consecuencia, las unidades de dosificación para el uso práctico de un compuesto de esta invención pueden contener una cantidad de ingrediente activo en el rango de 0,001 a 100 mg.

Las propiedades inmuno-moduladoras de un compuesto de esta invención pueden ser demostradas y usadas en los siguientes procedimientos.

En el procedimiento de hipersensibilidad de tipo retardada (DTH), el efecto de un compuesto en el desarrollo de una reacción inmune puede ser observado en ratones (los detalles se dan en el Ejemplo 16). En breve, el compuesto es administrado diariamente y los animales son inmunizados posteriormente con un

antígeno en un adyuvante. Después de 7 días, los animales son desafiados localmente inyectando el antígeno localmente (principalmente en la pata) y midiendo la hinchazón local que se desarrolla posteriormente en respuesta al depósito del antígeno. El grado de esta hinchazón está relacionado con el desarrollo de una respuesta inmune contra el antígeno que la produce. La acción inhibidora de un compuesto de esta invención sobre el desarrollo de esta hinchazón puede determinarse comparando el grupo con tratamiento con un grupo tratado con placebo. Como tratamiento de referencia, puede usarse la administración de glucocorticoides.

El efecto de un compuesto de esta invención también fue ensayado en ratones artríticos.

En este procedimiento, los ratones son inmunizados con colágeno tipo II, principalmente de cartílago de bovino, en un adyuvante. Después de tres semanas, se da una inyección de refuerzo con el mismo antígeno. Aproximadamente 7-10 días después del refuerzo, puede observarse la reacción de edema en las articulaciones (especialmente en las patas delanteras y traseras). Esta hinchazón aumenta rápidamente, lo que lleva a enrojecimiento, inflamación y distorsión de la función normal. En un análisis por rayos X, puede observarse una desorganización de la arquitectura normal de la articulación. En un examen histológico de estas articulaciones, puede observarse una inflamación severa que conduce a una desorganización de la arquitectura normal del cartílago. El grado de las alteraciones observables puede ser calificado con un puntaje; además, el

grado de las alteraciones histológicas también puede ser calificado con un puntaje.

Además, el efecto de un compuesto de esta invención puede observarse en ratones diabéticos no obesos (NOD).

En este procedimiento, los ratones espontánea y gradualmente desarrollan enfermedades autoinmunes con síntomas que se asemejan a los de la diabetes mellitus insulino dependiente (IDDM) humana y el síndrome de Sjögren.

El síndrome de Sjögren se caracteriza por el desarrollo de infiltraciones en las glándulas salivales y lacrimales. En ratones NOD, especialmente la glándula salival se caracteriza por el desarrollo gradual de infiltraciones. Un compuesto de esta invención inhibe, en forma dependiente de la dosis, el desarrollo de estas infiltraciones en las glándulas submandibulares.

La IDDM se caracteriza por el desarrollo de infiltraciones en el páncreas, lo que lleva a la destrucción de los islotes de Langerhans que producen insulina. Después de la destrucción gradual de todos estos islotes, ya no hay producción de insulina presente, lo que da como resultado el desarrollo de la IDDM.

Los siguientes ejemplos ilustran la invención.

Ejemplo 1

Preparación de (7 α ,17 α)-7-metil-3-metilen-19-norpregn-5(10)-en-20-in-17-ol

Bromuro de metiltrifenilfosfonio (26,4 g, 73,9 mmoles) fue agregado a una solución agitada de t-butoxido de potasio (7,9 g, 70,4 mmoles) en 130 mL de THF seco, bajo una atmósfera de nitrógeno. La suspensión amarilla fue agitada por 45 minutos a temperatura ambiente. Una solución de 20 g, 64 mmoles de tibolona en 200 mL de THF seco fue agregada rápidamente (en aproximadamente 30 segundos) a la suspensión, resultando una reacción ligeramente exotérmica (de 20°C a 33°C). La mezcla de reacción amarilla fue agitada por 30 minutos a temperatura ambiente, vertida en agua helada (700 mL) y extraída con acetato de etilo (700 mL). La capa orgánica fue lavada con agua (300 mL), secada (Na₂SO₄) y evaporada a sequedad, para dar 41,8 g de un aceite amarillo. La cromatografía en columna, usando tolueno/acetato de etilo 95/5 (v/v %) como eluyente, dio 19,5 g de un aceite incoloro que contenía aproximadamente 90% de (7 α ,17 α)-7-metil-3-metilen-19-norpregn-5(10)-en-20-in-17-ol y 10% del Δ^4 derivado isomérico. La recristalización (3 veces) usando heptano/éter de petróleo como solvente dio el compuesto del título (6,44 g, rendimiento 32%) como un sólido blanco, p.f. 91,6°C.

Ejemplo 2

Preparación de (7 α ,17 β)-7-metil-3-metilenestr-5(10)-en-17-ol

Bromuro de metiltrifenilfosfonio (4,21 g, 11,8 mmoles) fue agregado a una solución agitada de t-butoxido de potasio (1,26 g, 11,2 mmoles) en 20 mL de THF seco, bajo una atmósfera de nitrógeno. La suspensión amarilla fue agitada por 45 minutos a temperatura ambiente. Una solución de (7 α ,17 β)-7-metil-3-ceto-

estr-5(10)-en-17-ol (3,4 g, 11,8 mmoles) en 25 mL de THF seco, fue agregada rápidamente a la suspensión. La mezcla de reacción amarilla fue agitada por 30 minutos a temperatura ambiente, vertida en agua helada y extraída con acetato de etilo. La capa orgánica fue lavada con agua, secada (Na_2SO_4) y evaporada a sequedad, para dar 5,3 g del compuesto del título como un aceite amarillo. La cromatografía en columna, usando tolueno/acetato de etilo 95/5 (v/v %) como eluyente, dio 2,3 g de un aceite incoloro. La cristalización usando heptano/éter de petróleo dio (7 α ,17 β)-7-metil-3-metilenestr-5(10)-en-17-ol (1,47 g, 44%) como un sólido blanco, p.f. 111,8°C.

Ejemplo 3

Preparación de (5 β ,7 α ,17 α)-5,10-epoxi-7-metil-3-metilen-19-norpregn-20-in-17-ol

El compuesto (7 α ,17 α)-7-metil-3-metilen-19-norpregn-5(10)-en-20-in-17-ol (390 mg, 1,26 mmol), obtenido de acuerdo con el Ejemplo 1, fue agitado en 15 mL de diclorometano seco bajo una atmósfera de nitrógeno. La solución fue enfriada hasta 0°C y se le agregó ácido meta-cloroperoxibenzoico (mcpba, 1,26 mmol, 310 mg, 70%). La mezcla de reacción fue agitada por 2 horas a 0°C, lavada con una solución saturada de tiosulfato de sodio, una solución saturada de bicarbonato de sodio y una solución saturada de cloruro de sodio, secada (Na_2SO_4) y evaporada a sequedad, para dar 450 mg de (5 β ,7 α ,17 α)-5,10-epoxi-7-metil-3-metilen-19-norpregn-20-in-17-ol crudo. La cromatografía en columna, usando heptano/acetato de etilo 95/5 (v/v %) como eluyente, dio 2,3 g de un aceite incoloro.

como eluyente, dio el compuesto del título purificado (150 mg, 37%) como una espuma.

Ejemplo 4

Preparación de (5 β ,7 α ,17 β)-5,10-epoxi-7-metil-3-metilenestran-17-ol

El compuesto (7 α ,17 β)-7-metil-3-metilenestr-5(10)-en-17-ol (350 mg, 1,22 mmol), obtenido de acuerdo con el Ejemplo 2, fue agitado en 15 mL de diclorometano seco bajo una atmósfera de nitrógeno. La solución fue enfriada hasta 0°C y enseguida se le agregó ácido meta-cloroperoxibenzoico (mcpba, 1,22 mmol, 301 mg, 70%). La mezcla de reacción fue agitada por 75 minutos a 0°C, lavada con una solución saturada de tiosulfato de sodio, una solución saturada de bicarbonato de sodio y una solución saturada de cloruro de sodio, secada (Na₂SO₄) y evaporada a sequedad, para dar 370 mg de (5 β ,7 α ,17 β)-5,10-epoxi-7-metil-3-metilenestran-17-ol crudo. La cromatografía en columna, usando heptano/acetato de etilo 95/5 (v/v %) como eluyente, dio el compuesto del título más purificado (230 mg, 63%). La cristalización, usando heptano/acetato de etilo 95/5 (v/v %), dio el compuesto del título purificado (120 mg, 33%) como un sólido blanco, p.f. 125°C.

Ejemplo 5

Preparación de (5 α ,7 α ,17 α)-7-metil-3-metilen-19-norpregn-20-en-17-ol

Bromuro de metiltrifenilfosfonio (688 mg, 1,93 mmol) fue agregado a una solución agitada de t-butóxido de potasi

(196 mg, 1,75 mmol) en 2 mL de THF seco, bajo una atmósfera de nitrógeno. La suspensión amarilla fue agitada por 45 minutos a temperatura ambiente. Una solución de (5 α ,7 α ,17 α)-7-metil-3-ceto-19-norpregn-20-en-17-ol (220 mg, 0,7 mmol) en 3 mL de THF seco, fue agregada rápidamente a la suspensión. La mezcla de reacción amarilla fue agitada por 2,5 horas a temperatura ambiente, vertida en agua helada y extraída con acetato de etilo. La capa orgánica fue lavada con agua, secada (Na₂SO₄) y evaporada a sequedad, para dar 500 mg de un aceite. La cromatografía en columna, usando tolueno/acetato de etilo 95/5 (v/v %) como eluyente, dio 200 mg de (5 α ,7 α ,17 α)-7-metil-3-metilen-19-norpregn-20-en-17-ol crudo. La cristalización en heptano dio el compuesto del título purificado (120 mg, 55%) como un sólido blanco, p.f. 105°C.

Ejemplo 6

Preparación de (5 α ,7 α ,17 α)-7-metil-3-metilen-19-norpregn-20-in-17-ol

Bromuro de metiltrifenilfosfonio (1,85 g, 5,18 mmoles) fue agregado a una solución agitada de t-butóxido de potasio (527 mg, 4,7 mmoles) en 4 mL de THF seco, bajo una atmósfera de nitrógeno. La suspensión amarilla fue agitada por 45 minutos a temperatura ambiente. Una solución de (5 α ,7 α ,17 α)-7-metil-3-ceto-19-norpregn-20-in-17-ol (590 mg, 1,88 mmol) en 8 mL de THF seco, fue agregada rápidamente a la suspensión. La mezcla de reacción amarilla fue agitada por 2,5 horas a temperatura ambiente, vertida en agua helada y extraída con acetato de etilo. La capa orgánica fue lavada con agua, secada (Na₂SO₄) y

evaporada a sequedad, para dar 1,8 g de un aceite. La cromatografía en columna, usando tolueno/acetato de etilo 95/5 (v/v %) como eluyente, dio 590 mg de (5 α ,7 α ,17 α)-7-metil-3-metilen-19-norpregn-20-in-17-ol crudo. La cristalización en heptano dio el compuesto del título purificado (290 mg, 50%) como un sólido blanco, p.f. 97°C.

Ejemplo 7

Preparación de (5 β ,7 α ,17 α)-7-metil-3-metilen-19-norpregnan-17-ol

Bromuro de metiltrifenilfosfonio (5,4 g, 15,1 mmoles) fue agregado a una solución agitada de t-butóxido de potasio (1,62 g, 14,4 mmoles) en 27 mL de THF seco, bajo una atmósfera de nitrógeno. La suspensión amarilla fue agitada por 40 minutos a temperatura ambiente. Una solución de (5 β ,7 α ,17 α)-7-metil-3-ceto-19-norpregnan-17-ol (4,56 g, 14,4 mmoles) en 50 mL de THF seco, fue agregada rápidamente a la suspensión. La mezcla de reacción amarilla fue agitada por 30 minutos a temperatura ambiente, vertida en agua helada y extraída con acetato de etilo. La capa orgánica fue lavada con agua y solución salina, secada (Na₂SO₄) y evaporada a sequedad, para dar 8,2 g de un aceite. La cromatografía en columna, usando tolueno/acetato de etilo 95/5 (v/v %) como eluyente, dio (5 β ,7 α ,17 α)-7-metil-3-metilen-19-norpregnan-17-ol (3,65 g, 81%) que solidificó al dejarlo reposar, p.f. 104°C.

Ejemplo 8

Preparación de (7 α)-7-metil-3,17-dimetilenestr-5(10)eno

Bromuro de metiltrifenilfosfonio (2,2 g, 6 mmoles) fue agregado a una solución agitada de t-butoxido de potasio (680 mg, 6 mmoles) en 25 mL de THF seco, bajo una atmósfera de nitrógeno. La suspensión amarilla fue agitada por 30 minutos a temperatura ambiente. Una solución de (7 α)-7-metil-3-ceto-17-metilenestr-5(10)eno (850 mg, 3 mmoles) en 25 mL de THF seco, fue agregada rápidamente (en aproximadamente 30 segundos) a la suspensión, resultando una reacción ligeramente exotérmica. La mezcla de reacción fue agitada por 30 minutos a temperatura ambiente, vertida en agua helada (100 mL) y extraída con acetato de etilo (100 mL). La capa orgánica fue lavada con agua (50 mL), secada (Na₂SO₄) y evaporada a sequedad, para dar (7 α)-7-metil-3,17-dimetilenestr-5(10)eno (680 mg, 80%) como un aceite incoloro. $[\alpha]_D^{+115}$ (c 0,185 en etanol).

Ejemplo 9

Preparación de (7 α ,16 α ,17 β)-7,16-dimetil-3-metilen-17-(1-propinil)estr-5(10)-en-17-ol

Una solución de (7 α)-3,3-dimetoxi-7-metilestr-5(10)-en-17-ona (1,5 g, 4,5 mmoles) y 1,3-dimetil-3,4,5,6-tetrahidro-2(1H)-pirimidinona (DMPU, 1,2 mL, 9,9 mmoles) en 30 mL de THF destilado, fue agregada en aproximadamente 8 minutos a una solución agitada de bis(trimetilsilil)amida de litio (LiHMDS, 4,96 mL, 1M en THF) en 15 mL de THF destilado a -40°C baj una atmósfera de nitrógeno. La mezcla de reacción fue agitada por 45 minutos a -40°C. Se agregó una solución de yodometano (730 μ L, 11,7 mmoles) en 1 mL de THF destilado, y se agitó por 1 hora, y la temperatura se dejó subir hasta 0°C. Se agregó agua y

solución saturada de cloruro de amonio y se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica fue lavada con solución salina, secada (Na_2SO_4) y evaporada a sequedad. La cromatografía en columna, usando heptano/acetato de etilo 95/5 (v/v %) como eluyente, dio $(7\alpha,16\alpha)$ -3,3-dimetoxi-7,16-dimetilestr-5(10)-en-17-ona (990 mg, rendimiento 65%).

