



DATOS DEL SOLICITANTE

(71) Nombres y Apellidos o Razón Social

PFIZER PRODUCTS INC.

No. de Identificación

Representante Legal (Persona Jurídica)

País de Domicilio

Departamento o Estado

Dirección

ESTADOS UNIDOS DE AMERICA.

ESTADO DE CONNECTICUT

EASTERN POINT ROAD, GROTON, CONNECTICUT 06340

Ciudad

Teléfono

(74) DATOS DEL APODERADO

Nombre

CARLOS R. OLARTE

Dirección

CALLE 35 No. 7-25 Piso 4

Ciudad

SANTAFE DE BOGOTÁ

Teléfono

285-14-00/570-0010

DATOS DEL INVENTOR

(72) Nombre del Inventor (es)

WESLEY WARREN DAY, ANDREW GEORGE LEE, DAVID
DUANE THOMPSON.

Identificación

Dirección

Ciudad

Teléfono

DATOS DE LA PATENTE DE INVENCION

(54) Título de la Invención
MORTALIDAD

PROCEDIMIENTO PARA REDUCIR LA MORBILIDAD Y EL RIESGO DE

PRIORIDAD REIVINDICADA

SI ☒

NO ☐

TIPO DE PRIORIDAD

ANDINA ☐

UNIONISTA ☒

(33) País

US

(32) Fecha

Enero 12, 2000

(31) No. Solicitud

60/175,663

Para Publicar a los

☐ 6 meses

☐ 12 meses

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

(51) CLASIFICACION INTERNACIONAL

A61K 31/445, 31/46

RESUMEN CON EL OBJETO Y LA FINALIDAD DE LA INVENCION

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	☒
Reserva de la tasa por concepto de excedente de palabras de la publicación	☐
Si se reivindica prioridad Andina:	
Copia de la primera solicitud	☐
Traducción oficial	☐
Si se reivindica prioridad Unionista:	
Copia certificada de la primera solicitud	☒
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	☒
Cable de reivindicatorio	☒
Tarjeta archivo propietarios según formato	☒
Tarjeta archivo temático según formato	☒
Extracto para publicación según formato	☒
Arte final 12 x 12 y 6 x 6 cms	☐
Otros Documentos	☒

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

FIRMA

NOMBRE CARLOS R. OLARTE

CC. 79.782.747 de Bogotá

T.P.No. 74.295



3

Industria y Comercio**SUPERINTENDENCIA**

NIT : 990176009 2

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 77,237
FECHA : DICIEMBRE 10 DE 2000

SUPERINDUSTRIA Y COMERCIO
Radicacion : 00097925 00000000 Folios: 293
Fecha (GMD): 2000-12-27 16:39:33
Tramite : 002 PATENTES D 1 REGISTRADO/ 411 PRESENTAC
Dependencia: 2020 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	SUCURSAL	CUENTA	No. PAGO	Vr. PAGO
JORGE LUIS GOMEZ	CONSIGNACION	BANCO POPULAR	BGOTA	050-00110-6	3149023	24,010,000.00
JORGE LUIS GOMEZ	CONSIGNACION	BANCO POPULAR	BGOTA	050-00110-6	3149024	10,000.00

***** CONCEPTO *****

CANT. HISTORICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
50005-01-01 SOLICITUDES	1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE IN	600,000.00
	TOTAL :	\$ 600,000.00

SON: SEISCIENTOS OCHO MIL PESOS

RESPONSABLE : _____

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

Camara 13 No. 27-00 Pisos 5, 7 y 10
Conmutador: 382 0840
Fax: 350 5220
e-mail: info@sic.gov.co
www.sic.gov.co
Bogotá, D.C., Colombia

RAISBECK, LARA, RODRIGUEZ & RUEDA

MIEMBROS DE LA FIRMA

BAKER & MCKENZIE

CALLE 35 No. 7-25, Piso 4

TELÉFONO: (57-1) 285-1400

SANTA FE DE BOGOTÁ, D.C.

COLOMBIA

Señores

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

E. _____ S. _____ D. _____

Re: Nueva solicitud de Patente de Invención

Titulada : "PROCEDIMIENTO PARA REDUCIR LA
MORBILIDAD Y EL RIESGO DE MORTALIDAD".

Solicitante : PFIZER PRODUCTS INC.

ALVARO CORREA ORDOÑEZ, mayor de edad y vecino de Santafé de Bogotá, D.C. identificado como aparece al pie de mi firma, actuando en mi carácter de apoderado de la sociedad de la referencia, respetuosamente, me permito manifestar que SUSTITUYO el poder a mi conferido por la mencionada sociedad en el doctor CARLOS R. OLARTE, identificado con la Cédula de Ciudadanía No. 79.782.747 de Bogotá y con la Tarjeta Profesional No. 74.295.

El apoderado sustituto queda con las mismas facultades del principal.

Atentamente,


ALVARO CORREA ORDOÑEZ
C.C. No. 79.143.366 de Usaquén
T.P. 20.281

Ante el Notario Once del Círculo de Santa Fe de Bogotá, compareció

Printed and Published by E. C. N.

expedited on Warrant Exp. 2007

y declaró que la firma y huella que aparecen en el presente memoriel son suyas y que el contenido del mismo es cierto.

Memoriai dirigida a *Interstad*

Sanluis de Bogotá, D.C.

22 DEC 2000

Firma del Declarante

HUELLA

Autorizó la sateclor Elligencia

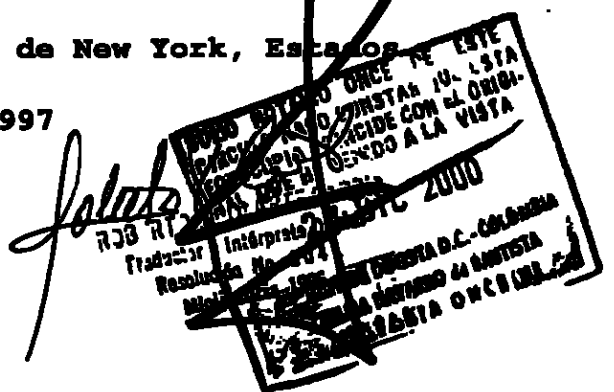
NOTARIO ONCE DEL CIRCULO DE SAN ALEJO DE BOGOTA

REPUBLICA DE COLOMBIA
NOTARIA 11 DEL CIRCULO DE
SANTAFE DE BOGOTA, D. C.

ZULMA NAVARRO DE BAUTISTA
NOTANA ONCE

PODER

A los 8 días del mes de Octubre de 1997



PFIZER PRODUCTS INC.
(Firma ilegible)
ALLEN J. SPIEGEL
Vicepresidente

Estado de nueva York)
Condado de nueva York)

SUSCRITO Y JURADO ante mí a los 8 días del mes de octubre de 1997.

Firmado John (ilegible)
JOHN ALPHONSO
Notario Público, Estado de Nueva York
No. 30-4859888
Calificado en el Condado de Nassau
Certificado Registrado en el Condado de Nueva York
Comisión expira el 19 de mayo de 1998

RECEIVED
CIRCULAR HALL CONSTATAR EN ESTA
FICHA QUE SE HA RECIBIDO EL ORIGI-
NAL QUE SE ENVIÓ A LA VISTA
RJB RT. M. O. ART. 2000
Traducción Interpretada Original
Resolución No. 001
Ministerio de Justicia y Asesoría
Legal de la Nación de Colombia
SECRETARIA ONCE

7

Raisbeck, Lara, Rodríguez
Miembros de la Firma
BAKER & MCKENZIE
Abogados
Apartado Aéreo 3746
Teléfono : 285-1400
Santa fe de Bogotá, D.C.
Colombia

CERTIFICADO NOTARIAL

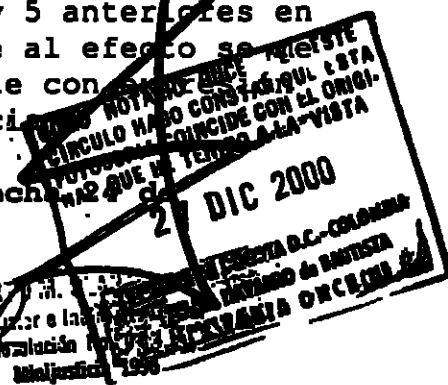
A los 8 días del mes de Octubre de 1997, el suscrito Notario

DA FE

1. Que **ALLEN J. SPIEGEL**, mayor y domiciliado en Nueva York, Estado de New York, Estados Unidos de América, suscribió de su puño y letra el siguiente documento que antecede
2. Que conozco al otorgante y que éste tiene capacidad legal para el otorgamiento.
3. Que el otorgante ha suscrito el referido documento en su carácter de Vicepresidente de la persona jurídica **PFIZER PRODUCTS INC.**
4. Que la persona jurídica **PFIZER PRODUCTS INC.** con sede en Eastern Point Road, Groton, Connecticut 06340, Estados Unidos de América está legalmente constituida, que tiene existencia legal actual y que el acto para el cual se ha otorgado el poder está comprendido entre los que constituyen su objeto social.
5. Que el otorgante efectivamente tiene la representación que ostenta y que ésta es legítima.
6. Que he basado las certificaciones 3, 4 y 5 anteriores en los siguientes documentos auténticos que al efecto se exhibieron y que menciono específicamente con sus fechas y de su origen o procedencia:

Resolución de Pfizer Products Inc. de fecha 27 de febrero de 1997.

[Firma manuscrita]



8

Firmado John (ilegible)
JOHN ALPHONSO
El Notario Público
Notario Público, Estado de Nueva York
No. 30-4859888
Calificado en el Condado de Nassau
Certificado Registrado en el Condado de Nueva York
Comisión expira el 19 de mayo de 1998-08-13

Estado de Nueva York)

)b.j.

Condado de Nueva York)

No.21320

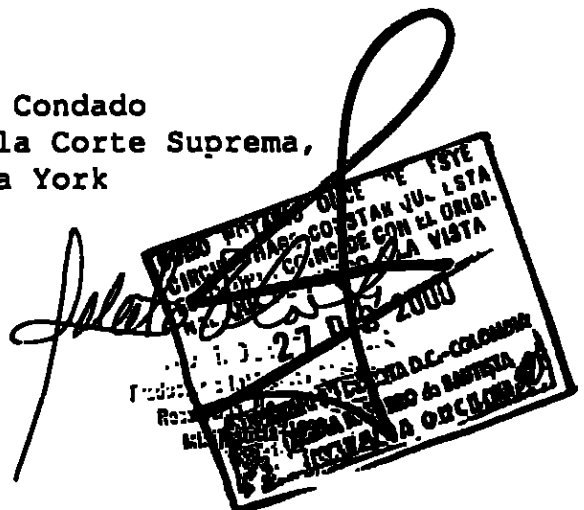
Yo, **NORMAN GOODMAN**, Funcionario del Condado y Funcionario de la Corte Suprema del Estado de Nueva York, en y para el Condado de Nueva York, una Corte de Registro, poseedor, por ley, un sello, CERTIFICO POR EL PRESENTE que

JOHN ALPHONSO

A través de quién se ejecutó el anterior reconocimiento de prueba, y cuyo nombre está suscrito en el mismo, era en el momento de ejecutar dicha prueba, un NOTARIO PUBLICO residente en el Estado de Nueva York, debidamente comisionada juramentada y autorizada por las leyes de dicho Estado, para tomar tales reconocimiento de prueba de escrituras y de otros instrumentos por escrito para ser registrados en dicho estado, y para tomar juramentos o afirmaciones en dicho Condado; que he comparado la firma de dicho NOTARIO PUBLICO con el ejemplar de su firma del archivo de mi oficina y creo firmemente que la firma del anterior certificado original es genuina.

EN TESTIMONIO DE LO CUAL, fijo mi firma y sello este 14 de octubre de 1997.

Firma ilegible
Funcionario del Condado
Funcionario de la Corte Suprema,
Condado de Nueva York



Legalización No. 148381 del Consulado de Colombia en Nueva York de la firma de Norman Goodman como Funcionario del Condado de Nueva York. Julio 31 de 1997.

Firma ilegible
Federico Mejía Mejía
Cónsul de Colombia

Legalización No. 065918 del Ministerio de Relaciones Exteriores de Colombia de la firma de Federico Mejía como Cónsul de Colombia en Nueva York, Estados Unidos de América. Santa fe de Bogotá, agosto 13 de 1998.

Firma ilegible
Jefe de Legalizaciones

Traducción Oficial, de un texto del idioma inglés.
Traducción Oficial realizada por ROBERTO M. OLARTE GARCIA,
Traductor e intérprete oficial juramentado según Resolución 0041 del Ministerio de Justicia 1996. Santa fe de Bogotá, agosto 13, 1998.

NO SE ASUME
RESPONSABILIDAD DEL TEXTO
98 AUG 18 AM 9: 53
JEFE DE LEGALIZACIONES
SANTA FE DE BOGOTA D.C.

Roberto M. Olarte Garcia
ROBERTO M. OLARTE GARCIA
Traductor e Intérprete Oficial
Resolución No. 0041
Ministerio de Justicia 1996

MINISTERIO DE RELACIONES
EXTERIORES
17381322-14
CUYA FIRMA APARECE EN EL
DOCUMENTO DESEMPEÑA
LAS FUNCIONES INDICADAS

ESTE DOCUMENTO DEBE
CONSTAR CON EL ORIGINAL
COTEJADO A LA VISTA
23 DIC 2000
SECRETARÍA DE ESTADO
CANCELERÍA



CONSULADO GENERAL DE COLOMBIA

10 EAST 46TH STREET, NUEVA YORK, NY 10017
TEL. (212) 370-0004 FAX (212) 972-1725

EL SUSCRITO CONSUL DE COLOMBIA

VISTOS LOS DOCUMENTOS PRESENTADOS POR LOS INTERESADOS

CERTIFICA:

Que el (la) Sr.(a) NORMAN GOODMAN, Clerk del Condado de New York Estados Unidos de América, certifica que JOHN ALPHONSO es Notario Público del Estado de New York y que ejercía en la fecha las funciones allí expresadas y que la firma y sellos que en el documento aparecen como suyos son los que usa y acostumbra en sus actos oficiales.