Se hizo burbujear propino (aproximadamente 4 g, 100 mmoles) a través de una solución de n-BuLi (9 mL, 1,6M en hexane) en 19 mL de THF seco a -70°C , para dar una reacción exotérmica (desde -70°C hasta -30°C). Una solución de $(7\alpha,16\alpha)$ -3,3-dimetoxi-7,16-dimetilestr-5(10)-en-17-ona (990 mg, 2,86 mmoles) en 10 mL de THF seco, fue agregada en aproximadamente 5 minutos a la suspensión blanca bajo una atmósfera de nitrógeno. La mezcla de reacción fue agitada por 45 minutos y la temperatura se dejó subir lentamente hasta la temperatura ambiente. Se agregó agua y solución saturada de cloruro de amonio, y se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica fue lavada con solución salina, secada (Na_2SO_4) y evaporada a sequedad, para dar $(7\alpha,16\alpha,17\beta)$ -3,3-dimetoxi-7,16-dimetil-17-(1-propinil)estr-5(10)-en-17-ol. Una solución de ácido oxálico (72 mg, 0,57 mmol) en 6 mL de agua fue agregada a la solución de $(7\alpha,16\alpha,17\beta)$ -3,3-dimetoxi-7,16-dimetil-17-(1-propinil)estr-5(10)-en-17-ol (2,86 mmoles) en 25 mL de etanol, y la mezcla de reacción fue agitada por 45 minutos a temperatura ambiente. Se le agregó una solución saturada de bicarbonato de sodio y se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica fue lavada con solución salina, secada (Na_2SO_4) y evaporada a sequedad. La cromatografía en columna, usando heptano/acetato de etil 9/1

(v/v %) como eluyente, dio (7 α ,16 α ,17 β)-7,16-dimetil-17-hidroxi-17-(1-propinil)estr-5(10)-en-3-ona (940 mg, rendimiento 97%).

Bromuro de metiltrifenilfosfonio (1,7 g, 4,7 mmoles) fue agregado a una suspensión de ter-butóxido de potasio (470 mg, 4,2 mmoles) en 31 mL de tolueno seco bajo una atmósfera de nitrógeno. La mezcla de reacción fue agitada por 45 minutos a temperatura de reflujo. La mezcla de reacción fue enfriada hasta 4°C y se le agregó una solución de (7 α ,16 α ,17 β)-7,16-dimetil-17-hidroxi-17-(1-propinil)estr-5(10)-en-3-ona (940 mg, 2,76 mmoles) en 39 mL de tolueno seco, en aproximadamente 10 minutos. La mezcla de reacción fue agitada por 20 minutos a 4°C, se le agregó cloruro de sodio diluido, y fue extraída con acetato de etilo. La capa orgánica fue lavada con solución salina, secada (Na₂SO₄) y evaporada a sequedad. La cromatografía en columna, usando heptano/acetato de etilo 95/5 (v/v %) como eluyente, dio (7 α ,16 α ,17 β)-7,16-dimetil-3-metilen-17-(1-propinil)estr-5(10)-en-17-ol (630 mg, rendimiento 67%) como un aceite. El producto fue secado por congelación desde dioxano. [α]_D +83° (c 0,15 en etanol).

Ejemplo 10

Síntesis de (7 α ,16 α ,17 β)-16-etil-7-metil-3-metilen-17-(1-propinil)estr-5(10)-en-17-ol

Este compuesto fue preparado de acuerdo con los métodos descritos más arriba, partiendo de (7 α)-3,3-dimetoxi-7-metilestr-5(10)-en-17-ona y yoduro de etilo, [α]_D +54° (c 0,13 en etanol).

Ejemplo 11**Síntesis de (7 α ,17 β)-7-metil-3-metilen-17-(1-propinil)estr-5(10)-en-17-ol**

Este compuesto fue preparado de acuerdo con los métodos descritos más arriba, partiendo de (7 α)-3,3-dimetoxi-7-metilestr-5(10)-en-17-ona.

[α]_D +80° (c 0,14 en etanol).

Ejemplo 12**Síntesis de (7 α ,16 β ,17 β)-16-etil-7-metil-3-metilen-19-norpregn-5(10)-en-20-in-17-ol**

Este compuesto fue preparado de acuerdo con la síntesis descrita más arriba, partiendo de (7 α)-3,3-dimetoxi-7-metilestr-5(10)-en-17-ona,

[α]_D +94° (c 0,10 en etanol).

Ejemplo 13**Preparación de (7 α)-3-metilen-7-metilestr-5(10)-eno**

Hidróxido de potasio (1,5 g, 27 mmoles) e hidrazina monohidrato (3 mL, 62 mmoles) fueron agregados a una suspensión de (7 α)-3,3-dimetoxi-7-metilestr-5(10)-en-17-ona (1 g, 3 mmoles) en 17 mL de dietilenglicol, a temperatura ambiente bajo una atmósfera de nitrógeno. La mezcla de reacción fue calentada por 1 hora a 130°C, seguido por 1 hora y 15 minutos a 230°C. Una trampa de Dean-Stark fue usada para remover el agua y el exceso de hidrazina. La mezcla de reacción fue enfriada hasta temperatura ambiente, se le agregó agua, y fue extraída con acetato de etilo. La capa orgánica fue lavada con solución

salina, secada (Na_2SO_4) y evaporada a sequedad, para dar el producto crudo (7 α)-3,3-dimetoxi-7-metilestr-5(10)-eno, que fue convertido en (7 α ,16 α ,17 β)-7,16-dimetil-3-metilen-17-(1-propinil)estr-5(10)-en-17-ol, de acuerdo con los procedimientos descritos más arriba, p.f. 57°C.

Ejemplo 14

Síntesis de O-metiloxima de (7 α)-3-metilen-7-metilestr-5(10)-en-17-ona

(7 α)-3,3-Dimetoxi-7-metilestr-5(10)-en-17-ona (100 mg, 0,3 mmol) fue agregada a una solución de metoxilamina.HCl (100 mg, 1,2 mmol) y acetato de sodio (123 mg, 1,5 mmol) en 6 mL de MeOH. La mezcla de reacción fue agitada por 3 días a temperatura ambiente. Se agregó agua y una solución saturada de bicarbonato de sodio, y se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica fue lavada con solución salina, secada (Na_2SO_4) y evaporada a sequedad, para dar la O-metiloxima de (7 α)-3,3-dimetoxi-7-metilestr-5(10)-en-17-ona cruda, que fue convertida en O-metiloxima de (7 α)-3-metilen-7-metilestr-5(10)-en-17-ona de acuerdo con los métodos descritos más arriba, $[\alpha]_D +149^\circ$ (c 0,11 en etanol).

Ejemplo 15

Síntesis de oxima de (7 α)-3-metilen-7-metilestr-5(10)-en-17-ona

Esta oxima fue preparada a partir de (7 α)-3,3-dimetoxi-7-metilestr-5(10)-en-17-ona e hidroxilamina.HCl, de acuerdo con la métodos descritos anteriormente, p.f. 149°C.

Ejemplo 16**Reacción de hipersensibilidad de tipo retardada (DTH).**

Se usaron grupos de ocho ratones Balb/c hembras (Harlan, Zeist, Holanda), de aproximadamente 8 semanas de edad al comienzo del experimento. Estos ratones fueron alojados en jaulas Macrolon bajo condiciones estándar, y aclimatados durante 3-5 días antes del comienzo del experimento. Los grupos recibieron ya sea compuesto o placebo.

Fueron pesados en el día 1 y en el último día de tratamiento. Los animales fueron tratados una vez al día mediante inyección subcutánea (sc) en la parte de atrás del cuello, o mediante cebadura oral, desde el día 1 hasta el día 11, con un compuesto de prueba en un rango de concentraciones desde 1,2, 3, 4, 6, hasta 12 mg/kg. El volumen de la inyección era de 0,1 mL de un vehículo para inyección consistente en suero fisiológico que contenía 0,5% de gelatina y 5% de manitol. Un grupo tratado con placebo (sólo vehículo) y un grupo tratado con 4 mg/kg de dexametasona como compuesto de referencia, fueron incluidos en cada experimento.

En el día 2, los animales fueron inmunizados con 0,1 mL de una suspensión estable de 3,75 Lf de antígeno toxoide tetánico (TT de RIVM, Zeist, Holanda) en 1 mg/mL de bromuro de dimetil dioctadecilamonio (DDA) de Phase Sep, en 2 lugares en el pecho por vía intradérmica.

En el día 9, los animales fueron desafiados en el lado ventral de la pata derecha [R] con 0,05 mL de una solución que contenía 50 Lf de TT y 1 mg de $\text{Al}(\text{OH})_3$ por mL. La planta de la pata izquierda [L] (control) recibió el vehículo con $\text{Al}(\text{OH})_3$

solamente. Después de 24 y 48 horas, se midió el grosor de las plantas de las patas izquierda y derecha (parámetros L y R, respectivamente) en mm con un densitómetro de calibres, y el porcentaje de hinchazón de la pata específica para el antígeno fue calculado de acuerdo con la fórmula: $[(R - L)/L] \times 100\%$.

Resultados

Compuesto	Cantidad de compuesto en mg/kg administrado sc que lleva a un 50% de reducción de la reacción DTH, comparado con el placebo
Ejemplo 1	1,9-3,4
Ejemplo 2	20
Ejemplo 3	11
Ejemplo 4	> 20
Ejemplo 5	10
Ejemplo 7	6

Ejemplo 17

Ratones diabéticos no obesos (NOD)

Los ratones NOD usados fueron ya sea criados en casa (las parejas para la crianza fueron obtenidas originalmente de Hattori, Boston, EE.UU, en la generación 58) o bien obtenidos de Bomholtgård (Dinamarca) de 6-7 semanas de edad.

Sólo se usaron ratones hembra para evaluar los efectos de los compuestos en el desarrollo de la sialoadenitis

espontánea, caracterizada por infiltraciones de leucocitos en las glándulas submandibulares.

Grupos de 6-8 ratones hembra fueron alojados bajo condiciones estándar y tratados una vez al día (ya sea por vía sc. u oral) desde la semana 8 hasta las 14 ó 20 semanas de edad con 0,1 mL de compuesto (concentración 1,2, 4 ó 12 mg/kg/día) o placebo (sólo vehículo) o no fueron tratados. Desde la semana 12 en adelante, fueron analizados semanalmente para determinar la presencia de glucosa urinaria (Diabur-test 5000, Boehringer Mannheim).

En la semana 8 (grupo pre-tratamiento) o en la semana 14 ó 20, respectivamente después de 6 ó 12 semanas de tratamiento, se mataron los animales bajo anestesia con éter; los órganos se retiraron, se les quitó la grasa y se pesaron. Las glándulas submandibulares fueron fijadas en sublimado-formol por 18-24 horas y transferidas a alcohol al 70%. Secciones de tejido fueron embebidas en parafina y teñidas con HE de acuerdo con métodos estándar. El análisis de las secciones de tejido para determinar infiltraciones fue efectuado microscópicamente por dos observadores independientes, de acuerdo con métodos estándar. La actividad de los compuestos de esta invención puede ser demostrada en esta prueba.

Ejemplo 18

Artritis de colágeno

Ratones hembra DBA-1J/BOM fueron comprados a Bomholtgård, Dinamarca. Todos los animales fueron alojados bajo condiciones estándar y aclimatados durante al menos 7 días.

A la edad de 10-12 semanas, todos los animales fueron inmunizados intradérmicamente en la base de la cola con 100 µg de una emulsión de colágeno de bovino purificado tipo II [CII] (2 mg/mL en 0,05 de ácido acético) emulsificado en volúmenes iguales de Adyuvante Completo de Freund (CFA, que contenía 4 mg/mL de MT H37Ra, Difco Laboratories, Detroit, EE.UU.). 21 días después de la inmunización, se administró por vía intraperitoneal una inyección de refuerzo de 100µg de CII disuelto en solución salina. El tratamiento fue administrado una vez al día comenzando el día 1 (el día antes de la inmunización) hasta la autopsia el día 44.

Grupos consistentes en 9 a 10 animales fueron tratados ya sea con compuesto de prueba (1,5 mg/kg/día diariamente hasta el día 22, desde ese día en adelante se redujo a 3 veces a la semana), o ciclosporina A (100 mg/kg/día inicialmente, desde el día 4, 20 mg/kg), o dexametasona (2 mg/kg/día), o vehículo (5% de Mulgofen (EL 719, GAF) en solución salina). Se incluyó un grupo no tratado de control.

Los ratones fueron pesados todas las semanas, y la actividad de artritis clínica (aparición visual de artritis en las articulaciones periféricas) fue calificada (de acuerdo con métodos estándar) por un observador que no estaba en conocimiento del tratamiento dado, desde el día 19 en adelante cada 2-3 días, hasta la autopsia el día 44.

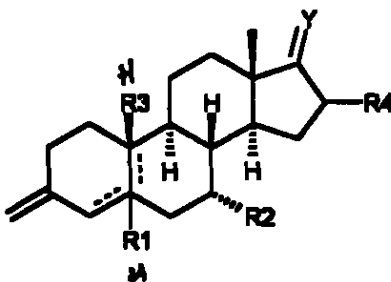
La artritis clínica fue calificada en una escala de 0-2 por pata y expresada como un puntaje acumulativo de artritis por ratón, con un puntaje máximo de 8. Al final del experimento, las articulaciones de rodilla y tobillo fueron aisladas y usadas

para el análisis de rayos X como un marcador para la destrucción de hueso, seguido por la fijación inmediata en formaldehído al 4% para el estudio histológico.

Las fotografías de rayos X fueron examinadas cuidadosamente usando un microscopio estereoscópico, y la destrucción de hueso de las articulaciones fue calificada en una escala de 0-5 de acuerdo con métodos estándar, en un rango desde no dañado hasta destrucción completa. La actividad de los compuestos de esta invención puede ser demostrada en esta prueba.

REIVINDICACIONES

1. Un derivado de 3-metileno esteroide CARACTERIZADO porque tiene la fórmula general 1



Fórmula 1

donde

R^1 es H o junto con R^3 forma un β -epóxido, o bien R^1 está ausente si hay un doble enlace 5-10 ó 4-5;

R^2 es (C₁-C₅)alquilo ó CF₃;

R^3 es β H, β CH₃ o junto con R^1 forma un β -epóxido, o bien R^3 está ausente si hay un doble enlace 5-10;

R^4 es H, alquilo inferior;

Y es [H, H] [OH, H], =O, [OH, alquilo inferior], [OH, (C₂-C₅)-alquenilo], [OH, (C₂-C₅)alquinilo] ó (C₁-C₆)alquilideno, donde dicho alquilo, alquenilo, alquinilo y alquilideno está opcionalmente halogenado; ó -NOR⁵, donde R⁵ es H, alquilo inferior;

las líneas de puntos representan un doble enlace opcional;

o profármacos del mismo,

con la salvedad de que el derivado de 3-metileno esteroide no es ninguno de la lista

(7 α ,17 β)-7 α -metil-3-metilen-4-estren-17-ol,
(7 α ,17 α)-7-metil-3-metilen-19-norpregn-4-en-17-ol,
(7 α ,17 α)-7-metil-3-metilen-19,21-dinorpregn-4-en-17-ol,
(7 α)-17-ceto-7-metil-3-metilen-4-estreno,
(7 α ,17 α)-7-metil-3-metilen-19-norpregn-4-en-20-in-17-ol,
17 β -hidroxi-7 α -metil-3-metilen-17 α -propen-2-il-4-estreno, y
17 β -hidroxi-7 α -metil-3-metilen-17 α -buten-2-il-4-estreno.

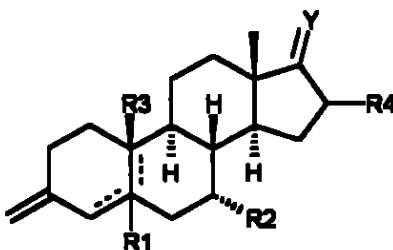
2. Un derivado de 3-metileno esteroide de acuerdo con la reivindicación 1, CARACTERIZADO porque el derivado de 3-metileno esteroide tiene un doble enlace 5-10 y R¹ y R³ están ausentes.

3. El derivado de 3-metileno esteroide, CARACTERIZADO porque es (7 α ,17 α)-7-metil-3-metilen-19-norpregn-5(10)-en-20-in-17-ol.

4. Uso de un derivado de 3-metileno esteroide de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-3, CARACTERIZADO porque sirve como un medicamento.

5. Una composición farmacéutica CARACTERIZADA porque comprende el derivado de 3-metileno esteroide de acuerdo con las reivindicaciones 1-3, o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo, mezclado con un auxiliar farmacéuticamente aceptable.

6. Uso de un derivado de 3-metileno esteroide que tiene la fórmula general 1



Fórmula 1

donde

R^1 es H o junto con R^3 forma un β -epóxido, o bien R^1 está ausente si hay un doble enlace 5-10 ó 4-5;

R^2 es (C_1-C_5) alquilo ó CF_3 ;

R^3 es βH , βCH_3 o junto con R^1 forma un β -epóxido, o bien R^3 está ausente si hay un doble enlace 5-10;

R^4 es H, alquilo inferior;

Y es [H, H] [OH, H], =O, [OH, alquilo inferior], [OH, (C_2-C_5) -alquenilo], [OH, (C_2-C_5) alquinilo] ó (C_1-C_6) alquilideno, donde dicho alquilo, alquenilo, alquinilo y alquilideno está opcionalmente halogenado; ó =NOR⁵, donde R⁵ es H, alquilo inferior;

las líneas de puntos representan un doble enlace opcional;

o profármacos del mismo,

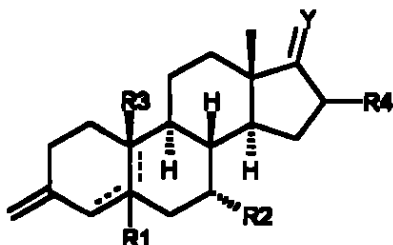
CARACTERIZADO porque sirve para preparar un medicamento para el tratamiento y/o profilaxis de enfermedades artríticas y/o enfermedades autoinmunes.

7. Un método de tratamiento y/o prevención de enfermedades artríticas y/o enfermedades autoinmunes CARACTERIZADO porque comprende la administración de un derivado de 3-metileno esteroide como el definido en la reivindicación 6, a un paciente que necesita dicho tratamiento o prevención.

802.364

Resumen

La invención se refiere a un derivado de 3-metileno esteroide que tiene la fórmula general 1



Fórmula 1

donde R^1 es H o junto con R^3 forma un β -epóxido, o bien R^1 está ausente si hay un doble enlace 5-10 ó 4-5; R^2 es (C_1-C_5) -alquilo ó CF_3 ; R^3 es βH , βCH_3 o junto con R^1 forma un β -epóxido, o bien R^3 está ausente si hay un doble enlace 5-10; R^4 es H, alquilo inferior; Y es [H, H] [OH, H], =O, [OH, alquilo inferior], [OH, (C_2-C_5) -alquenilo], [OH, (C_2-C_5) alquinilo] ó (C_1-C_6) alquilideno, donde dicho alquilo, alquenilo, alquinilo y alquilideno está opcionalmente halogenado; =NOR⁵, donde R⁵ es H, alquilo inferior; las líneas de puntos representan un doble enlace opcional, o profármacos del mismo, para el tratamient de enfermedades artríticas y/o enfermedades autoinmunes.

Título

Nuevos derivados de 3-metileno esteroides y su uso para el tratamiento de enfermedades artríticas y/o enfermedades autoinmunes.

Perception

CAVELIER

ABOGADOS

OFICINA 351

CARRERA 4ª N° 72-35

BOGOTÁ, C. - COLOMBIA

0197301 CO

For patents, utility models, industrial designs, trademarks, commercial names, trade emblems, slogans.

Para patentes, modelos de utilidad, diseños industriales, marcas de fábrica, nombres comerciales, enseñas, lemas comerciales.

REPRESENTACION Y PODER

REPRESENTATION AND
POWER OF ATTORNEY

I (we), the undersigned / Yo (nosotros), abajo firmado (s)
AKZO NOBEL N.V.

of/domiciliado (s) en Velperweg 76, 6824

BM Arnhem, THE NETHERLANDS

por el presente nombramos a EMILIO FERRERO, tpa. 31929; GONZALO PERDOMO, tpa. 831; LUZ CLEMENCIA DE PAEZ, tpa. 23555 y GERMAN CAVELIER, tpa. 832, domiciliados en la Carrera 4ª N° 72-35, Bogotá, Colombia, en obediencia a lo dispuesto en el parágrafo 1º del Artículo 543 del Código de Comercio, el primero como principal y los demás como suplentes, en su orden, como mis (nuestros) representantes en todos los asuntos de propiedad industrial con facultad para recibir notificaciones y nombrar apoderados judiciales o extrajudiciales. El primer representante suplente reemplazará al principal en caso de ausencia o impedimento temporal o definitivo de aquél. La misma regla se aplicará cuando el segundo representante suplente haya de reemplazar al primero, o el tercero al segundo. En tales casos, el representante principal, o el primero, o segundo suplente, en su caso, o ambos, declararán su intención de no ejercer la representación mediante declaración autenticada por Notario Público en Colombia, o por Notario u otro Funcionario Público, o Cónsul de Colombia, en el extranjero; y si se tratare de impedimento, con el certificado respectivo. Si alguno de los nombrados faltare definitivamente, el siguiente tomará su lugar. Cuando cesare la ausencia o impedimento del representante principal, o de su primer o segundo suplente, en su caso, podrán ejercer la representación, en su orden, uno u otros según el caso, asumiéndola por el solo hecho de ejercerla, cesando en ese momento el ejercicio de la representación por el primero, segundo o tercer suplente en su caso.

Además, confiero (conferimos) poder a los abogados arriba nombrados, para obtener la protección de mi (nuestra) propiedad industrial y contra la competencia desleal, a cuyo efecto autorizo (amos) a los dichos apoderados para que me (nos) representen ante cualesquiera entidades o personas, ejerzan o no jurisdicción, especialmente ante las del orden administrativo, contencioso-administrativo y judicial, así como los tribunales de arbitramento, en todo lo concerniente a los siguientes asuntos: a) Obtención de patentes de invención, modelos de utilidad, y diseños industriales; el registro de marcas de fábrica, colectivas, defensivas, de servicio, lemas comerciales, nombres comerciales, enseñas, variedades vegetales y denominaciones de origen; su renovación, traspaso, cambio de nombre o domicilio, cancelación voluntaria; y el registro de licencias de uso de esos derechos; b) Las acciones de competencia desleal, protección del consumidor, oposiciones u observaciones, cancelación administrativa y judicial, nulidad, medidas cautelares, concesión de licencias, la tutela, la protección de secretos industriales, y en general los juicios civiles, penales, administrativos o contencioso-administrativos relacionados con estos derechos; acciones y procesos que promovamos o se nos promuevan. Y para que en todos los asuntos arriba determinados, puedan sustituir este mandato, transigir, conciliar, admitir los hechos del proceso, desistirse, cancelar, recibir, renunciar, y ratificar los actos de agentes oficiosos.

In due compliance with the terms of paragraph 1st. of article 543 of the Commercial Code, do hereby appoint EMILIO FERRERO, tpa. 31929; GONZALO PERDOMO, tpa. 831; LUZ CLEMENCIA DE PAEZ, tpa. 23555 and GERMAN CAVELIER, tpa. 832, domiciled at Carrera 4ª N° 72-35, Bogotá, Colombia, the first as principal and the others as alternates, in the order of their appointment, as our representatives for all industrial property matters with faculty to receive notifications and to appoint attorneys in and out of Court. The first alternate shall replace the principal in case of his absence or of temporal or definitive impediment. The same rule will apply when the second alternate representative is to replace the first one, or when the third is to replace the first or second alternates in their turn, or both of them, second. In such cases, the principal representative, or the first or second alternates in their turn, or both of them, shall state their intention not to act as representatives through a declaration given before a Notary Public in Colombia, or before a Notary or another Public Official or a Colombian Consul abroad; and in case of impediment, the appropriate certificate shall suffice. If any of the appointees were to be definitely absent, the following alternate shall take his place. When the absence or impediment of the principal representative, or of the first or second alternate in their turn ceases, the representation can be taken again in their sequence, by the principal, the first or second alternate depending on case, and the mere fact or its exercise will suffice. The exercise of the representation by the first, second or third alternates in their turn shall end at such time.

In addition, we grant a Power of Attorney in favor of the above-named attorneys-at-law so that they may obtain the protection of my (our) industrial property and against the unfair competition, for which purpose I (we) authorize the said attorneys to represent me (us) before any authorities or persons, with or without jurisdiction, specially those administrative, administrative contentious and judicial, as well as before Arbitration Court, in all matters concerning the following: a) Obtainment of patents, utility models and industrial designs; the registration of trademarks, collective, defensive and service marks, slogans, commercial names, trade emblems, vegetal varieties and denominations of origin; its renewal, assignment, change of name or domicile, voluntary cancellation; and the registration of licenses of use of the above rights; b) Actions of unfair competition, protection to the consumer, oppositions or observations, administrative or Court cancellation, nullity, infringement, granting of licenses, the action for writ mandamus, the protection of trade secrets, and in general the civil, penal, and administrative suits relating to those rights; actions and suits instituted by me (us) or against me (us). And that in all the above matters they may substitute this Power of Attorney, compromise, conciliate, admit the facts of the case, desist, cancel, receive, resign, and ratify acts done by representatives without a power of attorney.

Given and signed this Day and Month of 6 AUG 1998

F.G.M. Hermans

In/en Director Patente Pharma

Signature

AKZO NOBEL N.V.

COMO NOTARIO PUBLICO EN EL DEPARTAMENTO DE BOGOTÁ, HACIENDO CONSTAR QUE ESTA FIRMA FUE TESTADA EN PRESENCIA DE DOS TESTES POR EL NOTARIO MANUEL BOTERO MEDINA, EN LA CIUDAD DE BOGOTÁ, EL DIA 07 DE NOVIEMBRE DE 2000.

TRADUCCION No. 198

MARIA ELVIRA MAF ELO

Traductora e Interpretadora Oficial

Inglés - Español - Inglés

Res. No. 2379 Min. Justicia

CAVELIER ABOGADOS
WPPODERE-179 (MINUTA N° 12.1.12.5)

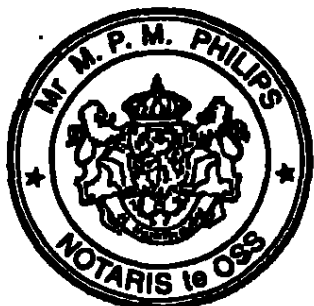
LEGALIZATION

El Señor Cónsul de Colombia debe expedir un certificado consular sobre (1) la existencia legal de la compañía que otorga el poder, (2) que ésta ejerce su objeto social, y (3) que las personas que otorgan el poder están autorizadas para darlo. A este efecto les solicitamos que muestren al Señor Cónsul las pruebas que acreditan esos hechos (1), (2) y (3).

LEGALIZATION

The Colombia Consul must issue a consular certificate, on (1) the legal existence of the company, which grants the Power-of-Attorney, (2) that it is in actual exercise of its company purposes, and (3) that the persons who execute the Power of Attorney is authorized to do so. To this effect, please show the Consul the evidence to prove the above facts (1), (2) and (3).

Seen for legalization of the signatures
of Mr. F.G.M. Hermans and Mr. E.H. Reerink
by me, Mr. Martinus Petrus Maria Philips,
notary public at Oss, the Netherlands,
on this 26th day of August 1998.



15499

TRADUCCION No.: 18.11/98
MARIA ELVIRA MARTELO
Traductora e Interprete Oficial
Inglés - Español - Inglés
Res. No. 2879 Min. Justicia



CHAMBER OF COMMERCE AND INDUSTRY
FOR OOST-BRABANT (NEDERLAND)

EXCLUSIVE PLACE FOR LEGALIZATION OF
THE SIGNATURE(S)

27 AUG 1998

KAMER VAN COOP EN HANDEL
OOST-BRABANT
HERTOGENBOSCH

J. Schellekens

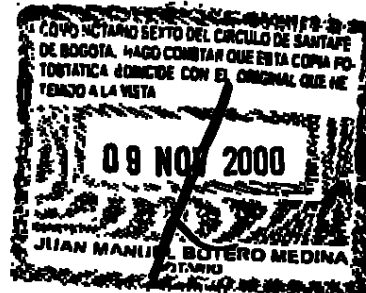
Gezien voor legalisatie van de handtekening
van dhr/mw J. Schellekens

's-Gravenhage: 9 SEP 1998



De Minister van
Buitenlandse Zaken
voor deze,

Leges f 20,- H.H. van POORTEN



NOTA PARA EL SEÑOR CONSUL DE COLOMBIA: Según los artículos 65 del C. de P.C. y 480 del C. de Co., si el poderdante es una sociedad, el Señor Cónsul debe certificar que tuvo a la vista las pruebas de su existencia, que ejerce su objeto social y que quien confiere el poder es su representante.



CONSULADO DE COLOMBIA

C O L O 11214-201-001-3

36

El suscrito Cónsul de Colombia en La Haya, Holanda,
vistos los documentos presentados por los interesados,

CERTIFICA.

Que el Señor Martinus Petrus Maria PHILIPS, quien como Notario Publico de
Oss, Países Bajos, autenticó las firmas de los signatarios del poder precedente, ejercía en la
fecha las funciones indicadas, y su firma corresponde a la registrada en este Consulado

Que la Compañía AKZO NOBEL N V es una Sociedad constituida de acuerdo con las leyes
de los Países Bajos, cumple su objeto conforme a las mismas y se halla registrada en la Cámara
de Comercio y Fábricas de Centraal Gelderland, Arnhem, bajo el numero 09007809;

Que los Señores Franciscus Guilielmus Maria HERMANS y Engbert Harmen
REERINK, signatarios del presente documento, quienes en su carácter de Apoderados
de la Empresa AKZO NOBEL N V, conjuntamente tienen facultad para ello, y cuyas
firmas fueron autenticadas ante el Notario Publico de Oss, Señor Martinus Petrus Maria
PHILIPS, son los representantes legales de la citada Empresa en este País.

El Cónsul de Colombia en La Haya, Países Bajos, no asume responsabilidad
alguna por el contenido del documento

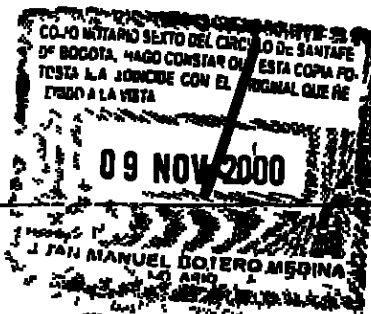
Esta certificación se expide en La Haya, Países Bajos, a los seis (06)
días del mes de Noviembre de mil novecientos noventa y ocho (1998)

Impuesto de Timbre	US\$	6 00
Derechos Consulares	US\$	100 00
Costo Total Pagado	US\$	106 00

Certificación No 206


JOSE IGNACIO VILLEGAS CORTES
CONSUL DE COLOMBIA
LA HAYA

TRADUCCION No. 181198
MARIA ELVIRA MARTELO
Traductora e Interprete Oficial
Inglés - Español - Inglés
Res. No. 2879 Min. Justicia



NO SE ASUME
RESPONSABILIDAD DEL TEXTO

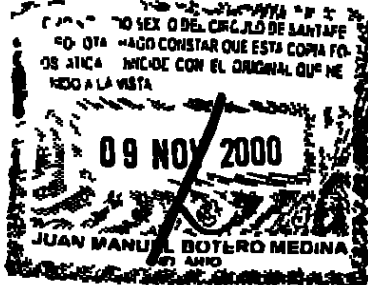
98 NOV 19 11 56

JEFE DE LEGALIZACIONES
SANTAFE DE BOGOTA D.C.