Que el notario citado autenticó el documento adjunto firmado por ALLEN J. SPIEGEL en su calidad de VICEPRESIDENTE de la firma PFIZER PRODUCTS, INC., compañía legalmente constituida y existente de acuerdo con las leyes de su país y cumple con su objeto social de acuerdo con las mismas.

Que ha tenido a la vista los documentos probatorios de los hechos citados y constatados por el Notario Público y el County Clerk de New York, los cuales forman parte integral del presente documento.

Se expide esta certificación en concordancia con el artículo 259 del Código de Procedimiento Civil y 480 del Código de Comercio a solicitud del interesado a los 31 días del mes de Julio de 1998.

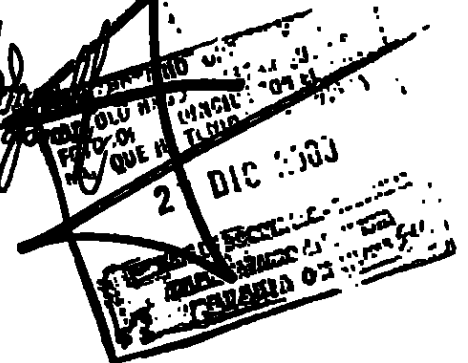
NO SE ASUME RESPONSABILIDAD POR EL CONTENIDO DE LOS DOCUMENTOS ADJUNTOS.

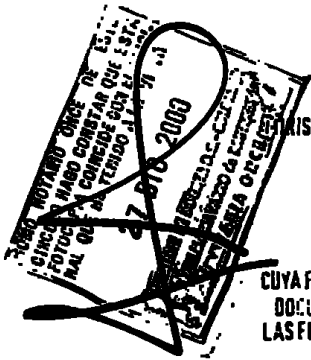
PAGADO IMPUESTO DE TIMBRE Y DERECHOS CONSULARES

VALOR CINCUENTA Y SEIS DOLARES US\$56.00 RECIBO No. 148781



Consul de Colombia





MINISTERIO DE RELACIONES
EXTERIORES

Febrero
065418

CUYA FIRMA APARECE EN:
DOCUMENTO DESEMPLE:
LAS FUNCIONES INDICAD.

NO SE ASUME
RESPONSABILIDAD DEL TEXTO

98 AUG 13 9: 15

Milly
JEFE DE LEGATIZACIONES
SANTA FE DE BOGOTÁ D.C.



State of New York
County of New York, } ss.:

NEW YORK

21320

I, NORMAN GOODMAN, County Clerk and Clerk of the Supreme Court of the State of New York, in and for the County of New York, a Court of Record, having by law a seal, DO HEREBY CERTIFY pursuant to the Executive Law of the State of New York, that

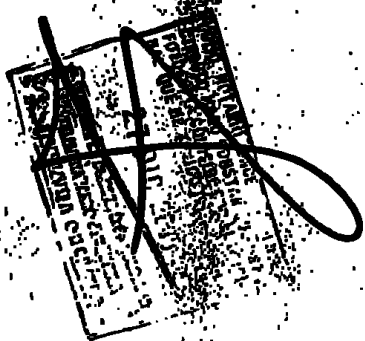
John Alphonso
whose name is subscribed to the annexed affidavit, deposition, certificate of acknowledgment or proof, was at the time of taking the same a NOTARY PUBLIC in and for the State of New York duly commissioned, sworn and qualified to act as such; that pursuant to law, a commission or a certificate of his official character, with his autograph signature has been filed in my office; that at the time of taking such proof, acknowledgment or oath, he was duly authorized to take the same; that I am well acquainted with the handwriting of such NOTARY PUBLIC or have compared the signature on the annexed instrument with his autograph signature deposited in my office, and I believe that such signature is genuine.

IN WITNESS WHEREOF, I have hereunto set my hand and affixed my official seal this

OCT 12 1997

FEE PAID \$3.00

Norman Goodman
County Clerk and Clerk of the Supreme Court, New York County



RAISBECK, LARA, RODRIGUEZ & RUEDA

Members of the Firm

BAKER & MCKENZIE

ATTORNEYS AT LAW

APARTADO AEREO 3746

TELEFONO: 285-1488

SANTAFE DE BOGOTA, D.C.

COLOMBIA

POWER OF ATTORNEY

The undersigned, PFIZER PRODUCTS INC., a corporation organized under the laws of the State of Connecticut, United States of America, located in Eastern Point Road, Groton Connecticut 06340, United States of America, declares that it hereby grants to

ALVARO CORREA ORDOÑEZ and/or
JAMES W.F. RAISBECK and/or
LUZ HELENA VILLAMIL and/or
CARLOS R. OLARTE

a full and sufficient power of attorney to apply to the proper national officers and authorities for the issue of:

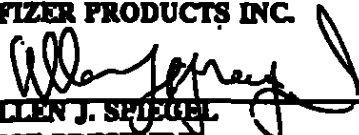
Trademark registrations, renewals, mergers, changes of name, assignments, filing and prosecution of oppositions, deposit of commercial names, changes of address.
Letters Patent, mergers, changes of name, assignments, filing and prosecution of oppositions, changes of address,

to which end it empowers them to take all steps necessary before said authorities for the objects stated, to file petitions, prepare descriptions, make protests, declarations, appeals and objections, pay imposts, apply for certifications, receive documents and securities, abandon applications and collect refunds. To the said mandatories sufficient power is granted hereby to receive notifications for and on behalf of the Company, to confer powers on those who are to represent the company judicially and extrajudicially, to answer in court in the matter of all claims and demands that may be presented in connection with the marks, and to do everything that may be required, before administrative or judicial officers of any class, giving them likewise power to substitute these presents and revoke such substitutions if necessary.

Done and subscribed in New York, New York, USA

Dated 08 October 1997

PFIZER PRODUCTS INC.


ALLEN J. SPIEGEL
VICE PRESIDENT

PODER

La abajo firmada

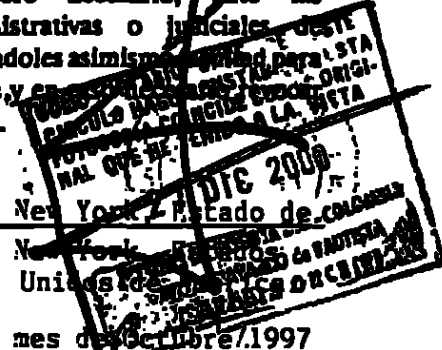
PFIZER PRODUCTS INC.

domicilada en
Eastern Point Road, Groton
Connecticut 06340,
Estados Unidos de América.

declara por el presente otorgar a
ALVARO CORREA ORDOÑEZ y/o
JAMES W. F. RAISBECK y/o
LUZ HELENA VILLAMIL y/o
CARLOS R. OLARTE

poder especial amplio y bastante para recabar de las oficinas y autoridades nacionales que correspondan, la obtención de: Registro de marcas renovaciones, fusiones, cambios de nombre, trasposos, presentación y tramitación de oposiciones, depositos de nombres comerciales, cambios de dirección, continúe tras a a cuyo efecto los faculta para dar ante dichas autoridades, todos los pasos necesarios al objeto indicado, elevar solicitudes, formular descripciones, protestas, declaraciones, apelaciones y reclamos, oblar impuestos, solicitar testimonios, recibir documentos y valores, desistir y percibir. Se concede a los expresados mandatarios poder bastante para recibir notificaciones a nombre de la compañía, otorgar poderes a quienes vayan a representar a la compañía judicial y extrajudicialmente, responder en juicio a todas las reclamaciones o demandas que por motivo de las marcas se presenten y hacer cuanto fuere necesario, ante las autoridades administrativas o judiciales, dándole orden, dándole asimismo, para la sustitución del presente, y en su caso, para la sustitución de dichas instituciones.

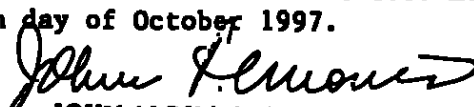
Dado y firmado en


New York, Estado de Colombia
New York, Estados Unidos de América
Unión de Repúblicas de Colombia

a los 8 días del mes de octubre 1997

State of New York)
County of New York)

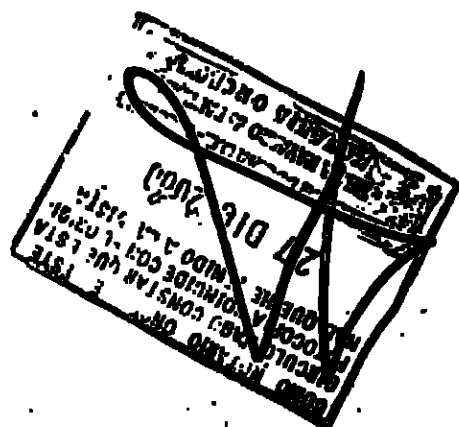
SUBSCRIBED AND SWORN to before me this
8th day of October 1997.


JOHN ALPHONSO
Notary Public, State of New York
No. 30-4859888
Qualified in Nassau County
Certificate filed in New York County
Commission Expires May 19, 1998.



* Continuación...

Registro de Patentes de Invención,
fusiones, cambios de nombre,
traspasos, presentación y
tramitación de oposiciones,
cambios de dirección.



BAKER & MCKENZIE

ATTORNEYS AT LAW

APARTADO AEREO 3748

TELEFONO: 266-1488

SANTAFE DE BOGOTA, D.C.

COLOMBIA

13

NOTARIAL CERTIFICATION

On this 8th day of October
1997, the undersigned Notary

CERTIFIES

1. That ALLEN J. SPIEGEL

of legal age and domiciled in New York, New York,
United States of America,
set his hand on the foregoing document

2. That the grantor is to me personally known and that he/she has
legal capacity to execute the instrument

3. That the grantor has executed the foregoing document
as

VICE PRESIDENT

of the juridical person

PFIZER PRODUCTS INC.

4. That the juridical person
PFIZER PRODUCTS INC.

having its home office in Eastern Point Road, Groton,
Connecticut 06340, United States of America,

is duly organized, has present existence and that the purposes for
which the power of attorney is given are within the scope of its corporate
purposes.

5. That the grantor has in fact the referred to authority and that his/her
representation is legal.

6. That I have based certifications 3, 4 and 5 above on the following authentic
documents for such purpose exhibited to me and which I mention
specifically, giving their dates and their origin or source:

Resolution of Pfizer Products Inc. dated
24 February 1997.

John Alphonso

JOHN ALPHONSO

Notary Public, State of New York
Notary No. 59888

Qualified in Nassau County
Certificate filed in New York County
Commission Expires May 19, 1998

CERTIFICACION NOTARIAL

A los 8 días del mes de Octubre
de 19 97, el suscrito Notario

DA FE

1. Que ALLEN J. SPIEGEL

mayor y domiciliado en
New York, Estado de New York,
Estados Unidos de América.
suscrito de su puño y letra el documento que antecede

2. Que conozco al otorgante y que éste tiene capacidad legal
para el otorgamiento

3. Que el otorgante ha suscrito el referido documento en su
carácter de:

Vice-presidente

de la persona jurídica

PFIZER PRODUCTS INC.

4. Que la persona jurídica
PFIZER PRODUCTS INC.

con sede en
Eastern Point Road, Groton,
Connecticut 06340, Estados Unidos de América
está legalmente constituida, que tiene existencia legal y que el
acto para el cual se ha otorgado el poder otorgado comprende entre los
que constituyen su objeto social

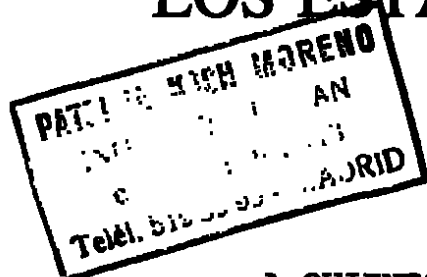
5. Que el otorgante efectivamente tiene la representación que ostenta
y que esta es legítima

6. Que he basado las certificaciones 3, 4 y 5 anteriores en los
siguientes documentos auténticos que me exhibieron y
que menciono específicamente con sus fechas y de su
origen o procedencia:

Resolución de Pfizer Products Inc. de
fecha 24 de febrero de 1997.

El Notario Público

LOS ESTADOS UNIDOS DE AMERICA



A QUIENES LES SEAN PRESENTADOS ESTOS DOCUMENTOS:

DEPARTAMENTO DE COMERCIO DE LOS ESTADOS UNIDOS

La Oficina de Patentes y Marcas de los Estados Unidos

14 de septiembre de 2000

POR LA PRESENTE CERTIFICO QUE EL DOCUMENTO ADJUNTO ES COPIA FIEL DEL ORIGINAL DE LA SOLICITUD DE PATENTE IDENTIFICADA MAS ADELANTE, A LA QUE LE FUE OTORGADA FECHA DE PRESENTACION AL CUMPLIR LOS REQUISITOS ESTABLECIDOS EN EL ARTICULO 111 TITULO 35 DEL CODIGO DE LOS ESTADOS UNIDOS, Y QUE OBRA EN EL REGISTRO DE LA OFICINA DE PATENTES Y MARCAS.

NUMERO DE SOLICITUD: 60/175,663

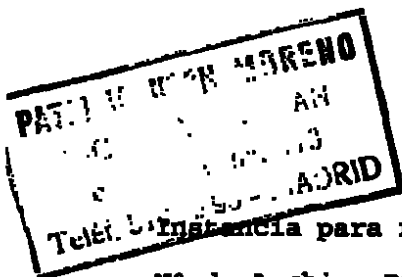
FECHA DE PRESENTACION: 12 de enero de 2000

Por delegación del

COMISIONADO DE PATENTES Y MARCAS

H. PHILLIPS

Oficial de certificaciones



15

IMPRESO DE SOLICITUD PROVISIONAL

Instancia para registrar una SOLICITUD PROVISIONAL bajo CFR 37 1.53(b)(2).

N° de Archivo PC106405WC Escriba una cruz (+) en esta casilla ±

2° Apellido	1er Apellido	Inicial	Residencia (ciudad y estado o país)
Day	Wesley	W.	Old Lyme, CT
Thompson	David	D.	Gales Ferry, CT
Lee	Andrew	G.	Old Lyme, CT

TITULO DE LA INVENCION (máximo 280 caracteres)

**PROCEDIMIENTO PARA REDUCIR LA MORBILIDAD
Y EL RIESGO DE MORTALIDAD**

DIRECCION PARA LA CORRESPONDENCIA

Gregg C. Benson
Pfizer Inc.
Patent Department
Box 519, Eastern Point Road
Groton, CT 06340

ANEXOS DE LA SOLICITUD (Revisar todas los aplicables)

☒ Descripción, 60	40
☒ Reivindicaciones,	20
☒ Dibujos Núm. hojas	1
☒ Otros (especificar) Resumen,	1 página

FORMA DE PAGO (señalar una de las opciones)

☐ Se adjunta cheque o pago en metálico para cubrir tasas solicitud provisional	IMPORTE TASAS SOLICITUD PROVISIONAL (\$) \$150
☒ El Comisionado está autorizado para cargar las tasas de solicitud en la Cuenta número 16-1445	

La invención fue realizada por una agencia del Gobierno de los Estados Unidos o bajo contrato con una agencia del Gobierno de los Estados Unidos

☒ No

☐ Sí, el nombre de la agencia del Gobierno de los Estados Unidos y el n° de contrato son:

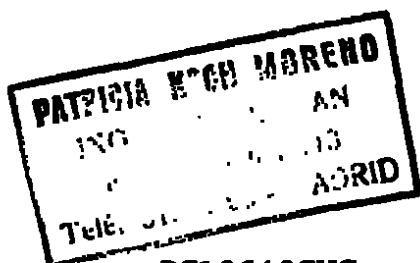
Respetuosamente presentado,
FIRMA (ilegible)
Steven W. Collier

FECHA 11 enero 2000
N° DE REGISTRO 42,429
(si procede)

☐ Inventores Adicionales es especifican en las hojas adjuntas

UNICAMENTE SOLICITUD PROVISIONAL

CORREO URGENTE N° EJ248205295US



16

PC10640SWC

-1-

US 60/175,663 solicitada el 12 de enero de 2000

PROCEDIMIENTO PARA REDUCIR LA MORBILIDAD

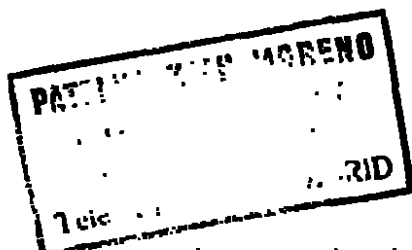
Y EL RIESGO DE MORTALIDAD

CAMPO DE LA INVENCION

Esta invención se refiere a composiciones y a
5 procedimientos para reducir la morbilidad y/o el riesgo de
mortalidad. Las composiciones y procedimientos utilizan
compuestos agonistas/antagonistas de estrógenos. En sujetos
de ambos sexos, la morbilidad y el riesgo de mortalidad
cardiovascular se reducen mediante la administración de
10 agonistas/antagonistas de estrógenos de la invención. En
mujeres postmenopáusicas, la morbilidad y el riesgo de
mortalidad se reducen mediante un efecto combinado de
reducciones en la incidencia de la enfermedad cardiovascular,
el cáncer de mama y la osteoporosis.

15 **ANTECEDENTES DE LA INVENCION**

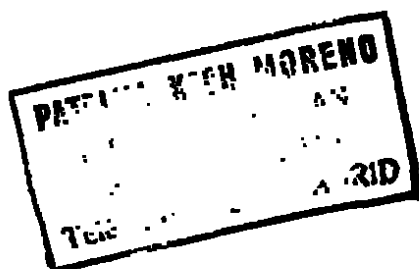
La incidencia de la enfermedad cardiovascular difiere
significativamente entre hombres y mujeres, en parte debido
a diferencias en factores de riesgo y de hormonas (Barrett-
Connor E. Circulation 1997, 95:252-64). La incidencia de
20 enfermedades ateroscleróticas en mujeres premenopáusicas es
baja, aumenta en mujeres postmenopáusicas y se reduce a
niveles premenopáusicos en mujeres postmenopáusicas que
reciben terapia de estrógenos (Stampfer, M.J., et al., N.
Engl. J. Med. 1991, 325:756-62; Grady D., et al., Ann.
25 Intern. Med. 1992, 117:1016-37). Hasta hace poco, los efectos



-2-

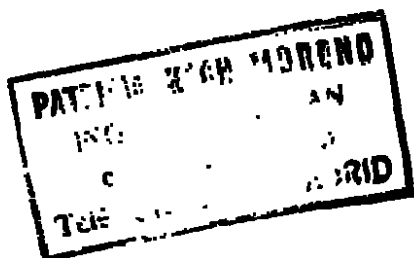
ateroprotectores de los estrógenos se atribúan principalmente a los efectos de la hormona sobre las concentraciones de lípidos séricos. Sin embargo, las alteraciones inducidas por estrógenos en los lípidos séricos
5 constituyen sólo aproximadamente un tercio de los beneficios clínicos observados de los estrógenos (Mendelsohn, M.E., Karas, R.H. Curr. Opin. Cardiol. 1994; 9:619-26; Bush T.L., et al., Circulation 1987; 75:1102-9). Ahora se cree también que las acciones directas de los estrógenos sobre los vasos
10 sanguíneos contribuyen sustancialmente a los efectos protectores cardiovasculares de los estrógenos (Farhat, M.Y., et al., FASEB J 1996; 10:615-24).

Las hormonas estrogénicas tienen un profundo efecto sobre el sistema vascular tanto de hombres como de mujeres,
15 aunque su administración está asociada a otros efectos que pueden ser indeseables. Los estrógenos aumentan la vasodilatación e inhiben la respuesta de los vasos sanguíneos a lesiones y al desarrollo de aterosclerosis. La vasodilatación inducida por estrógenos aparece de 5 a 20
20 minutos después de administrar estrógenos y no depende de cambios en la expresión de los genes; esta acción de los estrógenos se denomina a veces "no genómica". La inhibición de la respuesta a una lesión vascular inducida por estrógenos y el efecto preventivo de los estrógenos frente a la
25 aterosclerosis aparecen durante un período de horas o días



después del tratamiento con estrógenos y dependen de cambios en la expresión de los genes en los tejidos vasculares; estas acciones se denominan a veces "genómicas".

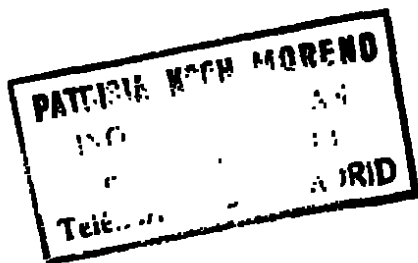
Existen dos receptores de estrógenos, el receptor de estrógenos α y el receptor de estrógenos β , siendo ambos miembros de la superfamilia de los receptores de hormonas esteroideas (Walter P., et al., Proc. Nad. Acad. Sci USA 1985; 82:7889-93, Kuiper G.G.J.M, et al., Proc. Nad. Acad. Sci USA 1996; 93:5925-30). Los receptores de estrógenos α y β tienen una considerable homología y, al igual que todos los receptores de hormonas esteroideas, son factores de transcripción que alteran la expresión génica cuando se activan. (Walter P., et al., Proc. Nad. Acad. Sci USA 1985; 82:7889-93; Kuiper G.G.J.M, et al., Proc. Nad. Acad. Sci USA 1996; 93:5925-30; Shibata, H., et al., Recent Prog. Horm. Res. 1997; 52:141-65; Evans, R.M., Science 1988, 240:889-95; Brown, M., Hematol. Oncol. Clin. North. Am. 1994; 8:101-12). Los vasos sanguíneos son estructuras complejas, con paredes que contienen células de músculo liso y un recubrimiento de células endoteliales. Las células endoteliales vasculares y de músculo liso unen estrógenos con alta afinidad (Mendelsohn, M.E., et al., Curr. Opin. Cardiol. 1994; 9:619-26; Farhat, M.Y., et al., FASEB J. 1996; 10:615-24) y el receptor de estrógenos α se ha identificado en ambos tipos de células vasculares en mujeres y hombres (Karas, R.H., et



al., Circulation 1994; 89:1943-50; Losordo, D.W., et al.,
Circulation 1994; 89:1501-10; Venkov, C.D., et al.,
Circulation 1996; 94:727-33; Kim-Schulze, S., et al.,
Circulation 1996; 94:1402-7; Caulin-Glaser T., et al., J.
 5 Clin. Invest. 1996; 98:36-42) así como en células del
 miocardio (Grohe C., et al., FEBS Lett. 1997; 416:107-12).

El receptor de estrógeno α activa genes diana
 específicos en células de músculo liso y endoteliales
 vasculares (Tabla 1) (Karas, R.H., et al., Circulation 1994;
 10 89:1943-50; Venkov, C.D., et al., Circulation 1996; 94:727-
 33; Kim-Schulze S., et al., Circulation 1996; 94:1402-7;
 Caulin-Glaser, T., et al., J. Clin. Invest. 1996; 98:36-42;
 Koike H., et al., J. Vasc. Surg. 1996; 23:477-82). El
 receptor de estrógenos β es diferente estructural y
 15 funcionalmente del receptor de estrógeno α . El receptor de
 estrógenos β funcional también está presente en células del
 miocardio, en las que regula la expresión de las óxido
 nítrico sintasas.

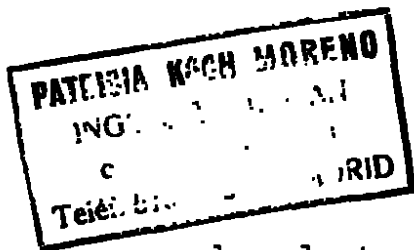
En mujeres premenopáusicas, el 17- β -estradiol producido
 20 por los ovarios es el principal estrógeno circulante. Las
 concentraciones de estradiol sérico son bajas en niñas
 preadolescentes y aumentan con la menarquía. En las mujeres,
 varían de aproximadamente 100 pg por mililitro (367 pmol por
 litro) en la fase folicular a aproximadamente 600 pg por
 25 mililitro (2200 pmol por litro) en el momento de la



ovulación. Pueden aumentar hasta casi 20000 pg por mililitro (70000 pmol por litro) durante el embarazo. Después de la menopausia, las concentraciones de estradiol sérico descienden hasta valores similares o inferiores a los de 5 hombres de edad similar (5 a 20 pg por mililitro [18 a 74 pmol por litro] (Yen, S.S.C. and Jaffe, R.B., Eds. Reproductive Endocrinology: Physiology, Pathophysiology and Clinical Management, 3ª ed. Filadelfia: W.B. Saunders, 1991).

Los estrógenos alteran las concentraciones de lípidos 10 séricos, los sistemas de coagulación y fibrinolítico, los sistemas antioxidantes y la producción de otras moléculas vasoactivas, tales como el óxido nítrico y las prostaglandinas, los cuales pueden influir todos ellos en el desarrollo de la enfermedad cardiovascular.

15 Los efectos de la terapia de estrógenos sobre las concentraciones de lípidos séricos pueden ser en gran medida el resultado de efectos en los que participa el receptor de estrógenos sobre la expresión hepática de genes de apoproteínas (Tabla 1). Muchos estudios, incluyendo un gran 20 ensayo al azar y controlado, (The Writing Group for the PEPI Trial, JAMA, 1995; 273:199-208. [Erratum, JAMA 1995; 274:1676]) han documentado que la terapia de estrógenos en mujeres postmenopáusicas reduce las concentraciones en suero de colesterol total y de colesterol asociado a lipoproteínas 25 de baja densidad (LDL), aumenta las concentraciones en suero



2

-6-

de colesterol asociado a lipoproteínas de alta densidad (HDL) y las concentraciones de triglicéridos, y reduce las concentraciones de lipoproteínas Lp(a) séricas. La expresión hepática de los genes para varias proteínas de coagulación y fibrinolíticas está también regulada por los estrógenos mediante receptores de estrógenos (Tabla 1).