MINISTERIO DE RELACIONES
EXTERIORES

300803

CUYA FIRMA APARECE EN EL
DOCUMENTO DESEMPENA
LAS FUNCIONES INDICADAS



34

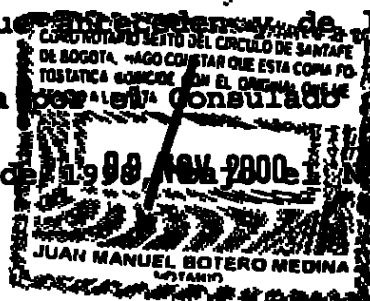
TRADUCCIÓN OFICIAL No. 18 11/98 preparada por María Elvira Martelo, Traductora Oficial debidamente aprobada por el Ministerio de Justicia de Colombia por Resolución 2879 de 1995 y reconocida por el Ministerio de Relaciones Exteriores

(A continuación se traducen los sellos y legalizaciones de un documento escrito en inglés y español, por el cual AKZO NOBEL N.V. otorga poder a EMILIO FERRERO, GONZALO PERDOMO, LUZ CLEMENCIA DE PAEZ Y GERMAN CAVELIER) Dado y firmado el 6 de agosto de 1998 (Firma ilegible) F G M Hermans, Director de Patentes Farmacéuticas (Firma ilegible) E H Reerink, Subdirector de Asuntos Jurídicos (Sello Corporativo) AKZO NOBEL N V

(Al dorso) Visto por mí, Sr Martinus Petrus Maria Philips, notario público en Oss, Países Bajos, hoy 26 de agosto de 1998, para legalización de las firmas de F G M Hermans y E H Reerink (Firma ilegible)

(Legalización) CAMARA DE INDUSTRIA Y COMERCIO PARA OOST-BRABANT (PAÍSES BAJOS) Visto exclusivamente para la legalización de la(s) firma(s) que antecede(n) Agosto 27 de 1998 (Firma ilegible) J Schellenkens
(Sello en holandés)

(En español) Certificación de las firmas que anteceden de la existencia legal de AKZO NOBEL N V expedida por el Consulado de Colombia en La Haya el día 6 de noviembre de 1998



206. Firmado JOSE IGNACIO VILLEGAS CORTES, Cónsul de Colombia, La Haya. Pagado impuesto de timbre.

(Al dorso) Legalización de la firma que antecede expedida por el MINISTERIO DE RELACIONES EXTERIORES bajo el No. 300803 del 19 de NOVIEMBRE de 1998, firmado por el Jefe de Legalizaciones.

Es traducción fiel y completa de la cual se deja copia en esta oficina para su confrontación.

COLO 11214-801-001-3

Id. 6

Nov. 20/98

Maria E. Martelo
TRADUCCION No. 11198
MARIA ELVIRA MARTELO
Traductora e Interprete Oficial
Inglés - Español - Inglés
Res. No. 2879 Min. Justicia

COMO NOTARIO SEXTO DEL CIRCULO DE SANTAFE DE BOGOTA, HAGO CONSTAR QUE LAS ANTERIORES FIR-
MAS FUERON POR
[Firma]
IDENTIFICADOS CON C.C. No.(s)
ES/SON AUTENTICA(S)
SANTAFE DE BOGOTA, 23 NOV. 1998



198457
Maria E. Martelo
Cuya firma aparece en el
DOCUMENTO DESEMPEÑA
LAS FUNCIONES INDICADAS

MINISTERIO DE RELACIONES
EXTERIORES

COMO NOTARIO SEXTO DEL CIRCULO DE SANTAFE DE BOGOTA, HAGO CONSTAR QUE ESTA COPIA CO-
TOSTATICA COINCIDE CON EL ORIGINAL QUE
TENGO A LA VISTA
09 NOV 2000
JUAN MANUEL BOTERO MEDINA

JEFE DE LEGALIZACIONES
SANTAFE DE BOGOTA D.C.
98 NOV 24 PM 12: 06

NO SE ASUME
RESPONSABILIDAD DEL TEXTO

Fals 39, 40, 41
targetos
Q



FORMATO DE DIGITALIZACION
RELACION DE ANEXOS



Roynt
Technologies S.A.
Imágenes, Datos y Documentos S.A.

39

Expediente No		00090980	No de Follo
Item		No de unidades	✓
1	CD		
2	DVD		
3	REVISTA		
4	LIBRO		
5	PERIODICO		
6	DISQUETES		
7	SOBRE DE MANILA	1	
8	SOBRE BLANCO TAMAÑO CARTA		
9	SOBRE BLANCO TAMAÑO OFICIO		
10	OTROS:		
Observaciones: arte final			



**Europäisches
Patentamt**

**European
Patent Office**

**Office européen
des brevets**

34
40

Bescheinigung

Certificate

Attestation

Die angehefteten Unterla-
gen stimmen mit der
ursprünglich eingereichten
Fassung der auf dem näch-
sten Blatt bezeichneten
europäischen Patentanmel-
dung überein.

The attached documents
are exact copies of the
European patent application
described on the following
page, as originally filed.

Les documents fixés à
cette attestation sont
conformes à la version
initialement déposée de
la demande de brevet
européen spécifiée à la
page suivante.

Patentanmeldung Nr. Patent application No. Demande de brevet n°

99204000.6

**Der Präsident des Europäischen Patentamts:
Im Auftrag**

For the President of the European Patent Office

**Le Président de l'Office européen des brevets
p.o.**

I.L.C. HATTEN-HECKMAN

**DEN HAAG, DEN
THE HAGUE, 20/11/00
LA HAYE, LE**



Europäisches
Patentamt

European
Patent Office

Office européen
des brevets

45
41

**Blatt 2 der Bescheinigung
Sheet 2 of the certificate
Page 2 de l'attestation**

Anmeldung Nr.:
Application no.:
Demande n°: **99204000.6**

Anmeldetag:
Date of filing:
Date de dépôt: **29/11/99**

Anmelder:
Applicant(s):
Demandeur(s):
**Akzo Nobel N.V.
6824 BN Arnhem
NETHERLANDS**

Bezeichnung der Erfindung:
Title of the invention:
Titre de l'invention:
3-Methylene steroid derivatives for the treatment of autoimmune diseases

In Anspruch genommene Priorität(en) / Priority(ies) claimed / Priorité(s) revendiquée(s)

Staat:
State:
Pays:

Tag:
Date:
Date:

Anzeichen:
File no.
Numéro de dépôt:

Internationale Patentklassifikation:
International Patent classification:
Classification internationale des brevets:
C07J1/00, C07J71/00

Am Anmeldetag benannte Vertragsstaaten:
Contracting states designated at date of filing: AT/BE/CH/CY/DE/DK/ES/FI/FR/GB/GR/IE/IT/LU/LC/NL/PT/SE/TR
Etats contractants désignés lors du dépôt:

Bemerkungen:
Remarks:
Remarques:

See for original title page 1 of the description.

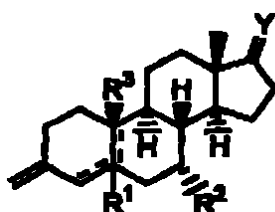
46
42

3-METHYLENE STEROID DERIVATIVES

The invention relates to new 3-methylene steroid derivatives with therapeutic effects and to the preparation of pharmaceutical preparations comprising a 3-alkylidene steroid.

Steroids with methylene substituents at the 3 position of the steroid skeleton and 1-2 or 4-5 double bonds are known and claimed to be useful for therapeutic use (BE 696,235 and BE 654,772, respectively).

- 10 The presumed medical indication is due to anabolic, estrogenic and progestogenic actions. None of these compounds has lived up to the expectations for such use and there was no expectation for utility as medicines in other areas, although many diseases still remain unsatisfactorily treated with presently available drugs. Notably, diseases
- 15 of the immune system, such as rheumatoid arthritis and autoimmune diseases are in need for better drugs. Corticosteroidal agents are of some use for the treatment of these diseases, but improvements, both with respect to efficacy and number or severity of side effects, are needed.
- 20 This invention provides for 3-methylene steroid derivatives and prodrugs thereof, which steroid derivatives have the general formula 1



Formula 1

25 wherein

R^1 is H or together with R^3 forms a β -epoxide or R^1 is absent if there is a 5-10 or 4-5 double bond;

R^2 is (C_1-C_3) alkyl or CF_3 ;

R^3 is βH , βCH_3 or together with R^1 forms a β -epoxide or R^3 is absent if

30 there is a 5-10 double bond;

Y is [OH, H], =O, [OH, lower alkyl], [OH, (C₂-C₈)alkenyl], [OH, (C₂-C₈)alkynyl] or (C₁-C₈)alkylidene, whereby said alkyl, alkenyl, alkynyl and alkylidene is optionally halogenated;
dotted lines represent an optional double bond.

5

The use of compounds as defined by formula 1 is for immunomodulation in mammals. A compound of this invention can in particular be used in the treatment of arthritic diseases such as rheumatoid arthritis (RA) and autoimmune diseases (AIDs) such as Sjögren's syndrome and systemic lupus erythematosus (SLE). It can also be used prophylactically for such diseases. Furthermore, a compound according to this invention can be used for the preparation of medicines comprising a compound of this invention as an active constituent.

15 In this description terms have the following meaning:

A lower alkyl is a branched or unbranched alkyl group having preferably 1-6 carbon atoms, like hexyl, isobutyl, tertiary butyl, propyl, isopropyl, ethyl, and methyl.

20 (C₁-C₈)alkyl is a branched or unbranched alkyl group having 1-5 carbon atoms, for example methyl, ethyl, isopropyl, butyl, sec-butyl, tert-butyl etc.;

(C₂-C₈)alkenyl is a branched or unbranched alkenyl group having 2 to 5 carbon atoms, such as ethenyl, 2-butenyl, etc.

25 (C₂-C₈)alkynyl is a branched or unbranched alkynyl group having 2-5 carbon atoms, such as ethynyl and propynyl etc.

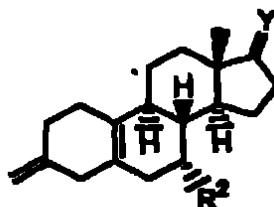
(C₁-C₈)alkylidene is a branched or unbranched alkylidene group having 1-5 carbon atoms, such as methenyl, butylidene etc.

Halogen is fluorine, chlorine, bromine, and iodine.

30 Prodrugs are compounds which are designed to form a compound of the invention in the body of a recipient for treatment. In general such prodrugs can be esters or ethers of the 1'-hydroxyl function.

A preferred embodiment of this invention is a compound as described above having a 5-10 double bond. Most preferred is the compound (7 α ,17 α)-7-methyl-3-methylene-19-norpregn-5(10)-en-20-yn-17-ol.

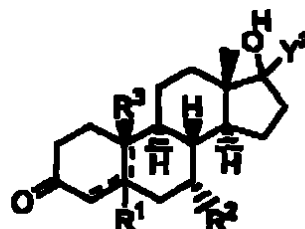
- 6 The epoxide compounds (R₄ and R₅ together form β -O-) of this invention can be prepared by oxidation of a compound having the formula 2 in which the symbols have the meaning as defined above, with meta-chloroperoxybenzoic acid



10

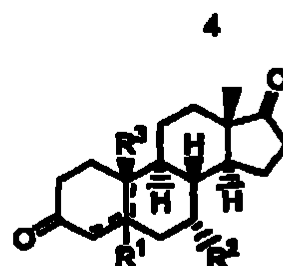
Formula 2

- The 3-methylene group in a compound of the invention is obtained by performing a Wittig reaction using methyltriphenylphosphonium bromide and potassium t-butoxide with corresponding 3-keto precursor steroids, which are characterized by formula 3, wherein Y² is as Y, as defined above, except that it is not -O and the other symbols have the meaning as defined before.



Formula 3

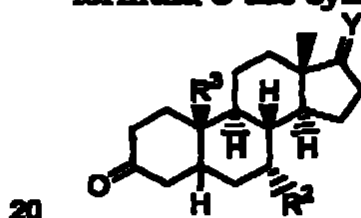
- 20 The 17-alkylidene compounds of the invention can be prepared by a Wittig reaction of a 3-ketal derivative of the 17-keto derivative according to formula 4, wherein the symbols have the meaning as defined before, with an alkyltriphenylphosphonium bromide followed by the hydrolysis of the 3-ketal function.



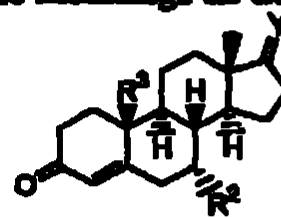
Formula 4

The above indicated reagents for transformation of the starting compounds and their ways of reacting with compounds are known in the art, but not yet applied for the group of compounds to be prepared to obtain the compounds of the invention. Starting materials can be obtained by methods described in the literature. A specifically relevant reference is Van Vliet et al. Recl.Trav.Chim.Pays-Bas; EN; 105; 4; 1986; 111-115, which text is incorporated into this description by way of reference. Notably, it is described therein that 17-alkyl-3-keto-derivatives according to formula 3, wherein Y³ is [OH, lower alkyl] and the other symbols have the meaning as defined before, can be obtained by catalytic hydrogenation, for example with PtO₂/H₂, of a compound according to formula 3, wherein Y² is [OH, alkenyl] or [OH, alkynyl] and the other symbols have the meaning as defined before.

Derivatives according to formula 5 can be obtained by purification from a mixture of compounds formed after the Birch reduction of the 4-en-3-one derivative according to formula 6, whereby both in formula 5 and in formula 6 the symbols have the meanings as defined before.

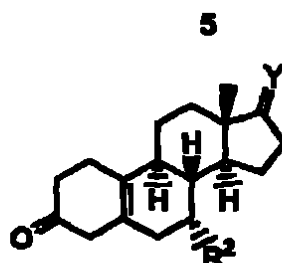


Formula 5



Formula 6

A 4-en-3-one derivative according to formula 6, wherein R³ is H and the other symbols have the meanings as defined before, can be obtained from a compound according to formula 7 by double bond isomerisation (according to methods described in van Vliet).



A 4-en-3-one derivative according to formula 6, wherein R² is methyl and the other symbols have the meanings as defined before, can be obtained according to the methods described in Grunwell et al., *Steroids* Vol. 27, pages 759-771, 1976, which publication is incorporated herein by reference.

Further methods to obtain compounds according to formula 7 as starting material can be prepared as described by van Vliet et al. 1986.