Tabla 1. Genes de importancia potencial en la fisiología y enfermedad vascular regulados por estrógenos

10 (Fuente: Mendelsohn, M.E. and Karas, R.H., N. Engl. J. Med., 1999;340:1801-11)

PATRICIA MORENO
 INGENIERA EN QUÍMICA
 C. de I. y T. A. IRID
 Teléf. 513 1111

5

10

15

20

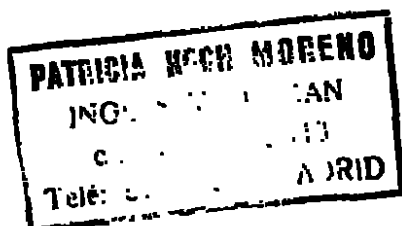
25

30

35

40

PRODUCTO GÉNICO	FUNCIÓN FISIOLÓGICA O PATOFISIOLÓGICA
Genes regulados por el estrógeno candidato (células vasculares)	
Prostaciclina sintasa	Vasodilatación
Óxido nítrico sintasa endotelial	Vasodilatación
Óxido nítrico sintasa inducible	Vasodil. como respuesta a lesión vascular
Endotelina-1	Vasoconstricción
Colágeno	Formación de la matriz vascular
Metaloproteinasas de la matriz 2	Remodelación de la matriz vascular
E-selectina	Adhesión celular
Molécula de adhesión a las células vasculares	Adhesión celular
Factor de crecimiento del endotelio vascular	Angiogénesis y proliferación de células endoteliales
Genes regulados por el estrógeno candidato (células no vasculares)	
Genes relac. con el desarrollo y el crecimiento	
Factor de crecimiento β 1 transformado	Cicatrización de heridas
Receptor del factor de crecimiento epidérmico	Crecimiento celular como respuesta a lesión vascular
Factor de crecimiento derivado de las plaquetas	Crecimiento celular como respuesta a lesión vascular
Tirosina quinasa FLT-4	Angiogénesis y proliferación de células endoteliales
Genes relac. con la coagulación y la fibrinólisis	
Factor tisular	Hemostasis como respuesta a trombosis
Fibrinógeno	Hemostasis como respuesta a trombosis
Proteína S	Hemostasis como respuesta a trombosis
Factor de coagulación VII	Hemostasis como respuesta a trombosis
Factor de coagulación XII	Hemostasis como respuesta a trombosis
Inhibidor del activador de plasminógeno 1	Hemostasis como respuesta a trombosis
Activador del plasminógeno tisular	Fibrinólisis
Antitrombina III	Anticoagulación
Genes relac. con la señalización y otros genes	
Receptor de estrógenos α	Regulación hormonal y expresión génica
Receptor de estrógenos β	Regulación hormonal y expresión génica
Proteína quimiotáctica de monocitos 1	Agrup. de monocitos y aterosclerosis
I y HIK2 (canales del potasio cardíaco)	Conducción cardíaca
Connexina 43	Conducción cardíaca
Leptina	Metabolismo de las grasas y obesidad
Apolipoproteínas A, B, D y E y Lp(a)	Metab. de los lípidos y aterosclerosis
Enzima convertidora de la angiotensina	Vasoconstricción
Receptor de la angiotensina II, tipo 1	Vasoconstricción

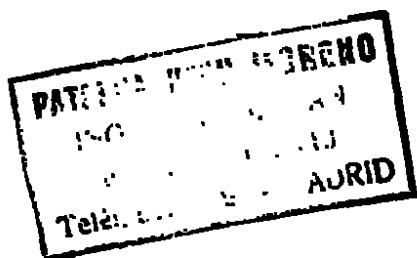


-8-

Los estrógenos dirigen directamente el tono vasomotor a través de efectos a corto y a largo plazo sobre la vasculatura. La administración a largo plazo de estrógenos está asociada a concentraciones reducidas de renina en plasma 5 (Schunkert, H., et al., Circulation 1997;95:39-45), enzima conversora de la angiotensina (Proudler, A., et al., Lancet 1995;346:89-90) y endotelina-1 (Ylikorkala, O., et al., J. Clin Endocrinol Metab 1995;80:3384-7) y a una menor expresión vascular de genes por el receptor de la angiotensina II del 10 tipo 1 (Nickenig, G., et al., Circulation 1998;97:2197-201), así como una mayor relación de óxido nítrico a endotelina-1 en plasma (Best, P.J.M. et al., Ann Intern Med 1998;128:285-8). El efecto neto de estos cambios es promover la vasodilatación.

15 Los estrógenos pueden provocar vasodilatación a corto plazo mediante las vías dependientes del endotelio e independientes del endotelio. Estos efectos rápidos no parecen implicar cambios en la expresión génica. Se han explorado con cierta profundidad dos mecanismos para los 20 efectos vasodilatadores rápidos de los estrógenos: efectos sobre la función de los canales de iones y efectos sobre el óxido nítrico.

A concentraciones fisiológicas, los estrógenos estimulan la apertura de los canales de potasio activados por el calcio 25 a través de la vía dependiente del óxido nítrico y del



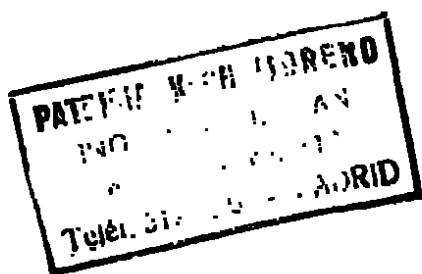
24

-9-

monofosfato de adenosina cíclico (White, R.E. et al., Circ Res 1995;77:936-42; Wellman, G.C., et al., Circ Res 1996;79:1024-30), relajando así el músculo liso y promoviendo la vasodilatación. Estos efectos rápidos de los estrógenos sobre las células vasculares podrían estar mediados por un conocido receptor de estrógenos, quizás localizado en la membrana plasmática (Pappas, T.C., et al., FASEB J 1995;9:404-10) que puede activar la óxido nítrico sintasa rápidamente de una forma no genómica. Esta sugerencia es coherente con las observaciones de que la estimulación inducida por estrógenos de la actividad de la óxido nítrico sintasa en las células endoteliales se ve bloqueada por antagonistas específicos del receptor de estrógenos (Chen, Z., et al., J Clin Invest 1999;103:401-6; Lantin-Hermoso, R.L., Am J Physiol 1997;273:L119-L126; Caulin-Glaser, T., et al., Circ Res 1997;81:885-92) y que el receptor de estrógenos α puede activar directamente la óxido nítrico sintasa endotelial.

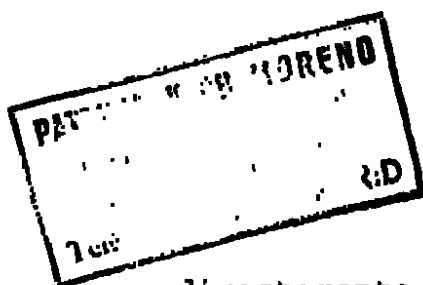
Los estrógenos causan rápidamente la vasodilatación coronaria ex vivo (Mendelsohn, M.E., et al., Curr Opin Cardiol 1994;9:619-26; Farhat, M.Y., et al., FASEB J 1996;10:615-24) e in vivo en primates ovariectomizadas alimentadas con colesterol (Williams, J.K., et al., J Am Coll Cardiol 1992;20:452-7) y en otros animales (Guetta, V., et al., Circulation 1997;96:2795-801). Los estrógenos dilatan

- las arterias coronarias y braquial en mujeres postmenopáusicas (Reis, S.E., et al., Circulation 1994;89:52-60; Gilligan, D.M., et al., Circulation 1994;89:2545-51; Gilligan, D.M., et al., Circulation 1994;90:786-91; 5 Lieberman, E.H., et al., Ann Intern Med 1994;121:936-41; Collins, P., et al., Circulation 1995;92:24-30; Guetta, V., et al., Circulation 1997;96:2795-801) y en algunos estudios, en hombres (Collins, P., et al., Circulation 1995;92:24-30; Blumenthal, R.S., et al., Am J Cardiol 1997;80:1021-4; Reis, 10 S.E., et al., Circulation 1998;97:23-5). La administración sublingual de 17β -estradiol en mujeres postmenopáusicas aumenta la duración del ejercicio en la cinta sin fin antes del comienzo de la isquemia (Rosano, G.M.C., et al., Lancet 1993;342:133-6).
- 15 Los estrógenos aumentan la expresión de los genes de importantes enzimas vasodilatadoras como la prostaciclina sintasa y la óxido nítrico sintasa (Tabla 1) (Weiner, C.P., et al., Proc Natl Acad Sci USA 1994;91:5212-6; Binko, J. et al., Am J Physiol 1998;274:H853-H859). Algunos de los rápidos 20 efectos de los estrógenos pueden deberse por tanto a aumentos a largo plazo de la expresión de los genes de estas enzimas en los tejidos vasculares. Los estrógenos pueden aumentar también la biodisponibilidad de óxido nítrico en los vasos aumentando la expresión de los genes de la forma inducible 25 de la óxido nítrico sintasa (Binko, J. et al., Am J Physiol



1998;274:H853-H859). La administración a largo plazo de los estrógenos aumenta la vasodilatación coronaria mediada por acetilcolina en primates no humanos (Williams, J.K. et al., Circulation 1990;81:1680-7; Williams, J.K. et al., Circulation 1997;96:1970-5), transexuales macho a hembra (McCrohon, J.A. et al., J Am Coll Cardiol 1997;29:1432-6; New G., et al., J Am Coll Cardiol 1997;29:1437-44), mujeres postmenopáusicas (Herrington, D.M. et al., Am J Cardiol 1994;73:951-2) y mujeres postmenopáusicas con angina y arterias coronarias normales (Roque, M., et al., J Am Coll Cardiol 1998;31:139-43).

Los estrógenos aceleran el crecimiento de células endoteliales in vitro e in vivo (Morales, D.E., et al., Circulation 1995;91:755-63; Kransinski, K., et al., Circulation 1997;95:1768-72). La rápida reendotelización inducida por los estrógenos después de una lesión vascular puede deberse en parte a la mayor expresión local del factor de crecimiento del endotelio vascular. Los estrógenos también inhiben la apoptosis de células endoteliales humanas cultivadas de una forma que depende del receptor de estrógenos (Spyrodopoulos, I., et al., Circulation 1997;95:1505-14). Una restauración prematura de la integridad endotelial por los estrógenos puede contribuir a la atenuación de la respuesta a la lesión aumentando la disponibilidad de óxido nítrico, lo cual puede inhibir



-12-

directamente la proliferación de células del músculo liso (Cornwell, T.L. et al., Am J Physiol 1994;267:C1405-C1413). Los estrógenos inhiben directamente la migración y proliferación de células del músculo liso in vivo (Kolodgic, 5 F.D., et al., Am J Pathol 1996;148:969-76; Bhalla, R.C., et al., Am J Physiol 1997;272:H1996-H2003).

De este modo, los estrógenos poseen efectos a largo y a corto plazo sobre la pared de los vasos sanguíneos. Se cree que los estrógenos influyen en la biodisponibilidad de óxido 10 nítrico derivado del endotelio y, a través de aumentos mediados por el óxido nítrico en el monofosfato de guanosina cíclico, y que provocan la relajación de las células del músculo liso vascular. Los efectos a largo plazo de los estrógenos se deben, al menos en parte, a cambios en los 15 genes de las células vasculares y a la expresión de proteínas que es mediada por el receptor de estrógenos α , β o ambos. Las proteínas reguladas por estrógenos influyen en la función vascular de una forma autocrina o paracrina.

Los efectos directos de los estrógenos sobre la 20 vasculatura promueven la vasodilatación e inhiben el desarrollo y la progresión de la aterosclerosis. Sin embargo, algunos de los efectos no vasculares de los estrógenos pueden compensar sus efectos vasculares.

El cáncer de mama es una enfermedad dependiente de 25 hormonas. Las mujeres sin ovarios en funcionamiento que no

-13-

reciben nunca reposición de estrógenos, no desarrollan cáncer de mama. La relación mujer a hombre para la enfermedad es de aproximadamente 150 a 1. Una multitud de hallazgos indican que las hormonas desempeñan una función crítica como

5 estimulantes de la enfermedad. Para la mayoría de los procesos malignos epiteliales, una representación gráfica log-log de la incidencia frente a la edad muestra un aumento en línea recta a cada año de vida. Una representación gráfica similar para el cáncer de mama muestra el mismo aumento en

10 línea recta, pero con una reducción en la pendiente que empieza a la edad de la menopausia. Las tres fechas en la vida de una mujer que tienen un mayor impacto sobre la incidencia del cáncer de mama son la edad de la menarquía, la edad del primer embarazo llevado a término y la edad de

15 la menopausia. Las mujeres que experimentan la menarquía a los 16 años tienen sólo un 50 a un 60% del riesgo de cáncer de mama a lo largo de su vida con respecto a las mujeres que experimentaron la menarquía a los 12 años. De manera similar, la menopausia que aparece 10 años antes de la edad media (52

20 años), natural o inducida quirúrgicamente, reduce el riesgo de cáncer de mama a lo largo de su vida aproximadamente en un 35%. Comparado con mujeres nulíparas, las mujeres que han tenido un primer embarazo llevado a término a la edad de 18 años tienen un 30 a un 40 por ciento más de riesgo de cáncer

25 de mama. Así, la duración de la vida menstrual,

particularmente la fracción que aparece antes del primer embarazo llevado a término, es un componente sustancial del riesgo total de cáncer de mama. Este factor puede llegar a suponer del 70 al 80% de la variación en la frecuencia de

5 cáncer de mama en diferentes países.

La variación internacional ha proporcionado algunos de los indicios más importantes sobre carcinogénesis hormonal. Una mujer que viva 80 años en América del Norte tiene 1 posibilidad entre 9 de desarrollar cáncer de mama invasivo.

10 Las mujeres asiáticas tienen de una quinta a una décima parte del riesgo de cáncer de mama que las mujeres en América del Norte o Europa Occidental. Las mujeres asiáticas tienen concentraciones sustancialmente menores de estrógenos y progesterona. Estas diferencias no pueden explicarse con una

15 base genética, porque las mujeres asiáticas que viven en un entorno occidental tienen un riesgo idéntico al de sus equivalentes occidentales. Estas mujeres difieren notablemente también en altura y peso de las mujeres asiáticas en Asia; la altura y el peso son reguladores

20 críticos de la edad de la menarquía y tienen efectos sustanciales en las concentraciones plasmáticas de estrógenos. (Lippman, M.E., *Breast Cancer*, capítulo 91, en Harrison's Principles of Internal Medicine, 14ª ed., 1998).

La menopausia aparece de modo natural a una edad media

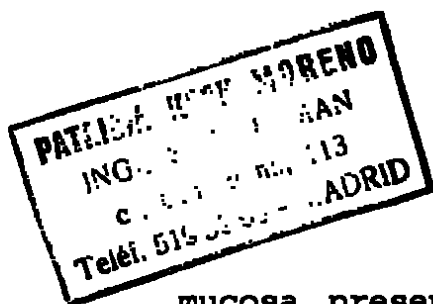
25 de 50 a 51 años en los Estados Unidos. A medida que envejecen

-15-

los ovarios, se reduce la respuesta a las gonadotropinas hipofisiarias (hormona estimulante de folículo [FSH] y hormona luteinizante [LH]), dando como resultado inicialmente fases foliculares más cortas (y así ciclos menstruales más cortos), menos ovulaciones, una producción reducida de progesterona y más irregularidad en los ciclos. Finalmente, el folículo deja de responder y no produce estrógenos. La fase de transición, durante la cual una mujer abandona la etapa reproductora, empieza antes de la menopausia. Se denomina climaterio o perimenopausia, aunque muchas personas se refieren a ella como menopausia.

La menopausia prematura se refiere a fallos del ovario de causa desconocida que aparecen antes de los 40 años. Puede estar asociado al tabaquismo, a vivir en altitud o a un mal estado nutricional. La menopausia artificial puede ser el resultado de ooforectomía, quimioterapia, radiación de la pelvis o cualquier procedimiento que limite el suministro sanguíneo a los ovarios.

Los síntomas de la fase climatérica varían desde la ausencia a síntomas graves. Los episodios de sofocos y la sudoración asociada a inestabilidad vasomotora afectan al 75% de las mujeres. La mayoría de las mujeres presentan sofocos durante más de un año, y entre un 25 y un 50% durante más de cinco años. La mujer siente sofocos o calor y puede sudar, algunas veces de forma intensa. La piel, especialmente la de



mucosa presente una apariencia de piel de fresa y pueda desembocar en frecuencia y necesidad de orinar, sequedad vaginal y dispareunia. La mujer tiende a perder el tono del músculo de la pelvis y a desarrollar incontinencia urinaria, 5 cistitis y vaginitis.

La incidencia de enfermedad de las arterias coronarias clínica (CAD) en mujeres premenopáusicas es muy baja. Sin embargo, después de la menopausia, los factores de riesgo aterogénicos aumentan (por ejemplo, mayores niveles de LDL 10 y menores de HDL) y la tasa de episodios coronarios clínicos se acelera hasta los niveles observados en hombres. La diabetes mellitus, que es más común en mujeres, aumenta enormemente la aparición de CAD clínica y amplifica los efectos perjudiciales de la hipertensión, hiperlipidemia y 15 del tabaquismo. El uso postmenopáusico de la terapia de sustitución hormonal (estrógenos con o sin una progestina) reduce los episodios coronarios adversos pero no se debe administrar a pacientes con un riesgo mayor del normal de cáncer de mama.

20 Durante los trastornos obstétricos y ginecológicos, las mujeres experimentan o describen una mayor morbilidad que los hombres. Los estudios han encontrado que las mujeres experimentan un 25 por ciento más en cuanto a los índices de actividad limitada y un 40 por ciento más en cuanto a los 25 índices de incapacidad en cama, ajustado en todas las edades.

Por ejemplo, un 22,2 por ciento de mujeres de edad superior a los 85 años requiere asistencia en las actividades de la vida diaria, comparado con un 14,5 por ciento de los hombres en este grupo de edad. Las mujeres también realizan más 5 visitas al médico, en particular para enfermedades agudas autolimitantes. No está claro si existen diferencias reales en el mayor porcentaje de morbilidad o diferencias en la conducta en cuanto a buscar cuidados después de percibir los síntomas.

10 En los países desarrollados, las mujeres viven más que los hombres. En 1995, en los Estados Unidos, la esperanza de vida media prevista desde el nacimiento es de 79,7 años para mujeres y de 72,8 para hombres. Aunque se conciben más varones que mujeres, las mujeres tienen una ventaja de 15 supervivencia sobre los hombres en todos los grupos de edad. La mayor esperanza de vida de las mujeres en los países desarrollados, comparada con la de los hombres, se debe en gran parte a la diferencia mortalidad causada por la enfermedad cardíaca isquémica (IHD).

20 Como se muestra en la Tabla 2, las principales causas de muerte entre mujeres jóvenes en los Estados Unidos son los accidentes, el homicidio y el suicidio. Durante los años de la madurez, el cáncer de mama es una causa de muerte ligeramente más común que la IHD y el cáncer de pulmón. En 25 mujeres entre los 65 y los 74 años, la IHD, el cáncer de

PATRICIA MON MORENO
ING. ... AN
C. ... 113
Telé. 515.000 - MADRID

33
34

pulmón y la enfermedad cerebrovascular superan al cáncer de mama como principales causas de muerte. Entre las mujeres de todas las edades, la IHD es la principal causa de muerte, con un margen sustancial, con una tasa de mortalidad de cinco a seis veces la tasa de mortalidad debida al cáncer de pulmón o al cáncer de mama.

Tabla 2: Tasas de muerte (por 100.000) para las causas principales de muerte en los Estados Unidos, Mujeres 1990

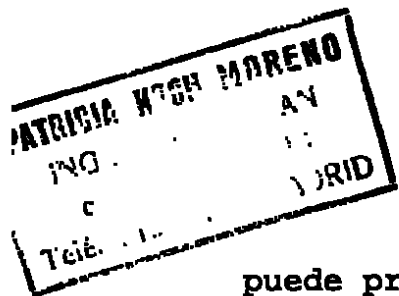
10

Edad 24-34	Edad 45-54	Edad 65-74	Todas las edades
Total 74,2	Total: 342,7	Total: 1991,2	Total 812,0
1. Accidente de coche (11,5)	1. Cáncer de mama (45,4)	1. Enfermedad cardíaca isquémica (415,2)	1. Enfermedad cardíaca isquémica (185,6)
2. Homicidio (7,2)	2. Enfermedad cardíaca isquémica (33,6)	2. Cáncer de pulmón* (181,7)	2. Enfermedad cerebrovascular (68,6)
3. Suicidio (5,6)	3. Cáncer de pulmón* (35,3)	3. Enfermedad cerebrovascular (126,9)	3. Cáncer de pulmón* (40,4)
4. Otros accidentes diferentes a los de coche (4,6)	4. Enfermedad cerebrovascular (17,0)	4. Cáncer de mama (111,7)	4. Cáncer de mama (34,0)
FUENTE: Adaptado del Centro Nacional para las Estadísticas Sanitarias Vitales de los Estados Unidos, 1990, vol II: Mortalidad, Parte A. Washington, Servicio Público de Salud, 1994. DHHS Publication n° (PHS) 95-1101, páginas 40-52. *Cáncer de órganos respiratorios e intratorácicos, fundamentalmente cáncer de pulmón			

15

20

Ciertas diferencias biológicas también contribuyen a la mayor longevidad de las mujeres. Las más obvia es la exposición a los estrógenos que la mayoría de las mujeres experimenta durante aproximadamente 40 años de sus vidas, que



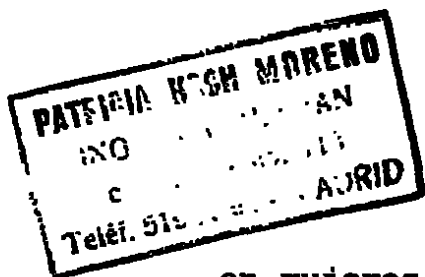
34
35

-20-

puede proporcionar cierta protección respecto a la IHD.

La prevención primaria y la selección son elementos importantísimos a la hora de mejorar la salud de las mujeres. Aunque existen unos pocos ensayos clínicos definitivos de intervenciones preventivas en mujeres, un número creciente de estudios que observan grupos caso por caso y prospectivos (tales como el Nurses' Health Study) han evaluado la prevención de enfermedades en mujeres. En base a la bibliografía y a la experiencia disponibles, diversas organizaciones autorizadas (por ejemplo la U.S. Preventive Services Task Force, Canadian Task Force, American College of Physicians, American Heart Association, American Cancer Society) han publicado normas sobre prácticas preventivas en mujeres (Blumenthal, S.J. et al., Towards a Women's Health Research Agenda. Findings of the Scientific Advisory Meeting. Washington, DC, Bass and Howes, 1991; Colditz, G.A. JAMWA 50:40, 1995; Gijsbers van Wijk, C.M.T., et al., Women Health 17:91, 1991; Verbrugge, L.M. and Wingard, D.L. Women Health 12:103, 1987).

La terapia de estrógenos postmenopáusica está asociada con una reducción del 40 al 50 por ciento de las muertes debidas a IHD, un hallazgo apoyado por varios estudios de control. La terapia sustitutiva de calcio y estrógenos ha demostrado ralentizar el desarrollo de la osteoporosis y reducir la frecuencia de fracturas de cadera y vertebrales



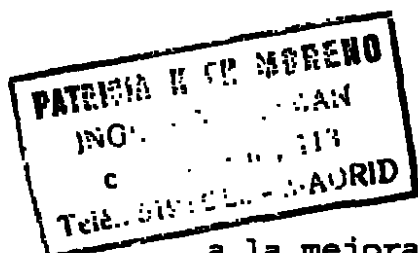
35
36

-21-

en mujeres postmenopáusicas (Rich-Edwards, J.W., et al., N Eng J Med 332:1758, 1995).

Muchas personas creen que la IHD es fundamentalmente un problema de los hombres, quizás porque los hombres tienen más del doble de incidencia total de morbilidad y de mortalidad cardiovascular que las mujeres entre las edades de 35 a 84 años. Sin embargo, como se ha expuesto antes, en los Estados Unidos, al igual que entre los hombres, la IHD es la causa principal de muerte entre las mujeres (Tabla 1), aunque la curva de la tasa de mortalidad de la IHD queda detrás de la de los hombres aproximadamente en una década. Casi 250.000 mujeres mueren al año de IHD; después de los 40, una de cada tres mujeres morirá de enfermedad cardíaca. Aunque la mortalidad por IHD ha descendido en los Estados Unidos durante los últimos treinta años, el índice de reducción ha sido menor en mujeres que en hombres.

Las mujeres tienen un perfil de riesgo más favorable de la IHD en algunos aspectos: mayores niveles de colesterol HDL, menores niveles de triglicéridos, y menor obesidad en la parte del tronco que los hombres. Pero las mujeres también tienen un perfil de riesgo menos favorable en otros aspectos: más obesidad, mayor tensión arterial, mayores niveles de colesterol plasmático, mayores niveles de fibrinógeno y más diabetes. Una explicación para la diferencia por sexos de la IHD es un efecto cardioprotector de los estrógenos, debido



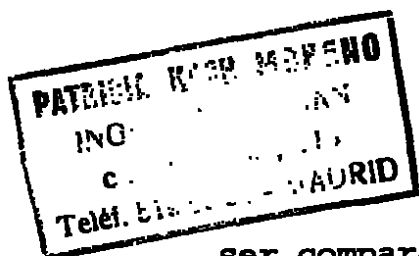
31
37

-22-

a la mejora en el perfil de lípidos, un efecto vasodilatador directo y quizás otros factores. Los niveles de colesterol HDL parecen ser un factor de riesgo particularmente importante de la IHD en mujeres. Los niveles de HDL son
5 mayores en todos los grupos de edad en mujeres que en hombres y son mayores en mujeres premenopáusicas y postmenopáusicas tratadas con estrógenos que en mujeres postmenopáusicas no tratadas con estrógenos.

La IHD se presenta de forma diferente en mujeres que en
10 hombres. En el estudio de Framingham, la angina fue el síntoma inicial de la IHD más frecuente en mujeres, apareciendo en el 47 por ciento de las mujeres. El infarto de miocardio fue el síntoma inicial más frecuente en hombres, apareciendo en el 46 por ciento de los casos. El
15 electrocardiograma de esfuerzo parece tener una menor especificidad para la IHD en mujeres que en hombres.

La hipertensión es más común en las mujeres que en los hombres en los Estados Unidos, en gran parte debido a la elevada prevalencia de hipertensión en los grupos de mayor
20 edad y a la mayor supervivencia de las mujeres. La hipertensión renovascular debida a la displasia fibromuscular se presenta más frecuentemente en mujeres. Otras causas de hipertensión secundaria aparecen con igual frecuencia en mujeres y en hombres. Tanto la eficacia como los efectos
25 adversos de los diversos fármacos antihipertensivos parecen



37
38

-23-

ser comparables en mujeres y en hombres. Los beneficios del tratamiento de la hipertensión severa han sido asombrosos en mujeres y en hombres. Sin embargo, en ensayos clínicos del tratamiento de la hipertensión leve a moderada, las mujeres han tenido una disminución menor de la morbilidad y de la mortalidad que los hombres, quizás porque las mujeres tienen para empezar un menor riesgo de infarto de miocardio y de apoplejía que los hombres. Las mujeres mayores se benefician al menos igual que los hombres del tratamiento como se ha demostrado por el estudio Systolic Hypertension in the Elderly. Cuando se introdujeron por primera vez los anticonceptivos orales, muchas mujeres tuvieron un pequeño aumento de la tensión arterial, mostrando un 5 por ciento un aumento por encima de 140/90 durante un período de cinco años. La incidencia de la hipertensión parece ser menor con los anticonceptivos orales de baja dosis actuales. La terapia de estrógenos postmenopáusicas no está asociada a aumentos en la tensión arterial (Kaplan, N.M., Arch Intern Med 185:563, 1995).

La secreción de estrógenos también parece desempeñar una importante función en el control de la densidad ósea. Aunque está claro que el riesgo de osteoporosis en mujeres postmenopáusicas es mucho mayor que en hombres de la misma edad, y aunque la sustitución de estrógenos postmenopáusicas se asocia a una menor incidencia de la osteoporosis, los

mecanismos mediante los cuales los estrógenos ejercen sus efectos positivos no se han descrito totalmente.