10

The present invention also relates to a pharmaceutical composition comprising the steroid compound according to the invention, mixed with one or more pharmaceutically acceptable auxiliaries, such as described in the standard reference Gennaro et al., *Remington's Pharmaceutical Sciences*, (18th ed., Mack publishing Company, 1990, see especially Part 8: Pharmaceutical Preparations and Their Manufacture.). A mixture of one or more of the steroid compounds according to the invention and one or more pharmaceutically acceptable auxiliaries may be compressed into solid dosage units, such as pills, tablets, or be processed into capsules or suppositories. By means of pharmaceutically suitable liquids the compounds can also be applied as an injection preparation in the form of a solution, suspension, emulsion, or as a spray, e.g. nasal spray. For making dosage units, e.g. tablets, the use of conventional additives such as fillers, colorants, polymeric binders and the like is contemplated. In general any pharmaceutically acceptable additive which does not interfere with the function of the active compounds can be used. The steroid compounds of the invention may also be included in an implant, a patch, a gel, and any other preparation for sustained release.

15
20
25

Suitable carriers with which the compositions can be administered include lactose, starch, cellulose derivatives and the like, or mixtures thereof used in suitable amounts.

6 In another aspect, the invention relates to the use of the steroid compound according to the invention for the manufacture of a medicament for modulation of the immune system of a mammal. More specifically, the invention relates to the use of the steroid compound according to the invention for the manufacture of a medicament for the
10 treatment of arthritic diseases such as rheumatoid arthritis (RA) and autoimmune diseases (AIDs) such as Sjögren's syndrome and systemic lupus erythematosus (SLE). Such medicaments can also be prepared for prophylactic use for such diseases. The medicament is preferably made suitable, in particular for the treatment of human beings by complying to
15 the regulations of health authorities in diverse countries.

Furthermore, the invention pertains to the treatment of arthritic diseases such as rheumatoid arthritis (RA) and autoimmune diseases (AIDs) such as Sjögren's syndrome and systemic lupus erythematosus
20 (SLE), comprising the administration to a patient of a compound as described previously (in a suitable pharmaceutical dosage form).

The dosage amounts of the present steroids will be of the range of from 0.001 to 100 mg per administration of a subject in need of treatment.
25 Consequently dosage units for practical use of a compound of this invention can contain an amount of active ingredient in the range of from 0.001 to 100 mg.

The immuno-modulating properties of a compound of this invention can
30 be demonstrated and used in the following procedures.

In the delayed type hypersensitivity (DTH) procedure, the effect of a compound on the development of an immune reaction can be observed in

mice (details in example 9). Briefly, the compound is administered daily and the animals are immunized subsequently with an antigen in adjuvant. After 7 days the animals are challenged locally by injecting the antigen locally (mostly in the foot) and measuring the subsequently developing local swelling in response to the deposition of the antigen. The degree of this swelling is related to the development of an immune response against the eliciting antigen. The inhibiting action of a compound of this invention on the development of this swelling can be determined, by comparing the treatment group with a placebo treated group. As a reference treatment, administration of glucocorticoids can be used.

The effect of a compound of this invention was also tested in arthritic mice.

In this procedure, mice are immunized with collagen type II, mostly from bovine cartilage, in an adjuvant. After three weeks a booster with the same antigen is given. Approximately 7-10 days after the booster reaction edema of the joints (especially in the hind and forefeet) can be observed. This swelling increases rapidly, leading to redness, inflammation and distortion of normal function. Upon X-ray analysis disruption of normal joint architecture can be observed. Upon histological examination of these joints, severe inflammation leading to disruption of normal cartilage architecture can be observed. The degree of observable alterations can be graded; moreover, the degree of histological alterations can be graded also.

Furthermore, the effect of a compound on this invention can be observed in non-obese diabetic (NOD)-mice.

In this procedure, mice spontaneously and gradually develop autoimmune diseases with symptoms resembling those of human insulin dependent diabetes mellitus (IDDM) and Sjögren's syndrome. Sjögren's syndrome is characterized by the development of infiltrates in the salivary and lachrymal gland. In NOD mice especially the salivary

gland is characterized by the gradual development of infiltrates. A compound of this invention inhibits dose-dependently the development of these infiltrates in the submandibular glands.

IDD is characterized by the development of infiltrates in the pancreas, leading to destruction of the islets of Langerhans producing insulin. After the gradual destruction of all these islets, no insulin production is present anymore resulting in the development of IDD. In the following examples the invention is illustrated.

10 Example 1

Preparation of (7 α ,17 α)-7-methyl-3-methylene-19-norpregn-5(10)-en-20-yn-17-ol

Methyltriphenylphosphonium bromide (26.4 g, 73.9 mmol) was added to a stirred solution of potassium t-butoxide (7.9 g, 70.4 mmol) in 130 ml dry THF under a nitrogen atmosphere. The yellow suspension was stirred for 45 minutes at room temperature. A solution of 20 g, 64 mmol tibolone in 200 ml dry THF was added rapidly (approx. 30 seconds) to the suspension, resulting in a slightly exothermic reaction (from 20°C to 33°C). The yellow reaction mixture was stirred for 30 minutes at room temperature, poured on ice-water (700 ml) and extracted with ethyl acetate (700 ml). The organic layer was washed with water (300 ml), dried (Na₂SO₄) and evaporated to dryness to give 41.8 g of a yellow oil. Column chromatography using toluene/ethyl acetate 95/5 (v/v %) as eluent gave 19.5 g of a colorless oil containing approximately 90% (7 α ,17 α)-7-methyl-3-methylene-19-norpregn-5(10)-en-20-yn-17-ol and 10% the isomeric Δ^4 derivative. Recrystallization (3 times) using heptane/petroleum ether as solvent gave the title compound (6.44 g, yield 32%) as a white solid, mp 91.6°C.

30 Example 2

Preparation of (7 α ,17 β)-7-methyl-3-methyleneestr-5(10)-en-17-ol

Methyltriphenylphosphonium bromide (4.21 g, 11.8 mmol) was added to a stirred solution of potassium t-butoxide (1.26 g, 11.2 mmol) in 20 ml

JO
46

dry THF under a nitrogen atmosphere. The yellow suspension was stirred for 45 minutes at room temperature. A solution of (7 α , 17 β)-7-methyl-3-keto-estr-5(10)-en-17-ol (3.4 g, 11.8 mmol) in 25 ml dry THF was added rapidly to the suspension. The yellow reaction mixture was stirred for 30 minutes at room temperature, poured on ice-water and extracted with ethyl acetate. The organic layer was washed with water, dried (Na₂SO₄) and evaporated to dryness to give 5.3 g of the title compound as a yellow oil. Column chromatography using toluene/ethyl acetate 95/5 (v/v %) as eluent gave 2.3 g of a colorless oil. Crystallization using heptane/petroleum ether gave (7 α , 17 β)-7-methyl-3-methylenestr-5(10)-en-17-ol (1.47 g, 44%) as a white solid, mp 111.8°C

Example 3

Preparation of (5 β , 7 α , 17 α)-5,10-epoxy-7-methyl-3-methylene-19-norpregn-20-yn-17-ol

The compound (7 α , 17 α)-7-methyl-3-methylene-19-norpregn-5(10)-en-20-yn-17-ol (390 mg, 1.26 mmol) obtained according to example 1 was stirred in 15 ml dry dichloromethane under a nitrogen atmosphere. The solution was cooled to 0 °C and meta-chloroperoxybenzoic acid (1.26 mmol, 310 mg 70% mcpba) was added. The reaction mixture was stirred for 2 hours at 0°C, washed with a saturated sodium thiosulfate solution, saturated sodium bicarbonate solution and a saturated sodium chloride solution, dried (Na₂SO₄) and evaporated to dryness to give 450 mg crude (5 β , 7 α , 17 α)-5,10-epoxy-7-methyl-3-methylene-19-norpregn-20-yn-17-ol. Column chromatography using heptane/ethyl acetate 95/5 (v/v %) as eluent gave the purified title compound (150 mg, 37%) as foam.

Example 4

Preparation of (5 β , 7 α , 17 β)-5,10-epoxy-7-methyl-3-methylenestr-17-ol

Compound (7 α , 17 β)-7-methyl-3-methylenestr-5(10)-en-17-ol (350 mg, 1.22 mmol), obtained according to example 2, was stirred in 15 ml dry dichloro methane under a nitrogen atmosphere. The solution was cooled

to 0 °C then meta-chloroperoxybenzoic acid (1.22 mmol, 301 mg 70% mcpba) was added. The reaction mixture was stirred for 75 minutes at 0 °C, washed with a saturated sodium thiosulfate solution, saturated sodium bicarbonate solution and a saturated sodium chloride solution, dried (Na₂SO₄) and evaporated to dryness to give 370 mg crude (5 β , 7 α , 17 β)-5,10-epoxy-7-methyl-3-methyleneestrane-17-ol. Column chromatography using heptane/ethyl acetate 95/5 (v/v %) as eluent gave further purified title compound (230 mg, 63%). Crystallization using heptane/ethyl acetate 95/5 (v/v%) gave the purified title compound (120 mg, 33%) as a white solid, mp 125 °C

Example 5

Preparation of (5 α , 7 α , 17 α)-7-methyl-3-methylene-19-norpregn-20-en-17-ol

Methyltriphenylphosphonium bromide (688 mg, 1.93 mmol) was added to a stirred solution of potassium t-butoxide (196 mg, 1.75 mmol) in 2 ml dry THF under a nitrogen atmosphere. The yellow suspension was stirred for 45 minutes at room temperature. A solution of (5 α , 7 α , 17 α)-7-methyl-3-keto-19-norpregn-20-en-17-ol (220 mg, 0.7 mmol) in 3 ml dry THF was added rapidly to the suspension. The yellow reaction mixture was stirred for 2.5 hours at room temperature, poured on ice-water and extracted with ethyl acetate. The organic layer was washed with water, dried (Na₂SO₄) and evaporated to dryness to give 500 mg of an oil. Column chromatography using toluene/ethyl acetate 95/5 (v/v %) as eluent gave 200 mg crude (5 α , 7 α , 17 α)-7-methyl-3-methylene-19-norpregn-20-en-17-ol. Crystallization from heptane gave the purified title compound (120 mg, 55%) as a white solid, mp 105 °C.

Example 6

Preparation of (5 α , 7 α , 17 α)-7-methyl-3-methylene-19-norpregn-20-en-17-ol

Methyltriphenylphosphonium bromide (1.85 g, 5.18 mmol) was added to a stirred solution of potassium t-butoxide (527 mg, 4.7 mmol) in 4 ml dry

THF under a nitrogen atmosphere. The yellow suspension was stirred for 45 minutes at room temperature. A solution of (5 α , 7 α , 17 α)-7-methyl-3-keto-19-norpregn-20-yn-17-ol (590 mg, 1.88 mmol) in 8 ml dry THF was added rapidly to the suspension. The yellow reaction mixture was stirred for 2.5 hours at room temperature, poured on ice-water and extracted with ethyl acetate. The organic layer was washed with water, dried (Na₂SO₄) and evaporated to dryness to give 1.8 g of an oil. Column chromatography using toluene/ethyl acetate 95/5 (v/v %) as eluent gave 590 mg crude (5 α , 7 α , 17 α)-7-methyl-3-methylene-19-norpregn-20-yn-17-ol. Crystallization from heptane gave purified title compound (290 mg, 50%) as a white solid, mp 97 °C.

Example 7

Preparation of (5 β , 7 α , 17 α)-7-methyl-3-methylene-19-norpregnan-17-ol

Methyltriphenylphosphonium bromide (5.4 g, 15.1 mmol) was added to a stirred solution of potassium t-butoxide (1.62 g, 14.4 mmol) in 27 ml dry THF under a nitrogen atmosphere. The yellow suspension was stirred for 40 minutes at room temperature. A solution of (5 β , 7 α , 17 α)-7-methyl-3-keto-19-norpregnan-17-ol (4.56 g, 14.4 mmol) in 50 ml dry THF was added rapidly to the suspension. The yellow reaction mixture was stirred for 30 minutes at room temperature, poured on ice-water and extracted with ethylacetate. The organic layer was washed with water and brine, dried (Na₂SO₄) and evaporated to dryness to give 8.2 g of an oil. Column chromatography using toluene/ethyl acetate 95/5 (v/v %) as eluent gave (5 β , 7 α , 17 α)-7-methyl-3-methylene-19-norpregnan-17-ol (3.65 g, 81%) which solidified upon standing, mp. 104 °C.

Example 8

Preparation of (7 α)-7-methyl-3,17-dimethyleneestr-5(10)ene.

Methyltriphenylphosphonium bromide (2.2 g, 6 mmol) was added to a stirred solution of potassium t-butoxide (680 mg, 6 mmol) in 25 ml dry THF under a nitrogen atmosphere. The yellow suspension was stirred for 30 minutes at room temperature. A solution of (7 α)-7-methyl-3,17-diketo-

estr-5(10)ene (850 mg, 3 mmol) in 25 ml dry THF was added rapidly (approx. 30 seconds) to the suspension, resulting in a slightly exothermic reaction. The reaction mixture was stirred for 30 minutes at room temperature, poured on ice-water (100 ml) and extracted with ethyl acetate (100 ml). The organic layer was washed with water (50 ml), dried (Na₂SO₄) and evaporated to dryness to give (7 α)-7-methyl-3,17-dimethylenecstr-5(10)ene (680 mg, 80 %) as a colorless oil.

Example 9

10 Delayed type hypersensitivity (DTH) reaction

Groups of eight female Balb/c (Harlan, Zeist, The Netherlands) mice were used, approximately 8 weeks of age at the start of the experiment. These mice were housed in Macrolon cages, under standard conditions and acclimatized for 3-5 days before the start of the experiment. The groups received either compound or placebo.

They were weighed on day 1 and on the last treatment day. Animals were treated once daily by subcutaneous (sc) injection in the back of the neck or by oral gavage from day 1 till day 11 with a test compound in concentration range from 1.2, 3, 4, 6, to 12 mg/kg. The injection volume was 0.1 mL of a vehicle for injection consisting of physiological saline containing 0.5% gelatin and 5% mannitol. A placebo treated group (vehicle only) and a group treated with 4 mg/kg dexamethasone as reference compound were included in each experiment.

On day 2, animals were immunized with 0.1 ml of a stable suspension of 3.75 Lf Tetanus Toxoid antigen (TT from the RIVM, Zeist, The Netherlands) in 1 mg/ml dimethyl dioctadecylammonium bromide (DDA) from Phase Sep, at 2 places on the breast intradermally.

On day 9 animals were challenged on the ventral side of the right [R] paw with 0.05 mL of a solution containing 50 Lf TT and 1 mg Al(OH)₃ per mL. The left [L] footpad (control) received the vehiculum with Al(OH)₃ only. After 24 and 48 hours, the left and right footpad thickness (parameters L and R, respectively) were measured with a calipers densitometer in mm

and the percentage of antigen-specific footpad swelling was calculated according to the formula: $[(R - L)/L] \times 100\%$.

Results

Compound	Amount of compound given sc. in mg/kg leading to 50 % reduction of the DTH reaction as compared to placebo
example 1	1.9-3.4
example 2	20
example 3	11
example 4	> 20
example 5	10
example 7	6

5

Example 10

non-obese diabetic (NOD)-mice

NOD mice used, were either bred in house (breeding pairs originally obtained from Hattori, Boston, USA, at generation 58) or obtained from Bomholtgård (Denmark) at 6-7 weeks of age.

Only female mice were used for assessing effects of compounds on spontaneous sialoadenitis development, as characterized by leucocyte infiltrations in submandibular glands.