El estudio de Framingham, un estudio observacional de hombres y mujeres en vigor desde 1947 ha seguido analizando
5 datos específicos para mujeres. Desde 1976, el Nurses' Health Study ha sido seguido por más de 120.000 mujeres, recogiendo datos de forma prospectiva sobre su hábito de fumar, dieta, actividad física, medicaciones, conductas de prevención y de selección y algunos factores psicosociales. Este estudio ya
10 ha revelado información acerca de cómo contribuyen estos factores al riesgo relativo de desarrollar una serie de trastornos médicos, incluyendo cáncer de mama, enfermedad coronaria isquémica, apoplejía, diabetes y fractura, así como las causas de mortalidad (Murabito, J.M., JAMWA 50:35, 1995).

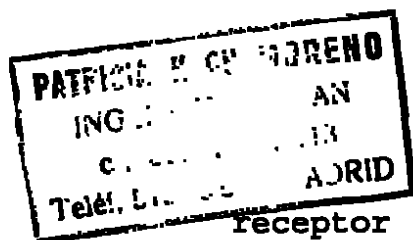
15 El ensayo de Intervención de estrógenos/progestinas postmenopáusicas (PEPI) fue el primer gran ensayo que estudia los efectos de la terapia sustitutiva de hormonas postmenopáusicas. Consistió en un estudio de 3 años, multicéntrico, al azar, doble ciego y controlado con placebo
20 de los efectos de tres pautas de estrógenos/progestina sobre los factores de riesgo para la enfermedad cardiovascular, la densidad mineral ósea y el tejido endometrial. Hasta ahora, el estudio ha demostrado que los estrógenos solos o combinados con progestina aumentan los niveles séricos de HDL
25 y disminuyen los niveles séricos de lipoproteínas de baja

densidad (LDL) y de fibrinógeno. Aunque los estrógenos sin oposición (sin progestinas) tuvieron efectos más beneficiosos sobre los lípidos, también se asoció esto a un mayor riesgo de hiperplasia endometrial (The Writing Group for the PEPI Trial, JAMA 273:199, 1995).

Las composiciones y procedimientos de la presente invención actúan curando, aliviando o previniendo afecciones patológicas que contribuyen a la mortalidad cardiovascular en hombres y mujeres postmenopáusicas y reducen la morbilidad y el riesgo de mortalidad en mujeres postmenopáusicas debido a la reducción combinada de la enfermedad cardiovascular, el cáncer de mama y la osteoporosis. Estos efectos se consiguen mediante las composiciones y procedimientos de la invención con una reducción sustancial de la posibilidad concomitante de efectos adversos asociados a la administración de estrógenos. Sin vincularse con ninguna teoría, se cree que la administración de las composiciones de la invención tiene como resultado un efecto estrogénico sobre el sistema cardiovascular y óseo, teniendo al mismo tiempo un efecto sobre el pecho y sobre otros tejidos. El efecto global es beneficioso porque está sustancialmente exento de efectos adversos atribuidos a la administración de estrógenos.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

La figura 1 es una representación gráfica logarítmica-lineal de la unión competitiva de PPTN y 17β -estradiol al



-26-

receptor de estrógenos humano. El eje X representa el porcentaje de estrógenos marcado radiactivamente unidos al receptor. El eje Y representa la concentración molar de ligando añadido. Los valores son la media $\pm$ SEM (error típico de la media).

SUMARIO DE LA INVENCION

Esta invención se refiere a composiciones farmacéuticas útiles para reducir la morbilidad y el riesgo de mortalidad. Las composiciones comprenden un agonista/antagonista de estrógenos y un excipiente, vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable. Estas composiciones son eficaces para reducir la morbilidad cardiovascular y el riesgo de mortalidad en sujetos de ambos sexos y para reducir la morbilidad y/o el riesgo de mortalidad en mujeres postmenopáusicas debido al efecto combinado de reducciones de la enfermedad cardiovascular, el cáncer de mama y la osteoporosis.

Un segundo aspecto de la invención se refiere a procedimientos para reducir la morbilidad y la mortalidad. Específicamente, los procedimientos se refieren a procedimientos para reducir la morbilidad cardiovascular y el riesgo de mortalidad en sujetos de ambos sexos y para reducir la morbilidad y/o el riesgo de mortalidad en mujeres postmenopáusicas debido al efecto combinado de reducciones de la enfermedad cardiovascular, el cáncer de mama y la

PAT. RICH MORENO
INC. MAN
C. 113
Tel. 616.550 - MADRID

42

-27-

osteoporosis. Los procedimientos comprenden la administración de una cantidad eficaz de los agonistas/antagonistas de estrógenos descritos en la presente memoria.

Un tercer aspecto de la invención es que las
5 composiciones y los procedimientos para reducir la morbilidad cardiovascular y el riesgo de mortalidad en sujetos de ambos sexos y reducir la morbilidad y/o el riesgo de mortalidad debido al efecto combinado de reducciones de la enfermedad cardiovascular, el cáncer de mama y la osteoporosis son
10 eficaces, reduciendo al mismo tiempo sustancialmente la posibilidad concomitante de efectos adversos asociados a la administración de estrógenos.

Como cuarto aspecto, la presente invención proporciona estuches para uso por un consumidor para reducir la
15 morbilidad cardiovascular y el riesgo de mortalidad en sujetos de ambos sexos y para reducir la morbilidad y/o el riesgo de mortalidad debido al efecto combinado de reducciones de la enfermedad cardiovascular, el cáncer de mama y la osteoporosis. El estuche comprende a) una
20 composición farmacéutica que comprende un agonista/antagonista de estrógenos de la presente invención y un excipiente, vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable; y b) instrucciones que describen un procedimiento de uso de la composición farmacéutica para reducir la
25 mortalidad cardiovascular en hombres y mujeres



43
44

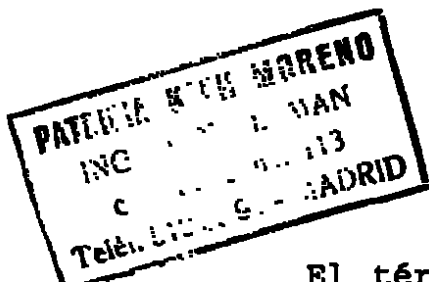
-29-

el riesgo de mortalidad. A no ser que se indique de otro modo, los siguientes términos tienen los significados definidos a continuación:

"Tratamiento", tal y como se usa en la presente memoria, incluye el tratamiento preventivo (por ejemplo, profiláctico) y paliativo y "tratar" tal y como se usa en la presente memoria, se refiere a la acción de proporcionar el tratamiento paliativo y/o preventivo.

Un "sujeto" es un animal, incluyendo un ser humano, que puede tratarse con las composiciones, procedimientos y estuches de la presente invención. El término "sujeto" o "sujetos" se pretende que se refiera tanto al sexo masculino como al femenino, a menos que se indique un sexo específicamente.

Los "efectos adversos asociados a los estrógenos" incluyen sensibilidad, cáncer de mama, inflamación, dolor de cabeza, coagulación sanguínea y hemorragia menstrual aumentadas en mujeres. La terapia de estrógenos sin oposición aumenta el riesgo de carcinoma de endometrio. Las mujeres con terapia de estrógenos a largo plazo pueden tener un mayor riesgo que no se invierte mediante el tratamiento recurrente con progestinas (N Engl J Med, 332:1589, 1995). En hombres, los efectos adversos de los estrógenos incluyen una coagulación sanguínea aumentada, ginecomastia, feminización y libido reducida.



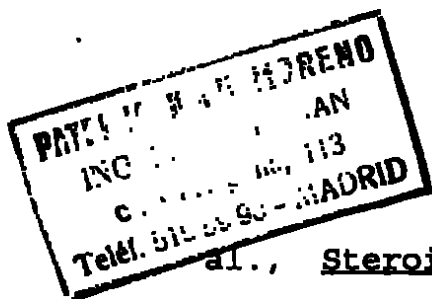
CAF
45

-30-

El término "mujeres postmenopáusicas" se define para incluir no sólo a mujeres de edad avanzada que han pasado la menopausia, sino también a mujeres que han sufrido histerectomía, o que por alguna otra razón han suprimido la producción de estrógeno, como las que se han sometido a una administración a largo plazo de corticosteroides, que sufren el síndrome de Cushion o que tienen disgenesia gonadal.

"Cáncer de mama" se define como una proliferación maligna de las células epiteliales que recubren los conductos o lóbulos del pecho.

Un "agonista/antagonista de estrógenos" es un compuesto que afecta a algunos de los mismos receptores a los que afectan los estrógenos, pero no a todos, y en algunos casos, antagoniza o bloquea a los estrógenos. También se conoce como "modulador del receptor de estrógenos selectivo" (SERM). Los agonistas/antagonistas de estrógenos pueden denominarse también como antiestrógenos aunque tienen cierta actividad estrogénica en algunos receptores de estrógenos. Por tanto, los agonistas/antagonistas de estrógenos no son los que se denominan habitualmente como "antiestrógenos puros". Los antiestrógenos que pueden actuar también como agonistas se denominan antiestrógenos de tipo I. Los antiestrógenos de tipo I activan el receptor de estrógenos para unirse fuertemente en el núcleo durante un tiempo prolongado, pero con una regeneración limitada de los receptores (Clark, et



CF
46

-31-

al., Steroids, 22:707, 1973, Capony et al., Mol Cell Endocrinol, 3:233, 1975).

El procedimiento citado antes para reducir la morbilidad y/o el riesgo de mortalidad se refiere de forma general a
5 beneficios y/o supervivencia a largo plazo. Los beneficios clínicos pueden observarse en unas pocas semanas, por ejemplo, de 2 a 3 semanas, sin embargo, esto no supone que los pacientes no se beneficien del tratamiento antes de la observación clínica real. Se prefiere sin embargo, que la
10 administración se efectúe a largo plazo; es decir, durante más de 16 semanas y, preferiblemente, durante más de 6 meses.

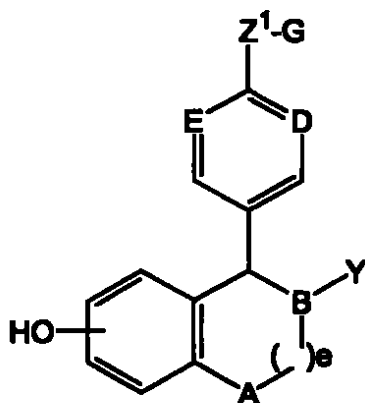
Sin limitarse a ninguna teoría particular, se cree que los agonistas/antagonistas de estrógenos de la presente invención y las composiciones que contienen aquellos
15 agonistas/antagonistas de estrógenos reducen el riesgo de mortalidad cardiovascular en hombres y reducen la morbilidad y el riesgo de mortalidad en mujeres postmenopáusicas debido a la actividad en los receptores de estrógenos. Los agonistas/antagonistas de estrógenos de la presente invención
20 ejercen un efecto estrogénico cardioprotector en animales y un efecto estrogénico en los huesos para tratar la osteoporosis. Los agonistas/antagonistas de estrógenos de la presente invención ejercen un efecto antiestrogénico en el tejido de la mama para prevenir o tratar el cáncer de mama
25 en animales. Los efectos se consiguen sin la posibilidad

concomitante de efectos adversos asociados a la administración de estrógenos debido a los efectos antiestrogénicos de los agonistas/antagonistas de estrógenos en otros tejidos tales como el tejido de la mama.

5 Los agonistas/antagonistas de la presente invención incluyen los compuestos descritos en el documento US 5.552.412, que se incorpora en la presente en su totalidad como referencia. Los compuestos se describen mediante la fórmula (I) dada a continuación:

10

15



(I)

en la que

A se selecciona de CH₂ y NR;

20

B, D y E se seleccionan independientemente de CH y N;

Y es

(a) fenilo, opcionalmente sustituido con de 1 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente de R⁴;

(b) naftilo, opcionalmente sustituido con de 1 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente de R⁴;

25

(c) cicloalquilo C_3-C_8 , opcionalmente sustituido con 1 a 2 sustituyentes seleccionados independientemente de R^4 ;

(d) cicloalqueno C_3-C_8 , opcionalmente sustituido con 1 a 2 sustituyentes seleccionados independientemente de R^4 ;

(e) un heterociclo de cinco miembros que contiene hasta dos heteroátomos seleccionados del grupo formado por $-O-$, $-NR^2-$ y $-S(O)_n-$, opcionalmente sustituido con de 1 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente de R^4 ;

(f) un heterociclo de seis miembros que contiene hasta dos heteroátomos seleccionados del grupo formado por $-O-$, $-NR^2-$ y $-S(O)_n-$, opcionalmente sustituido con de 1 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente de R^4 ; o

(g) un sistema de anillo bicíclico que comprende un anillo heterocíclico de cinco o seis miembros condensado con un anillo de fenilo, conteniendo el citado anillo heterocíclico hasta dos heteroátomos seleccionados del grupo formado por $-O-$, $-NR^2-$ y $-S(O)_n-$, opcionalmente sustituido con de 1 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente de R^4 ;

Z^1 es

(a) $-(CH_2)_pW(CH_2)_q-$;

(b) $-O(CH_2)_pCR^5R^6-$;

(c) $-O(CH_2)_pW(CH_2)_q-$;

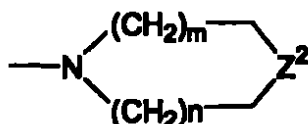
(d) $-OCHR^2CHR^3-$; o

(e) $-SCHR^2CHR^3-$;

G es

(a) $-NR^7R^8$;