Groups of 6-8 female mice were housed under standard conditions and treated once daily (either sc. or orally) from week 8 till 14 or 20 weeks of age with 0.1 ml of compound (concentration 1.2, 4, or 12 mg/kg/day) or placebo (vehicle only) or were not treated. From week 12 onwards they were tested weekly for the presence of urinary glucose (Diabur-test 5000, Boehringer Mannheim).

At week 8 (pre-treatment-group) or at week 14 or 20, after respectively 6 or 12 weeks of treatment, animals were killed under ether anesthesia;

organs were removed, dissected free of fat and weighed. Submandibular glands were fixed in sublimate-formal for 18-24 hours and transferred to alcohol 70%. Tissue sections were embedded in paraffin and HE stained according to standards methods. Scoring of tissue sections for infiltrates
5 was microscopically performed by two independent observers according to standard methods. Activity of compounds of this invention can be demonstrated in this test.

Example 11

10 Collagen arthritis

Female DBA-1J/BOM mice were purchased from Bomholtgård, Denmark. All animals were housed under standard conditions and acclimatized for at least 7 days.

At the age of 10-12 weeks all animals were immunized intradermally at
15 the base of the tail with 100 μ g of an emulsion of purified bovine collagen type II [CII] (2 mg/mL in 0.05 acetic acid) emulsified in equal volumes of Complete Freund's Adjuvant (CFA, containing 4 mg/mL MT H37Ra, Difco Laboratories, Detroit, USA). At 21 days after immunization, a booster injection was administered intraperitoneally of 100 μ g CII dissolved in
20 saline. Treatment was given once daily starting at day 1 (day before immunisation) until autopsy at day 44.

Groups consisting of 9 to 10 animals were treated either with test compound (1.5 mg/kg/day daily until day 22, from that day on reduced to 3 times a week), or cyclosporin A (100 mg/kg/day initially, from day 4,
25 20 mg/kg), or dexamethasone (2 mg/kg/day), or vehicle (5% Mulgofer(EL 719, GAF) in saline). A non-treated control group was included.

Mice were weighed every week, and clinical arthritis activity (visual appearance of arthritis in peripheral joints) was scored (according to standard methods) by one observer not aware of the treatment given,
30 from day 19 onward every 2-3 days, until autopsy at day 44.

Clinical arthritis was graded on a scale of 0-2 per paw and expressed as a cumulative arthritis score per mouse with a maximum score of 8. At the end of the experiment knee and ankle joints were isolated and used for X-

29-11-1999

MAA 11:29 FAX +31 412 650592

EP99204000.6

ANON

+++ EPO RYSWY

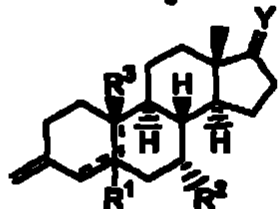
SPEC

ray analysis as a marker for bone destruction, followed by immediate fixation in 4% formaldehyde for histology.

X-ray photographs were carefully examined using a stereo microscope and bone destruction of joints was scored on a scale of 0-5 according to standard methods/ranging from undamaged to complete destruction. Activity of compounds of this invention can be demonstrated in this test.

Claims

1. A 3-methylene steroid derivative having the general formula 1



5 **Formula 1**

wherein

R^1 is H or together with R^3 forms a β -epoxide or R^1 is absent if there is a 5-10 or 4-5 double bond;

R^2 is (C₁-C₅)alkyl or CF₃;

- 10 R^3 is β H, β CH₃ or together with R^1 forms a β -epoxide or R^3 is absent if there is a 5-10 double bond;

Y is [OH, H], -O, [OH, lower alkyl], [OH, (C₂-C₅)alkenyl], [OH, (C₂-C₅)alkynyl] or (C₁-C₅)alkylidene, whereby said alkyl, alkenyl, alkynyl and alkylidene is optionally halogenated;

- 15 dotted lines represent an optional double bond;
or prodrugs thereof ,

with the proviso that the 3-methylene steroid derivative is not anyone from the list (7 α ,17 β)-7 α -methyl-3-methylene-4-estren-4-17-ol,

- 20 (7 α ,17 α)-7-methyl-3-methylene-19-norpregn-4-ene-17-ol, (7 α ,17 α)-7-methyl-3-methylene-19,21-dinorpregn-4-ene-17-ol, (7 α)-17-keto-7-methyl-3-methylene-4-estrene, (7 α ,17 α)-7-methyl-3-methylene-19-norpregn-4-en-20-yn-17-ol, 17 β -hydroxy-7 α -methyl-3-methylene-17 α -propen-2-yl-4-estrene, and 17 β -hydroxy-7 α -methyl-3-methylene-17 α -buten-2-yl-4-estrene.

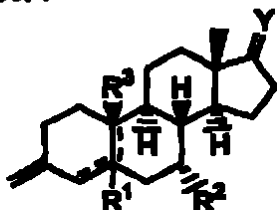
25

2. A 3-methylene steroid derivative according to claim 1, characterized in that the 3-methylene steroid derivative has a 5-10 double bond and R^1 and R^3 are absent.

3. The 3-methylene steroid derivative (7 α ,17 α)-7-methyl-3-methylene-19-norpregn-5(10)-en-20-yn-17-ol.

4. A 3-methylene steroid derivative according to anyone of claim 1-3 for use as a medicament.

5. The use of a 3-methylene steroid derivative having the general formula 1



Formula 1

wherein

R¹ is H or together with R³ forms a β -epoxide or R¹ is absent if there is a 5-10 or 4-5 double bond;

R² is (C₁-C₆)alkyl or CF₃;

R³ is β H, β CH₃ or together with R¹ forms a β -epoxide or R³ is absent if there is a 5-10 double bond;

Y is [OH, H], -O, [OH, lower alkyl], [OH, (C₂-C₅)alkenyl], [OH, (C₂-C₅)alkynyl] or (C₁-C₆)alkylidene, whereby said alkyl, alkenyl, alkynyl and alkylidene is optionally halogenated;

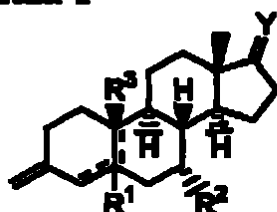
dotted lines represent an optional double bond;

or prodrugs thereof for the preparation of a medicine for the treatment and/or prophylaxis of arthritic diseases and/or autoimmune diseases.

6. A method of treatment and/or prevention of arthritic diseases and/or autoimmune diseases by administration of a 3-methylene steroid derivative as defined in claim 5, to a patient in need of said treatment or prevention.

Abstract

The invention concerns a 3-methylene steroid derivative having the general formula 1



5

Formula 1

wherein wherein R^1 is H or together with R^3 forms a β -epoxide or R^1 is absent if there is a 5-10 or 4-5 double bond; R^2 is (C₁-C₅)alkyl or CF₃; R^3 is β H, β CH₃ or together with R^1 forms a β -epoxide or R^3 is absent if there is a 5-10 double bond; Y is [OH, H], =O, [OH, lower alkyl], [OH, (C₂-C₅)alkenyl], [OH, (C₂-C₅)alkynyl] or (C₁-C₅)alkylidene, whereby said alkyl, alkenyl, alkynyl and alkylidene is optionally halogenated; dotted lines represent an optional double bond, or prodrugs thereof for the treatment of arthritic diseases and/or autoimmune diseases.

51

TRADUCCION: Se traduce la carátula, descripción y las reivindicaciones anexas a una copia de la solicitud de patente europea Nº 99204000.6., escrita en inglés para el invento denominado: **DERIVADOS DE 3-METILENO ESTEROIDES.**

A N E X O S

OFICINA DE PATENTES EUROPEA

Certificado

Los documentos adjuntos son copias exactas de la solicitud de patente europea descrita en la siguiente página, como fue presentada originalmente.

Solicitud de patente Nº. 99204000.6

Por el Presidente de la Oficina de Patentes Europea

(Firmado Ilegible)

I.L.C. HATTEN-HECKMAN

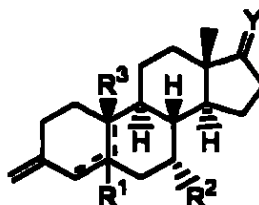
La Haya, 20/11/00

DERIVADOS DE 3-METILENO ESTEROIDES

La invención se refiere a nuevos derivados de 3-metileno esteroides con efectos terapéuticos, y a la preparación de preparados farmacéuticos que comprenden un 3-alquilideno esteroide.

Los esteroides con sustituyentes metileno en la posición 3 del esqueleto del esteroide y dobles enlaces 1-2 ó 4-5 son conocidos y reivindicados como útiles para el uso terapéutico (patentes belgas BE 696.235 y BE 654.772, respectivamente). La supuesta indicación médica se debe a acciones anabólicas, estrogénicas y progestogénicas. Ninguno de estos compuestos ha cumplido con las expectativas para tal uso, y no había ninguna expectativa para su utilidad como medicamentos en otras áreas, a pesar de que muchas enfermedades todavía son tratadas en forma poco satisfactoria con los fármacos actualmente disponibles. Notablemente, las enfermedades del sistema inmune, tales como artritis reumatoidea y enfermedades autoinmunes, necesitan de mejores fármacos. Los agentes corticosteroides son de alguna utilidad en el tratamiento de estas enfermedades, pero se necesitan mejoras, tanto con respecto a la eficacia como al número o severidad de los efectos secundarios.

Esta invención proporciona derivados de 3-metilen esteroides y profármacos de los mismos, cuyos derivados de esteroides tienen la fórmula general 1



Fórmula 1

donde

R^1 es H o junto con R^3 forma un β -epóxido, o bien R^1 está ausente si hay un doble enlace 5-10 ó 4-5;

R^2 es (C_1-C_5) alquilo ó CF_3 ;

R^3 es βH , βCH_3 o junto con R^1 forma un β -epóxido, o bien R^3 está ausente si hay un doble enlace 5-10;

Y es [OH, H], =O, [OH, alquilo inferior], [OH, (C_2-C_5) -alquenilo], [OH, (C_2-C_5) alquinilo] ó (C_1-C_6) alquilideno, donde dicho alquilo, alquenilo, alquinilo y alquilideno está opcionalmente halogenado;

las líneas de puntos representan un doble enlace opcional.

El uso de los compuestos definidos por la fórmula 1 es para la inmunomodulación en los mamíferos. Un compuesto de esta invención puede usarse, en particular, en el tratamiento de enfermedades artríticas tal como artritis reumatoídea (RA) y enfermedades autoinmunes (AIDs) tales como síndrome de Sjögren y lupus eritematoso sistémico (SLE). También puede usarse profilácticamente para estas enfermedades. Además, un compuesto de acuerdo con esta invención puede usarse para la preparación de medicamentos que comprenden un compuesto de esta invención como un constituyente activo.

En esta descripción, los términos tienen el siguiente significado:

Un alquilo inferior es un grupo alquilo ramificado o no ramificado que de preferencia tiene 1-6 átomos de carbono, como hexilo, isobutilo, butilo terciario, propilo, isopropilo, etilo y metilo.

(C₁-C₅)alquilo es un grupo alquilo ramificado o no ramificado que tiene 1-5 átomos de carbono, por ejemplo metilo, etilo, isopropilo, butilo, sec-butilo, ter-butilo, etc.

(C₂-C₅)alquenilo es un grupo alquenilo ramificado o no ramificado que tiene 2 a 5 átomos de carbono, tal como etenilo, 2-butenilo, etc.

(C₂-C₅)alquinilo es un grupo alquinilo ramificado o no ramificado que tiene 2-5 átomos de carbono, tal como etinilo y propinilo, etc.

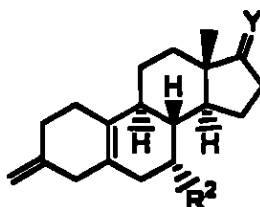
(C₁-C₅)alquilideno es un grupo alquilideno ramificado o no ramificado que tiene 1-5 átomos de carbono, tal como metenilo, butilideno, etc.

Halógeno es flúor, cloro, bromo y yodo.

Profármacos son compuestos que están destinados a formar un compuesto de la invención en el cuerpo de un receptor del tratamiento. En general, estos profármacos pueden ser ésteres o éteres de la función 17-hidroxilo.

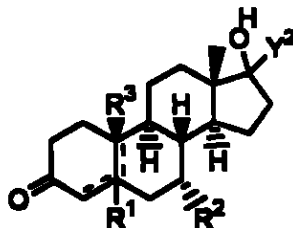
Una modalidad preferida de esta invención es un compuesto como el descrito más arriba, que tiene un doble enlace 5-10. El más preferido es el compuesto (7 α ,17 α)-7-metil-3-metilen-19-norpregn-5(10)-en-20-in-17-ol.

Los compuestos epóxidos (R1 y R3 juntos forman β -O-) de esta invención pueden prepararse por oxidación de un compuesto que tiene la fórmula 2, donde los símbolos tienen los significados definidos más arriba, con ácido meta-cloroperoxibenzoico.



Fórmula 2

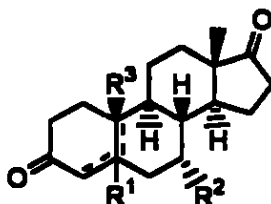
El grupo 3-metileno en un compuesto de la invención puede obtenerse efectuando una reacción de Wittig usando bromuro de metiltrifenilfosfonio y t-butoxido de potasio con los 3-ceto esteroides precursores correspondientes, caracterizados por la fórmula 3, donde Y^2 es como Y, definido anteriormente, excepto que no es =O, y los otros símbolos tienen los significados definidos anteriormente.



Fórmula 3

Los compuestos 17-alquilidenos de la invención pueden prepararse por una reacción de Wittig de un 3-cetal derivad del 17-ceto derivado de acuerdo con la fórmula 4, donde los símbolos

tienen los significados definidos anteriormente, con un bromuro de alquiltrifenilfosfonio, seguido por la hidrólisis de la función 3-cetal.

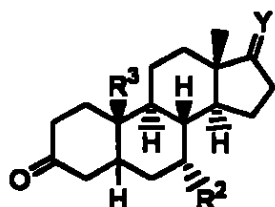


Fórmula 4

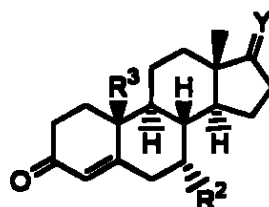
Los reactivos indicados más arriba para la transformación de los compuestos de partida y sus formas de reaccionar con los compuestos son conocidos en el arte, pero no han sido aplicados todavía al grupo de compuestos que deben prepararse para obtener los compuestos de la invención. Los materiales de partida pueden obtenerse por métodos descritos en la literatura. Una referencia específicamente relevante es Van Vliet y colaboradores, Recl.Trav.Chim.Pays-Bas; EN; 105; 4; 1986; 111-115, cuyo texto se incorpora en esta descripción a modo de referencia. Notablemente, se describe allí que los 17-alquil-3-ceto-derivados de acuerdo con la fórmula 3, donde Y^2 es [OH, alquilo inferior] y los otros símbolos tienen los significados definidos anteriormente, pueden obtenerse por hidrogenación catalítica, por ejemplo con PtO_2/H_2 , de un compuesto de acuerdo con la fórmula 3, donde Y^2 es [OH, alquenoilo] u [OH, alquinilo], y los otros símbolos tienen los significados definidos anteriormente.