5



(b)

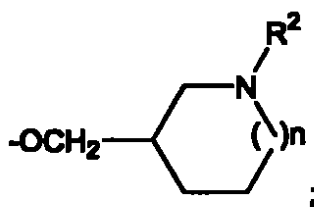
en la que n es 0, 1 ó 2; m es 1, 2 ó 3; Z^2 es

-NH-, -O-, -S- o $-CH_2-$; opcionalmente condensado sobre átomos
10 de carbono adyacentes con uno o dos anillos fenilo y,
opcionalmente, sustituido de forma independiente en el
carbono con de uno a tres sustituyentes y, opcionalmente, de
forma independiente en el nitrógeno con un sustituyente
químicamente adecuado seleccionado de R^4 ; o

15 (c) una amina bicíclica que contiene de cinco a
doce átomos de carbono, con los anillos unidos mediante un
puente o condensados y opcionalmente sustituidos con de 1 a
3 sustituyentes seleccionados independientemente de R^4 ; o

Z^1 y G combinados pueden ser

20

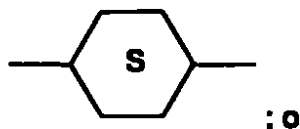


W es

25

(a) $-CH_2-$;

- (b) $-\text{CH}=\text{CH}-$;
(c) $-\text{O}-$;
(d) $-\text{NR}^2-$;
(e) $-\text{S}(\text{O})_n-$;
5 (f) $\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ -\text{C}- \end{array}$;
(g) $-\text{CR}^2(\text{OH})-$;
(h) $-\text{CONR}^2-$;
10 (i) $-\text{NR}^2\text{CO}-$;
(j)



- 15 (k) $-\text{C}=\text{C}-$;
R es hidrógeno o alquilo C_1-C_6 ;
 R^2 y R^3 son independientemente
(a) hidrógeno; o
(b) alquilo C_1-C_4 ;

- 20 R^4 es
(a) hidrógeno;
(b) halógeno;
(c) alquilo C_1-C_6 ;
(d) alcoxi C_1-C_4 ;
25 (e) aciloxi C_1-C_4 ;
(f) alquil(C_1-C_4)tio;

- (g) alquil (C₁-C₄) sulfinilo;
(h) alquil (C₁-C₄) sulfonilo;
(i) hidroxialquilo C₁-C₄;
(j) arilalquilo C₁-C₄;
5 (k) -CO₂H;
(l) -CN;
(m) -CONHOR;
(n) -SO₂NHR;
(o) -NH₂;
10 (p) alquil (C₁-C₄) amino;
(q) dialquil (C₁-C₄) amino;
(r) -NHSO₂R;
(s) -NO₂;
(t) -arilo; o
15 (u) -OH;
R⁵ y R⁶ son independientemente alquilo C₁-C₈ o forman conjuntamente un anillo carbocíclico C₃-C₁₀;
R⁷ y R⁸ son independientemente
(a) fenilo;
20 (b) un anillo carbocíclico C₃-C₁₀, saturado o insaturado;
(c) un anillo heterocíclico C₃-C₁₀ que contiene hasta dos heteroátomos seleccionados de -O-, -N- y -S-;
(d) H;
25 (e) alquilo C₁-C₆; o



8752

-37-

(f) forman un anillo de 3 a 8 miembros que contiene nitrógeno con R^5 o R^6 ;

R^7 y R^8 en forma lineal o de anillo pueden estar opcionalmente sustituidos con hasta tres sustituyentes 5 seleccionados independientemente de alquilo C_1-C_6 , halógeno, alcoxi, hidroxí y carboxi;

un anillo formado por R^7 y R^8 puede estar opcionalmente condensado con un anillo de fenilo;

e es 0, 1 ó 2;

10 m es 1, 2 ó 3;

n es 0, 1 ó 2;

p es 0, 1, 2 ó 3;

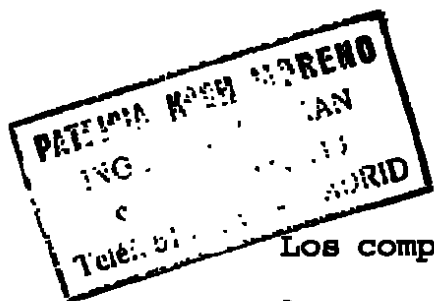
q es 0, 1, 2 ó 3;

y los isómeros ópticos y geométricos de los mismos; y 15 las sales de adición de ácidos, N-óxidos, ésteres, sales de amonio cuaternarias y profármacos de los mismos no tóxicos y farmacéuticamente aceptables.

Halo significa cloro, bromo, yodo o fluoro o halógeno significa cloro, bromo, yodo o flúor.

20 Alquilo significa un hidrocarburo saturado de cadena lineal o ramificada. Ejemplos de dichos grupos alquilo (suponiendo que la longitud designada comprende al ejemplo particular) son metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, sec-butilo, butilo terciario, isopentilo, hexilo e isohexilo.

25 Alcoxi significa alquilo saturado de cadena lineal o



53
54

-39-

Los compuestos de la invención especialmente preferidos para las composiciones y procedimientos son:

cis-6-(4-fluorofenil)-5-[4-(2-piperidin-1-il-etoxi)-fenil]-5,6,7,8-tetrahidro-naftalen-2-ol;

5 (-)-cis-6-fenil-5-[4-(2-pirrolidin-1-il-etoxi)-fenil]-5,6,7,8-tetrahidro-naftalen-2-ol;

cis-6-fenil-5-[4-(2-pirrolidin-1-il-etoxi)-fenil]-5,6,7,8-tetrahidro-naftalen-2-ol;

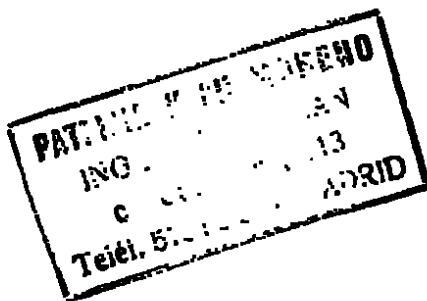
10 cis-1-[6'-pirrolidinoetoxi-3'-piridil]-2-fenil-6-hidroxi-1,2,3,4-tetrahidronaftaleno;

1-(4'-pirrolidinoetoxifenil)-2-(4"-fluorofenil)-6-hidroxi-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina;

cis-6-(4-hidroxifenil)-5-[4-(2-piperidin-1-il-etoxi)-fenil]-5,6,7,8-tetrahidronaftalen-2-ol; y

15 1-(4'-pirrolidinoetoxifenil)-2-fenil-6-hidroxi-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina y sus sales. Una sal especialmente preferida de los compuestos anteriores es la sal tartrato.

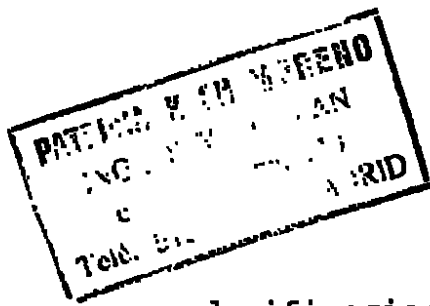
El químico medio experto reconocerá que ciertos compuestos de esta invención contendrán uno o más átomos que
20 pueden estar en una configuración estereoquímica, tautomérica o geométrica particular, dando lugar a estereoisómeros, tautómeros e isómeros conformacionales. Tales isómeros y las mezclas de los mismos se incluyen todos en esta invención. También se incluyen los hidratos de los compuestos de esta
25 invención.



56
55

-40-

La presente invención también incluye compuestos marcados con isótopos, que son idénticos a los descritos en la Fórmula I, salvo por el hecho de que uno o más átomos están reemplazados por un átomo que tiene una masa atómica o número másico diferentes de la masa atómica o número másico encontrados normalmente en la naturaleza. Ejemplos de isótopos que pueden incorporarse en los compuestos de la invención incluyen isótopos de hidrógeno, carbono, nitrógeno, oxígeno, fósforo, azufre, flúor y cloro, como ^2H , ^3H , ^{13}C , ^{14}C , ^{15}N , ^{18}O , ^{17}O , ^{31}P , ^{32}P , ^{35}S , ^{18}F y ^{36}Cl , respectivamente. Los compuestos de la presente invención, sus profármacos y las sales farmacéuticamente aceptables de dichos compuestos o de dichos profármacos que contienen los isótopos mencionados anteriormente y/u otros isótopos de otros átomos, están dentro del alcance de esta invención. Ciertos compuestos marcados con isótopos de la presente invención, por ejemplo, aquellos en los que se han incorporado isótopos radiactivos como ^3H y ^{14}C , son útiles en ensayos de distribución de fármacos y/o tejidos sustratos. Los isótopos tritio, es decir, ^3H , y de carbono 14, es decir, ^{14}C , son particularmente preferidos por su facilidad de preparación y de detección. Además, la sustitución con isótopos más pesados como el deuterio, es decir, ^2H , puede proporcionar ciertas ventajas terapéuticas originadas por la mayor estabilidad metabólica, por ejemplo, una mayor semivida in vivo o la necesidad de



58
56

-41-

dosificaciones menores y, por tanto, pueden ser preferidos en algunas circunstancias. Por lo general, los compuestos marcados con isótopos de Fórmula I de esta invención y sus profármacos se pueden preparar llevando a cabo los
5 procedimientos descritos y/o ejemplificados en la patente de los Estados Unidos 5.552.412 y sustituyendo un reactivo no marcado por un reactivo marcado con isótopos fácilmente disponible.

Los químicos farmacéuticos reconocerán fácilmente que
10 los compuestos fisiológicamente activos que tienen grupos hidroxilo accesibles se administran frecuentemente en forma de ésteres farmacéuticamente aceptables. La bibliografía relativa a dichos compuestos, como el estradiol, proporciona un gran número de ejemplos de dichos ésteres. Los compuestos
15 de esta invención no son una excepción a este respecto, y pueden administrarse eficazmente en forma de un éster, formado sobre los grupos hidroxilo, como un experto en química farmacéutica esperaría. Se cree que tales ésteres se escinden metabólicamente en el cuerpo, dando lugar al
20 compuesto con un grupo hidroxilo libre. Es posible, como se sabe desde hace mucho tiempo en química farmacéutica, ajustar la velocidad o la duración de la acción del compuesto mediante la elección apropiada de los grupos éster.

Se prefieren ciertos grupos éster como constituyentes
25 de los compuestos de esta invención. Los compuestos de

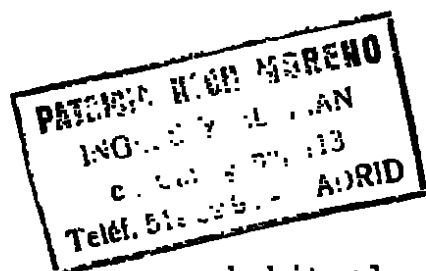
~~56~~ 57

-42-

5 fórmula I ó IA pueden contener grupos ésteres en diversas posiciones, como se ha definido anteriormente en la presente memoria, estando representados estos grupos por $-COOR^9$, R^9 es alquilo C_1-C_{14} , cloroalquilo C_1-C_3 , fluoroalquilo C_1-C_3 , cicloalquilo C_5-C_7 , fenilo o fenilo mono- o di-sustituido con alquilo C_1-C_4 , alcoxi C_1-C_4 , hidroxilo, nitro, cloro, fluoro o tri(cloro o fluoro)metilo.

Las sales de adición de ácidos farmacéuticamente aceptables de los compuestos de esta invención pueden formarse a partir del compuesto mismo, o de cualquiera de sus ésteres, e incluyen las sales farmacéuticamente aceptables que se utilizan a menudo en química farmacéutica. Por ejemplo, las sales pueden formarse con ácidos orgánicos o inorgánicos como ácido clorhídrico, bromhídrico, yodhídrico, ácidos sulfónicos incluyendo agentes como ácido naftalenosulfónico, metanosulfónico y toluenosulfónico, ácido sulfúrico, ácido nítrico, ácido fosfórico, ácido tartárico, ácido piro-sulfúrico, ácido metafosfórico, ácido succínico, ácido fórmico, ácido ftálico, ácido láctico y ácidos similares, lo más preferible con ácido clorhídrico, ácido cítrico, ácido benzoico, ácido maleico, ácido acético y ácido propiónico.

Los compuestos de esta invención, como se ha discutido antes, se pueden administrar en forma de sales de adición de ácidos. Las sales se forman convenientemente, como es



57
58

-43-

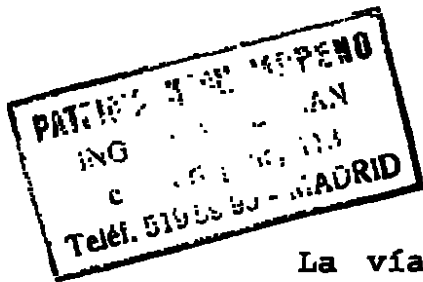
habitual en química orgánica, haciendo reaccionar el compuesto de esta invención con un ácido adecuado, como los descritos antes. Las sales se forman rápidamente con altos rendimientos a temperaturas moderadas, y se preparan a menudo
5 aislando simplemente el compuesto en un baño ácido adecuado como etapa final de la síntesis. El ácido que forma la sal se disuelve en un disolvente orgánico apropiado, o disolvente orgánico acuoso, como un alcohol, cetona o éster. Por otro lado, si se desea el compuesto de esta invención en forma de
10 base libre, se aísla en una etapa de lavado básico final, según la práctica habitual. Una técnica preferida para preparar clorhidratos es disolver la base libre en un disolvente adecuado y secar la disolución de forma cuidadosa, tal como con tamices moleculares, antes de burbujear cloruro
15 de hidrógeno gaseoso a su través. Una sal preferida de (-)-cis-6-fenil-5-[4-(2-pirrolidin-1-il-etoxi)-fenil]-5,6,7,8-tetrahidro-naftalen-2-ol es la sal D-(-)-tartrato.