Derivados de acuerdo con la fórmula 5 pueden obtenerse por purificación a partir de una mezcla de compuestos formados después de la reducción de Birch del 4-en-3-ona derivado de

acuerdo con la fórmula 6, donde tanto en la fórmula 5 como en la fórmula 6, los símbolos tienen los significados definidos anteriormente.

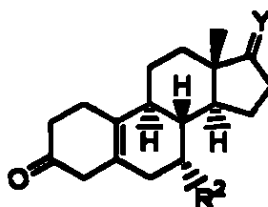


Fórmula 5



Fórmula 6

Un 4-en-3-ona derivado de acuerdo con la fórmula 6, donde R^3 es H y los otros símbolos tienen los significados definidos anteriormente, puede obtenerse a partir de un compuesto de acuerdo con la fórmula 7 por isomerización del doble enlace (de acuerdo con los métodos descritos en van Vliet).



Fórmula 7

Un 4-en-3-ona derivado de acuerdo con la fórmula 6, donde R^3 es metilo y los otros símbolos tienen los significados definidos anteriormente, puede obtenerse de acuerdo con los métodos descritos en Grunwell y colaboradores, Steroids Vol. 27, páginas 759-771, 1976, cuya publicación se incorpora aquí por referencia.

Otros métodos para obtener compuestos de acuerdo con la fórmula 7 como materiales de partida, pueden usarse como se describe en van Vliet y colaboradores, 1986.

La presente invención también se refiere a una composición farmacéutica que comprende el compuesto esteroide de acuerdo con la invención, mezclado con uno o más auxiliares farmacéuticamente aceptables, como se describe en la referencia estándar Gennaro y colaboradores, "Remington's Pharmaceutical Sciences", (18a. Ed., Mack Publishing Company, 1990, véase especialmente Parte 8: Pharmaceutical Preparations and Their Manufacture). Una mezcla de uno o más de los compuestos esteroides de acuerdo con la invención y uno o más auxiliares farmacéuticamente aceptables, puede ser comprimida a unidades de dosificación sólidas, tales como píldoras o tabletas, o puede ser procesada para formar cápsulas o supositorios. Por medio de líquidos farmacéuticamente adecuados, los compuestos también pueden ser aplicados como un preparado inyectable en la forma de una solución, suspensión, emulsión, o como un rocío, por ejemplo un rocío nasal. Para fabricar unidades de dosificación, por ejemplo tabletas, se contempla el uso de aditivos convencionales tales como rellenos, colorantes, aglutinantes poliméricos y similares. En general, puede usarse cualquier aditivo farmacéuticamente aceptable que no interfiera con la función de los compuestos activos. Los compuestos esteroides de la invención también pueden ser incluidos en un implante, un parche, un gel, y cualquier otro preparado para liberación sostenida.

Vehículos adecuados con los cuales pueden administrarse las composiciones incluyen lactosa, almidón, derivados de celulosa y similares, o mezclas de los mismos, usados en cantidades adecuadas.

En otro aspecto, la invención se refiere al uso del compuesto esteroide de acuerdo con la invención para la fabricación de un medicamento para la modulación del sistema inmune de un mamífero. Más específicamente, la invención se refiere al uso del compuesto esteroide de acuerdo con la invención para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de enfermedades artríticas tal como artritis reumatoídea (RA) y enfermedades autoinmunes (AIDs) tales como síndrome de Sjögren y lupus eritematoso sistémico (SLE). Estos medicamentos también pueden ser preparados para el uso profiláctico para estas enfermedades. El medicamento de preferencia se hace adecuado, en particular para el tratamiento de seres humanos, cumpliendo con los reglamentos de las autoridades sanitarias en diversos países.

Además, la invención se refiere al tratamiento de enfermedades artríticas tal como artritis reumatoídea (RA) y enfermedades autoinmunes (AIDs) tales como síndrome de Sjögren y lupus eritematoso sistémico (SLE), que comprende la administración a un paciente de un compuesto como el descrito anteriormente (en una forma de dosificación farmacéutica adecuada).

Las cantidades de dosificación de los presentes esteroides estarán en el rango de 0,001 a 100 mg por administración a un sujeto que necesita el tratamiento. En

consecuencia, las unidades de dosificación para el uso práctico de un compuesto de esta invención pueden contener una cantidad de ingrediente activo en el rango de 0,001 a 100 mg.

Las propiedades inmuno-moduladoras de un compuesto de esta invención pueden ser demostradas y usadas en los siguientes procedimientos.

En el procedimiento de hipersensibilidad de tipo retardada (DTH), el efecto de un compuesto en el desarrollo de una reacción inmune puede ser observado en ratones (los detalles se dan en el Ejemplo 9). En breve, el compuesto es administrado diariamente y los animales son inmunizados posteriormente con un antígeno en un adyuvante. Después de 7 días, los animales son desafiados localmente inyectando el antígeno localmente (principalmente en la pata) y midiendo la hinchazón local que se desarrolla posteriormente en respuesta al depósito del antígeno. El grado de esta hinchazón está relacionado con el desarrollo de una respuesta inmune contra el antígeno que la produce. La acción inhibidora de un compuesto de esta invención sobre el desarrollo de esta hinchazón puede determinarse comparando el grupo con tratamiento con un grupo tratado con placebo. Como tratamiento de referencia, puede usarse la administración de glucocorticoides.

El efecto de un compuesto de esta invención también fue ensayado en ratones artríticos.

En este procedimiento, los ratones son inmunizados con colágeno tipo II, principalmente de cartílago de bovino, en un adyuvante. Después de tres semanas, se da una inyección de refuerzo con el mismo antígeno. Aproximadamente 7-10 días

después del refuerzo, puede observarse la reacción de edema en las articulaciones (especialmente en las patas delanteras y traseras). Esta hinchazón aumenta rápidamente, lo que lleva a enrojecimiento, inflamación y distorsión de la función normal. En un análisis por rayos X, puede observarse una desorganización de la arquitectura normal de la articulación. En un examen histológico de estas articulaciones, puede observarse una inflamación severa que conduce a una desorganización de la arquitectura normal del cartilago. El grado de las alteraciones observables puede ser calificado con un puntaje; además, el grado de las alteraciones histológicas también puede ser calificado con un puntaje.

Además, el efecto de un compuesto de esta invención puede observarse en ratones diabéticos no obesos (NOD).

En este procedimiento, los ratones espontánea y gradualmente desarrollan enfermedades autoinmunes con síntomas que se asemejan a los de la diabetes mellitus insulino dependiente (IDDM) humana y el síndrome de Sjögren.

El síndrome de Sjögren se caracteriza por el desarrollo de infiltraciones en las glándulas salivales y lacrimales. En ratones NOD, especialmente la glándula salival se caracteriza por el desarrollo gradual de infiltraciones. Un compuesto de esta invención inhibe, en forma dependiente de la dosis, el desarrollo de estas infiltraciones en las glándulas submandibulares.

La IDDM se caracteriza por el desarrollo de infiltraciones en el páncreas, lo que lleva a la destrucción de los islotes de Langerhans que producen insulina. Después de la

destrucción gradual de todos estos islotes, ya no hay producción de insulina presente, lo que da como resultado el desarrollo de la IDDM.

Los siguientes ejemplos ilustran la invención.

Ejemplo 1

Preparación de (7 α ,17 α)-7-metil-3-metilen-19-norpregn-5(10)-en-20-in-17-ol

Bromuro de metiltrifenilfosfonio (26,4 g, 73,9 mmoles) fue agregado a una solución agitada de t-butóxido de potasio (7,9 g, 70,4 mmoles) en 130 mL de THF seco, bajo una atmósfera de nitrógeno. La suspensión amarilla fue agitada por 45 minutos a temperatura ambiente. Una solución de 20 g, 64 mmoles de tibolona en 200 mL de THF seco fue agregada rápidamente (en aproximadamente 30 segundos) a la suspensión, resultando una reacción ligeramente exotérmica (de 20°C a 33°C). La mezcla de reacción amarilla fue agitada por 30 minutos a temperatura ambiente, vertida en agua helada (700 mL) y extraída con acetato de etilo (700 mL). La capa orgánica fue lavada con agua (300 mL), secada (Na₂SO₄) y evaporada a sequedad, para dar 41,8 g de un aceite amarillo. La cromatografía en columna, usando tolueno/acetato de etilo 95/5 (v/v %) como eluyente, dio 19,5 g de un aceite incoloro que contenía aproximadamente 90% de (7 α ,17 α)-7-metil-3-metilen-19-norpregn-5(10)-en-20-in-17-ol y 10% del Δ^4 derivado isomérico. La recristalización (3 veces) usando heptano/éter de petróleo como solvente dio el compuesto

del título (6,44 g, rendimiento 32%) como un sólido blanco, p.f. 91,6°C.

Ejemplo 2

Preparación de (7 α ,17 β)-7-metil-3-metilenestr-5(10)-en-17-ol

Bromuro de metiltrifenilfosfonio (4,21 g, 11,8 mmoles) fue agregado a una solución agitada de t-butóxido de potasio (1,26 g, 11,2 mmoles) en 20 mL de THF seco, bajo una atmósfera de nitrógeno. La suspensión amarilla fue agitada por 45 minutos a temperatura ambiente. Una solución de (7 α ,17 β)-7-metil-3-cetoestr-5(10)-en-17-ol (3,4 g, 11,8 mmoles) en 25 mL de THF seco, fue agregada rápidamente a la suspensión. La mezcla de reacción amarilla fue agitada por 30 minutos a temperatura ambiente, vertida en agua helada y extraída con acetato de etilo. La capa orgánica fue lavada con agua, secada (Na₂SO₄) y evaporada a sequedad, para dar 5,3 g del compuesto del título como un aceite amarillo. La cromatografía en columna, usando tolueno/acetato de etilo 95/5 (v/v %) como eluyente, dio 2,3 g de un aceite incoloro. La cristalización usando heptano/éter de petróleo dio (7 α ,17 β)-7-metil-3-metilenestr-5(10)-en-17-ol (1,47 g, 44%) como un sólido blanco, p.f. 111,8°C.

Ejemplo 3

Preparación de (5 β ,7 α ,17 α)-5,10-epoxi-7-metil-3-metilen-19-norpregn-20-in-17-ol

El compuesto (7 α ,17 α)-7-metil-3-metilen-19-norpregn-5(10)-en-20-in-17-ol (390 mg, 1,26 mmol), obtenido de acuerdo con el Ejemplo 1, fue agitado en 15 mL de diclorometano seco

bajo una atmósfera de nitrógeno. La solución fue enfriada hasta 0°C y se le agregó ácido meta-cloroperoxibenzoico (mcpba, 1,26 mmol, 310 mg, 70%). La mezcla de reacción fue agitada por 2 horas a 0°C, lavada con una solución saturada de tiosulfato de sodio, una solución saturada de bicarbonato de sodio y una solución saturada de cloruro de sodio, secada (Na₂SO₄) y evaporada a sequedad, para dar 450 mg de (5β,7α,17α)-5,10-epoxi-7-metil-3-metilen-19-norpregn-20-in-17-ol crudo. La cromatografía en columna, usando heptano/acetato de etilo 95/5 (v/v %) como eluyente, dio el compuesto del título purificado (150 mg, 37%) como una espuma.

Ejemplo 4

Preparación de (5β,7α,17β)-5,10-epoxi-7-metil-3-metilenestran-17-ol

El compuesto (7α,17β)-7-metil-3-metilenestr-5(10)-en-17-ol (350 mg, 1,22 mmol), obtenido de acuerdo con el Ejemplo 2, fue agitado en 15 mL de diclorometano seco bajo una atmósfera de nitrógeno. La solución fue enfriada hasta 0°C y enseguida se le agregó ácido meta-cloroperoxibenzoico (mcpba, 1,22 mmol, 301 mg, 70%). La mezcla de reacción fue agitada por 75 minutos a 0°C, lavada con una solución saturada de tiosulfato de sodio, una solución saturada de bicarbonato de sodio y una solución saturada de cloruro de sodio, secada (Na₂SO₄) y evaporada a sequedad, para dar 370 mg de (5β,7α,17β)-5,10-epoxi-7-metil-3-metilenestran-17-ol crudo. La cromatografía en columna, usando heptano/acetato de etilo 95/5 (v/v %) como eluyente, di el compuesto del título más purificado (230 mg, 63%). La

cristalización, usando heptano/acetato de etilo 95/5 (v/v %), dio el compuesto del título purificado (120 mg, 33%) como un sólido blanco, p.f. 125°C.

Ejemplo 5

Preparación de (5 α ,7 α ,17 α)-7-metil-3-metilen-19-norpregn-20-en-17-ol

Bromuro de metiltrifenilfosfonio (688 mg, 1,93 mmol) fue agregado a una solución agitada de t-butóxido de potasio (196 mg, 1,75 mmol) en 2 mL de THF seco, bajo una atmósfera de nitrógeno. La suspensión amarilla fue agitada por 45 minutos a temperatura ambiente. Una solución de (5 α ,7 α ,17 α)-7-metil-3-ceto-19-norpregn-20-en-17-ol (220 mg, 0,7 mmol) en 3 mL de THF seco, fue agregada rápidamente a la suspensión. La mezcla de reacción amarilla fue agitada por 2,5 horas a temperatura ambiente, vertida en agua helada y extraída con acetato de etilo. La capa orgánica fue lavada con agua, secada (Na₂SO₄) y evaporada a sequedad, para dar 500 mg de un aceite. La cromatografía en columna, usando tolueno/acetato de etilo 95/5 (v/v %) como eluyente, dio 200 mg de (5 α ,7 α ,17 α)-7-metil-3-metilen-19-norpregn-20-en-17-ol crudo. La cristalización en heptano dio el compuesto del título purificado (120 mg, 55%) como un sólido blanco, p.f. 105°C.

Ejemplo 6

Preparación de (5 α ,7 α ,17 α)-7-metil-3-metilen-19-norpregn-20-in-17-ol

Bromuro de metiltrifenilfosfonio (1,85 g, 5,18 mmoles) fue agregado a una solución agitada de t-butoxido de potasio (527 mg, 4,7 mmoles) en 4 mL de THF seco, bajo una atmósfera de nitrógeno. La suspensión amarilla fue agitada por 45 minutos a temperatura ambiente. Una solución de (5 α ,7 α ,17 α)-7-metil-3-ceto-19-norpregn-20-in-17-ol (590 mg, 1,88 mmol) en 8 mL de THF seco, fue agregada rápidamente a la suspensión. La mezcla de reacción amarilla fue agitada por 2,5 horas a temperatura ambiente, vertida en agua helada y extraída con acetato de etilo. La capa orgánica fue lavada con agua, secada (Na₂SO₄) y evaporada a sequedad, para dar 1,8 g de un aceite. La cromatografía en columna, usando tolueno/acetato de etilo 95/5 (v/v %) como eluyente, dio 590 mg de (5 α ,7 α ,17 α)-7-metil-3-metilen-19-norpregn-20-in-17-ol crudo. La cristalización en heptano dio el compuesto del título purificado (290 mg, 50%) como un sólido blanco, p.f. 97°C.

Ejemplo 7

Preparación de (5 β ,7 α ,17 α)-7-metil-3-metilen-19-norpregnan-17-ol

Bromuro de metiltrifenilfosfonio (5,4 g, 15,1 mmoles) fue agregado a una solución agitada de t-butoxido de potasi (1,62 g, 14,4 mmoles) en 27 mL de THF seco, bajo una atmósfera de nitrógeno. La suspensión amarilla fue agitada por 40 minutos a temperatura ambiente. Una solución de (5 β ,7 α ,17 α)-7-metil-3-ceto-19-norpregnan-17-ol (4,56 g, 14,4 mmoles) en 50 mL de THF seco, fue agregada rápidamente a la suspensión. La mezcla de reacción amarilla fue agitada por 30 minutos a temperatura ambiente, vertida en agua helada y extraída con acetato de

etilo. La capa orgánica fue lavada con agua y solución salina, secada (Na_2SO_4) y evaporada a sequedad, para dar 8,2 g de un aceite. La cromatografía en columna, usando tolueno/acetato de etilo 95/5 (v/v %) como eluyente, dio (5 β ,7 α ,17 α)-7-metil-3-metilen-19-norpregnan-17-ol (3,65 g, 81%) que solidificó al dejarlo reposar, p.f. 104°C.

Ejemplo 8

Preparación de (7 α)-7-metil-3,17-dimetilenestr-5(10)eno

Bromuro de metiltrifenilfosfonio (2,2 g, 6 mmoles) fue agregado a una solución agitada de t-butóxido de potasio (680 mg, 6 mmoles) en 25 mL de THF seco, bajo una atmósfera de nitrógeno. La suspensión amarilla fue agitada por 30 minutos a temperatura ambiente. Una solución de (7 α)-7-metil-3,17-dicet-estr-5(10)eno (850 mg, 3 mmoles) en 25 mL de THF seco, fue agregada rápidamente (en aproximadamente 30 segundos) a la suspensión, resultando una reacción ligeramente exotérmica. La mezcla de reacción fue agitada por 30 minutos a temperatura ambiente, vertida en agua helada (100 mL) y extraída con acetato de etilo (100 mL). La capa orgánica fue lavada con agua (50 mL), secada (Na_2SO_4) y evaporada a sequedad, para dar (7 α)-7-metil-3,17-dimetilenestr-5(10)eno (680 mg, 80%) como un aceite incoloro.

Ejemplo 9

Reacción de hipersensibilidad de tipo retardada (DTH).

Se usaron grupos de ocho ratones Balb/c hembras (Harlan, Zeist, Holanda), de aproximadamente 8 semanas de edad

porcentaje de hinchazón de la pata específica para el antígeno fue calculado de acuerdo con la fórmula: $[(R - L)/L] \times 100\%$.

Resultados

Compuesto	Cantidad de compuesto en mg/kg administrado sc que lleva a un 50% de reducción de la reacción DTH, comparado con el placebo
Ejemplo 1	1,9-3,4
Ejemplo 2	20
Ejemplo 3	11
Ejemplo 4	> 20
Ejemplo 5	10
Ejemplo 7	6

Ejemplo 17

Ratones diabéticos no obesos (NOD)

Los ratones NOD usados fueron ya sea criados en casa (las parejas para la crianza fueron obtenidas originalmente de Hattori, Boston, EE.UU, en la generación 58) o bien obtenidos de Bomholtgård (Dinamarca) de 6-7 semanas de edad.

Sólo se usaron ratones hembra para evaluar los efectos de los compuestos en el desarrollo de la sialoadenitis espontánea, caracterizada por infiltraciones de leucocitos en las glándulas submandibulares.

Grupos de 6-8 ratones hembra fueron alojados bajo condiciones estándar y tratados una vez al día (ya sea por vía

sc. u oral) desde la semana 8 hasta las 14 ó 20 semanas de edad con 0,1 mL de compuesto (concentración 1,2, 4 ó 12 mg/kg/día) o placebo (sólo vehículo) o no fueron tratados. Desde la semana 12 en adelante, fueron analizados semanalmente para determinar la presencia de glucosa urinaria (Diabur-test 5000, Boehringer Mannheim).

En la semana 8 (grupo pre-tratamiento) o en la semana 14 ó 20, respectivamente después de 6 ó 12 semanas de tratamiento, se mataron los animales bajo anestesia con éter; los órganos se retiraron, se les quitó la grasa y se pesaron. Las glándulas submandibulares fueron fijadas en sublimado-formol por 18-24 horas y transferidas a alcohol al 70%. Secciones de tejido fueron embebidas en parafina y teñidas con HE de acuerdo con métodos estándar. El análisis de las secciones de tejido para determinar infiltraciones fue efectuado microscópicamente por dos observadores independientes, de acuerdo con métodos estándar. La actividad de los compuestos de esta invención puede ser demostrada en esta prueba.

Ejemplo 11

Artritis de colágeno

Ratones hembra DBA-1J/BOM fueron comprados a Bomholtgård, Dinamarca. Todos los animales fueron alojados bajo condiciones estándar y aclimatados durante al menos 7 días.

A la edad de 10-12 semanas, todos los animales fueron inmunizados intradérmicamente en la base de la cola con 100 µg de una emulsión de colágeno de bovino purificado tipo II [CII] (2 mg/mL en 0,05 de ácido acético) emulsificado en volúmenes

iguales de Adyuvante Completo de Freund (CFA, que contenía 4 mg/mL de MT H37Ra, Difco Laboratories, Detroit, EE.UU.). 21 días después de la inmunización, se administró por vía intraperitoneal una inyección de refuerzo de 100µg de CII disuelto en solución salina. El tratamiento fue administrado una vez al día comenzando el día 1 (el día antes de la inmunización) hasta la autopsia el día 44.

Grupos consistentes en 9 a 10 animales fueron tratados ya sea con compuesto de prueba (1,5 mg/kg/día diariamente hasta el día 22, desde ese día en adelante se redujo a 3 veces a la semana), o ciclosporina A (100 mg/kg/día inicialmente, desde el día 4, 20 mg/kg), o dexametasona (2 mg/kg/día), o vehículo (5% de Mulgofen (EL 719, GAF) en solución salina). Se incluyó un grupo no tratado de control.

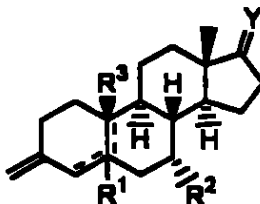
Los ratones fueron pesados todas las semanas, y la actividad de artritis clínica (apariciencia visual de artritis en las articulaciones periféricas) fue calificada (de acuerdo con métodos estándar) por un observador que no estaba en conocimiento del tratamiento dado, desde el día 19 en adelante cada 2-3 días, hasta la autopsia el día 44.

La artritis clínica fue calificada en una escala de 0-2 por pata y expresada como un puntaje acumulativo de artritis por ratón, con un puntaje máximo de 8. Al final del experimento, las articulaciones de rodilla y tobillo fueron aisladas y usadas para el análisis de rayos X como un marcador para la destrucción de hueso, seguido por la fijación inmediata en formaldehído al 4% para el estudio histológico.

Las fotografías de rayos X fueron examinadas cuidadosamente usando un microscopio estereoscópico, y la destrucción de hueso de las articulaciones fue calificada en una escala de 0-5 de acuerdo con métodos estándar, en un rango desde no dañado hasta destrucción completa. La actividad de los compuestos de esta invención puede ser demostrada en esta prueba.

76
72REIVINDICACIONES

1. Un derivado de 3-metileno esteroide que tiene la fórmula general 1



Fórmula 1

donde

R^1 es H o junto con R^3 forma un β -epóxido, o bien R^2 está ausente si hay un doble enlace 5-10 ó 4-5;

R^2 es (C₁-C₅)alquilo ó CF₃;

R^3 es β H, β CH₃ o junto con R^1 forma un β -epóxido, o bien R^3 está ausente si hay un doble enlace 5-10;

Y es [OH, H], =O, [OH, alquilo inferior], [OH, (C₂-C₅)-alquenilo], [OH, (C₂-C₅)alquinilo] ó (C₁-C₆)alquilideno, donde dicho alquilo, alquenilo, alquinilo y alquilideno está opcionalmente halogenado;

las líneas de puntos representan un doble enlace opcional;

o profármacos del mismo,

con la salvedad de que el derivado de 3-metileno esteroide n es ninguno de la lista

(7 α ,17 β)-7 α -metil-3-metilen-4-estren-17-ol,

(7 α ,17 α)-7-metil-3-metilen-19-norpregn-4-en-17-ol,

(7 α ,17 α)-7-metil-3-metilen-19,21-dinorpregn-4-en-17-ol,

(7 α)-17-ceto-7-metil-3-metilen-4-estreno,

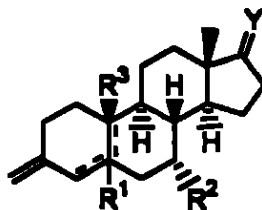
(7 α ,17 α)-7-metil-3-metilen-19-norpregn-4-en-20-in-17-ol,
17 β -hidroxi-7 α -metil-3-metilen-17 α -propen-2-il-4-estreno, y
17 β -hidroxi-7 α -metil-3-metilen-17 α -buten-2-il-4-estreno.

2. Un derivado de 3-metileno esteroide de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizado porque el derivado de 3-metileno esteroide tiene un doble enlace 5-10 y R¹ y R³ están ausentes.

3. El derivado de 3-metileno esteroide (7 α ,17 α)-7-metil-3-metilen-19-norpregn-5(10)-en-20-in-17-ol.

4. Un derivado de 3-metileno esteroide de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-3, para el uso como un medicamento.

5. El uso de un derivado de 3-metileno esteroide que tiene la fórmula general 1



Fórmula 1

donde

R¹ es H o junto con R³ forma un β -epóxido, o bien R¹ está ausente si hay un doble enlace 5-10 ó 4-5;

R² es (C₁-C₅)alquilo ó CF₃;

R³ es β H, β CH₃ o junto con R¹ forma un β -epóxido, o bien R³ está ausente si hay un doble enlace 5-10;

Y es [OH, H], =O, [OH, alquilo inferior], [OH, (C₂-C₅)-alquenilo], [OH, (C₂-C₅)alquinilo] ó (C₁-C₆)alquilideno, donde dicho alquilo, alquenilo, alquinilo y alquilideno está opcionalmente halogenado;

las líneas de puntos representan un doble enlace opcional;

o profármacos del mismo, para la preparación de un medicamento para el tratamiento y/o profilaxis de enfermedades artríticas y/o enfermedades autoinmunes.

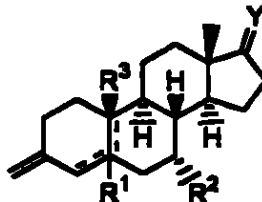
6. Un método de tratamiento y/o prevención de enfermedades artríticas y/o enfermedades autoinmunes por administración de un derivado de 3-metileno esteroide como el definido en la reivindicación 5, a un paciente que necesita dicho tratamiento o prevención.

24
75

802.364Pr

Resumen

La invención se refiere a un derivado de 3-metileno esteroide que tiene la fórmula general 1



Fórmula 1

donde R^1 es H o junto con R^3 forma un β -epóxido, o bien R^1 está ausente si hay un doble enlace 5-10 ó 4-5; R^2 es (C₁-C₅)-alquilo ó CF₃; R^3 es β H, β CH₃ o junto con R^1 forma un β -epóxido, o bien R^3 está ausente si hay un doble enlace 5-10; Y es [OH, H], =O, [OH, alquilo inferior], [OH, (C₂-C₅)-alquenilo], [OH, (C₂-C₅)alquinilo] ó (C₁-C₆)alquilideno, donde dicho alquilo, alquenilo, alquinilo y alquilideno está opcionalmente halogenado; las líneas de puntos representan un doble enlace opcional, o profármacos del mismo, para el tratamiento de enfermedades artríticas y/o enfermedades autoinmunes.

80
76

NIT : 800176089-2

SUPERINDUSTRIA Y COMERCIO
Radicación : 6399988 00000000 Folios: 80
Fecha (MCO): 2023-11-28 16:53:41
Trámite : C02 PATENTES D 1 REGISTRAR/ 411 PRESENTAR
Dependencia: 2020 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 70,295
FECHA : NOVIEMBRE 14 DE 2000

***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	SUCURSAL	CUENTA	No. PAGO	Vr. PAGO
CAVELIER ABOGADOS	CONSIGNACION	BANCO POPULAR	BOGOTA	050-00110-6	2825229	40,023,000.00

***** CONCEPTO *****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-01	SOLICITUDES	
1		TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE IN	608,000.00
		TOTAL :	\$ 608,000.00

SON: SEISCIENTOS OCHO MIL PESOS

RESPONSABLE : _____

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

Colo 11214-809-021-1

08

REQUISITOS MINIMOS PARA ADMISION A TRAMITE

PATENTE DE INVENCION [X]

MODELO DE UTILIDAD []

- | | | |
|---|----|-----|
| • Nombre e identificación del Solicitante | 1 | [X] |
| • Nombre e identificación del Inventor | 1 | [X] |
| • Título o nombre de la Invención | 1 | [X] |
| • Descripción | 3 | [X] |
| • Reivindicaciones | 30 | [X] |
| • Resumen | 34 | [X] |
| • Comprobante de Pago | 80 | [X] |
| • Poder, cuando proceda | | [] |
| • Copia de la primera solicitud de patente, si reivindica prioridad, señalándola expresamente | | [] |
| • Firma del solicitante o apoderado | | [] |

COMPLETA []

INCOMPLETA []

DISEÑO INDUSTRIAL []

- | | |
|--|-----|
| • Nombre e identificación del peticionario | [] |
| • Nombre e identificación del inventor o diseñador | [] |
| • Indicación del género de productos para los cuales debe utilizarse | [] |
| • Representación gráfica | [] |
| • Comprobante de pago | [] |
| • Poder, cuando proceda | [] |
| • Firma del solicitante o apoderado | [] |

COMPLETA []

INCOMPLETA []

Firma Responsable

SUPERINDUSTRIA Y COMERCIO
Fe Radicación : 00070900 00000000 Folios: 00
Fecha (AMD): 2000-11-28 16:55:41
Trámite : 002 PATENTES D 1 REGISTRO/ 411 PRESENTAC
Dependencia: 2020 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

Carrera 13 No. 27-00 Piso 5 y 10
Conmutador: 334 12 21-2-3-4
Fax: 281 31 25 e-mail: info@sic.gov.co
Santa Fe de Bogotá D.C. - Colombia

2020
Bogotá, DC

82

Doctor
EMILIO FERRERO
Apoderado

REFERENCIA:	Radicación No.	00-90980
	Trámite	002
	Evento	001
	Actuación	430
	Oficio No.	0625
	Folios	001

Como resultado del examen de forma, realizado con fundamento en el artículo 38 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, se le comunica que:

- Debe allegar copia del documento en que consta la cesión del derecho a la patente otorgado por el inventor al solicitante o a su causante (art. 26-k, Dec 486/2000).

En cumplimiento del artículo 39 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, se le requiere para que dentro del término de dos (2) meses siguientes a la fecha de notificación del presente oficio, complete los requisitos anteriormente enunciados. En caso de no dar cumplimiento al presente requerimiento, la solicitud se considerará abandonada y perderá su prelación.

Notifíquese el presente oficio conforme a lo dispuesto en el artículo 8 de la Resolución Reglamentaria No. 210 del 15 de enero del 2001.


ALIX CARMENZA CÉSPEDES DE VERGEL
Jefe de la División de Nuevas Creaciones

15 MAR. 2001

El anterior requerimiento fue notificado por fijación en lista de fecha _____.

202027/202022

Carrera 13 No. 27-00 Pisos 5, 7 y 10
Conmutador: 382 0840
Fax: 382 2695
E-mail: info@sic.gov.co
Bogotá, D.C., Colombia