La dosis de un compuesto de esta invención que se administra a un sujeto es más bien variable y está sujeta al
20 criterio del médico encargado. Se apreciará que puede ser necesario ajustar la dosis de un compuesto cuando éste se administre en forma de sal, como laurato, teniendo el resto que forma la sal un peso molecular apreciable.

Las siguientes cantidades de dosificación y otras
25 cantidades de dosificación establecidas en cualquier otra

parte de esta memoria descriptiva y en las reivindicaciones adjuntas, se dan para un sujeto humano medio con un peso de aproximadamente 65 kg a aproximadamente 70 kg. El experto será capaz de determinar fácilmente la cantidad de dosificación requerida para un sujeto cuyo peso se encuentre fuera del intervalo de 65 a 70 kg, basándose en el historial médico del sujeto y en la presencia de enfermedades, por ejemplo diabetes, en el sujeto. Todas las dosis establecidas en la presente memoria, y en las reivindicaciones adjuntas, son dosis diarias de la forma base libre de los agonistas/antagonistas de estrógenos. El cálculo de la cantidad de dosificación para otras formas distintas de la base libre como sales o hidratos se determina fácilmente realizando una simple proporción relativa a los pesos moleculares de las especies implicadas.

El intervalo general de administración eficaz de los agonistas/antagonistas de estrógenos varía de aproximadamente 0,001 mg/día a aproximadamente 10 mg/día. Un intervalo preferido varía de aproximadamente 0,010 mg/día a 5 mg/día. Por supuesto, a menudo es práctico administrar la dosis diaria del compuesto en porciones, a diversas horas del día. Sin embargo, en cualquier caso dado, la cantidad de compuesto administrado dependerá de factores tales como, la solubilidad del componente activo, la formulación utilizada y la vía de administración.



89
60

-45-

La vía de administración de los compuestos de esta invención no es crítica. Los compuestos son conocidos por su absorción en el tracto digestivo y por ello se prefiere normalmente administrar un compuesto oralmente por razones
5 de conveniencia. Sin embargo, los compuestos pueden administrarse de forma igualmente eficaz percutáneamente, o como supositorios para absorción en el recto, si se desea en un caso determinado. Pueden utilizarse todos los tipos habituales de composiciones, incluyendo comprimidos,
10 comprimidos masticables, cápsulas, soluciones, soluciones parenterales, trociscos, supositorios y suspensiones. Las composiciones se formulan para contener una dosis diaria, o una fracción conveniente de una dosis diaria, en una dosificación unitaria que puede ser un sólo comprimido o
15 cápsula o un volumen conveniente de líquido.

En general, todas las composiciones se preparan conforme a procedimientos usuales en la química farmacéutica y por aquellos procedimientos descritos y/o ejemplificados en la patente de los Estados Unidos 5.552.412.

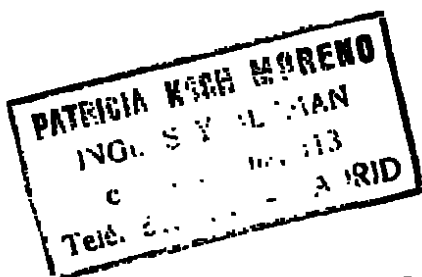
20 Las cápsulas se preparan por mezcla del compuesto o compuestos con un diluyente adecuado y llenando las cápsulas con la cantidad apropiada de la mezcla. Los diluyentes habituales incluyen sustancias inertes en polvo como almidón de muchos tipos diferentes, celulosa en polvo, especialmente
25 celulosa cristalina y microcristalina, azúcares como

fructosa, manitol y sacarosa, harinas de cereales y polvos comestibles similares.

Los comprimidos se preparan por compresión directa, por granulación húmeda, o por granulación en seco. Sus
5 formulaciones incorporan habitualmente además del compuesto diluyentes, ligantes, lubricantes y disgregantes. Los diluyentes típicos incluyen, por ejemplo, varios tipos de almidón, lactosa, manitol, caolín, fosfato o sulfato de calcio, sales inorgánicas como cloruro de sodio y azúcar en
10 polvo. Los derivados de celulosa en polvo son también útiles. Los ligantes de comprimidos típicos son sustancias como almidón, gelatina y azúcares como lactosa, fructosa, glucosa y similares. Las gomas naturales y sintéticas son también convenientes, incluyendo goma arábiga, alginatos,
15 metilcelulosa, polivinilpirrolidona y similares. También pueden servir como ligantes el polietilenglicol, la etilcelulosa y ceras.

Puede ser necesario un lubricante en una formulación de comprimidos para evitar que el comprimido y los punzones se
20 adhieran al troquel. El lubricante se elige de sólidos deslizantes como talco, estearato de magnesio y calcio, ácido esteárico y aceites vegetales hidrogenados.

Los disgregantes de comprimidos son sustancias que se hinchan cuando se humedecen, rompiendo el comprimido y
25 liberando el compuesto. Incluyen almidones, arcillas,



65
62

-47-

celulosas, alginas y gomas, más particularmente pueden utilizarse por ejemplo almidones de maíz y patata, metilcelulosa, agar, betonita, celulosa de madera, esponja natural en polvo, resinas de intercambio catiónico, ácido 5 algínico, goma guar, pulpa de cítricos y carboximetilcelulosa, así como laurilsulfato sódico.

Los comprimidos están recubiertos a menudo con azúcar como aromatizante y agente de revestimiento o con agentes protectores que forman una película para modificar las 10 propiedades de disolución del comprimido. Los compuestos pueden formularse también como comprimidos masticables utilizando grandes cantidades de sustancias de sabor agradable como manitol en la formulación, como está ahora bien establecido en la técnica.

15 Cuando se desea administrar un compuesto en forma de supositorio, pueden utilizarse las bases típicas. La manteca de cacao es una base de supositorio tradicional que puede modificarse por adición de ceras para aumentar ligeramente su punto de fusión. Se usan extensamente las bases de 20 supositorio miscibles en agua que comprenden, particularmente, polietilenglicoles de diversos pesos moleculares.

El efecto de los compuestos puede retardarse o prolongarse mediante una formulación apropiada. Por ejemplo, 25 se puede preparar un gránulo de disolución lenta del

compuesto e incorporarlo en un comprimido o cápsula. La técnica puede mejorarse preparando gránulos de varias velocidades de disolución diferentes y llenando las cápsulas con una mezcla de gránulos. Los comprimidos o cápsulas pueden
5 recubrirse con una película que resista la disolución durante un período predecible de tiempo. Incluso las preparaciones parenterales pueden hacerse de larga acción disolviendo o suspendiendo el compuesto en vehículos oleosos o emulsionados que les permite dispersarse lentamente en el suero.

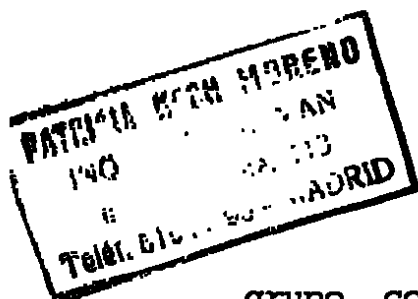
10 El término "profármaco" se refiere a compuestos que se transforman in vivo proporcionando el compuesto de la presente invención. La transformación puede ocurrir por diversos mecanismos, como por medio de hidrólisis en sangre. Una buena descripción del uso de profármacos se proporciona
15 en T. Higuchi and W. Stella, "Pro-drugs as Novel Delivery Systems", Vol. 14 de la A.C.S. *Symposium Series*, y en *Bioreversible Carriers in Drug Design*, ed. Edward B. Roche, American Pharmaceutical Association and Pergamon Press, 1987.

Por ejemplo, si un compuesto de la presente invención
20 contiene un grupo funcional ácido carboxílico, un profármaco puede comprender un éster formado por la sustitución del átomo de hidrógeno del grupo ácido por un grupo como alquilo (C_1-C_8), alcanoiloxi (C_2-C_{12})metilo, 1-(alcanoiloxi)etilo de 4 a 9 átomos de carbono, 1-metil-1-(alcanoiloxi)etilo de 5 a
25 10 átomos de carbono, alcoxicarboniloximetilo de 3 a 6 átomos

de carbono, 1-(alcoxycarboniloxi)etilo de 4 a 7 átomos de carbono, 1-metil-1-(alcoxycarboniloxi)etilo de 5 a 8 átomos de carbono, N-(alcoxycarbonil)aminometilo de 3 a 9 átomos de carbono, 1-(N-(alcoxycarbonil)amino)etilo de 4 a 10 átomos de carbono, 3-ftalidilo, 4-crotonolactonilo, gamma-butirolacton-4-ilo, di-N,N-(alquil C₁-C₂)amino(alquilo C₂-C₃) (como β-dimetilaminoetilo), carbamoilalquilo (C₁-C₂), N,N-di(alquil(C₁-C₂)carbamoilalquilo (C₁-C₂) y piperidino-, pirrolidino- o morfolinoalquilo (C₂-C₃).

10 De forma similar, si un compuesto de la presente invención comprende un grupo funcional alcohol, puede formarse un profármaco reemplazando el átomo de hidrógeno del grupo alcohol por un grupo como alcanoiloxi(C₁-C₆)metilo, 1-(alcanoiloxi C₁-C₆)etilo, 1-metil-1-(alcanoiloxi C₁-C₆)etilo, 15 (alcoxi C₁-C₆)carboniloximetilo, N-(alcoxi C₁-C₆)carbonilaminometilo, succinoflo, alcanoflo (C₁-C₆), α-aminoalcanoflo (C₁-C₄), arilacilo y α-aminoacilo o α-aminoacil-α-aminoacilo, seleccionándose cada grupo α-aminoacilo independientemente de los L-aminoácidos de origen 20 natural, P(O)(OH)₂, -P(O)(O(alquilo C₁-C₆))₂ o glicosilo (el radical resultante de la eliminación de un grupo hidroxilo de la forma hemiacetal de un carbohidrato).

Si un compuesto de la presente invención comprende un grupo funcional amino, se puede formar un profármaco 25 reemplazando un átomo de hidrógeno del grupo amino por un



65

-50-

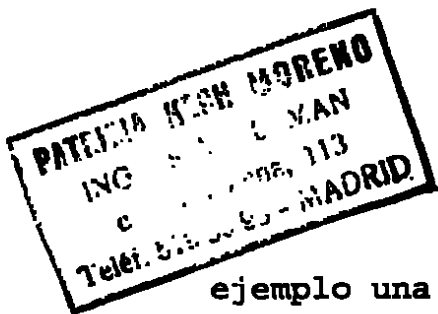
grupo como R^X -carbonilo, R^XO -carbonilo, NR^XR^X -carbonilo, siendo cada uno de R^X y R^X independientemente alquilo C_1-C_{10} , cicloalquilo C_3-C_7 , bencilo o R^X -carbonilo es un α -aminoacilo natural o α -aminoacilo natural- α -aminoacilo natural, -
5 $C(OH)C(O)OY^X$, (siendo Y^X H, alquilo C_1-C_6 o bencilo), -
 $C(OY^{X0})Y^{X1}$, siendo Y^{X0} alquilo C_1-C_4 y siendo Y^{X1} alquilo C_1-C_6 , carboxialquilo C_1-C_6 , aminoalquilo C_1-C_4 o mono-N- o di-N,N-(alquil C_1-C_6) aminoalquilo, $-C(Y^{X2})Y^{X3}$, siendo Y^{X2} H o metilo e Y^{X3} mono-N-o di-N,N-(alquil C_1-C_6) amino, morfolino, piperidin-
10 1-ilo o pirrolidin-1-ilo.

Tal y como se usa en la presente memoria, el término "cantidad eficaz" significa una cantidad de compuesto de los procedimientos de la presente invención que puede tratar los síntomas de las afecciones patológicas descritos. La dosis
15 específica de un compuesto administrado conforme a esta invención se determinará, por supuesto, por las circunstancias particulares que rodeen cada caso, incluyendo, por ejemplo, el compuesto administrado, la vía de administración, el estado del paciente y la gravedad de la
20 afección patológica que se trate.

Ventajosamente, la presente invención proporciona también estuches para uso por un consumidor para reducir la morbilidad cardiovascular y el riesgo de mortalidad en sujetos de ambos sexos o la morbilidad y/o el riesgo de
25 mortalidad en mujeres postmenopáusicas debido a los efectos

combinados de la enfermedad cardiovascular, el cáncer de mama y la osteoporosis. Los estuches comprenden a) una composición farmacéutica que comprende un agonista/antagonista de estrógeno y un excipiente, vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable; y b) instrucciones que describen un procedimiento de uso de la composición farmacéutica para reducir la morbilidad cardiovascular y el riesgo de mortalidad en sujetos de ambos sexos o la morbilidad y/o el riesgo de mortalidad en mujeres postmenopáusicas debido a los efectos combinados de la enfermedad cardiovascular, el cáncer de mama y la osteoporosis. Las instrucciones pueden indicar también que el estuche es para reducir la morbilidad cardiovascular y el riesgo de mortalidad en sujetos de ambos sexos o la morbilidad y/o el riesgo de mortalidad en mujeres postmenopáusicas debido a los efectos combinados de la enfermedad cardiovascular, el cáncer de mama y la osteoporosis, reduciendo al mismo tiempo la posibilidad concomitante de efectos adversos asociados a la administración de estrógenos.

"Estuche", tal y como se utiliza en la presente solicitud, incluye un envase para contener las composiciones separadas tal como un frasco dividido o un envase de lámina metálica dividido. El envase puede estar en cualquier configuración o forma como las conocidas en la técnica que se fabrican con un material farmacéuticamente aceptable, por

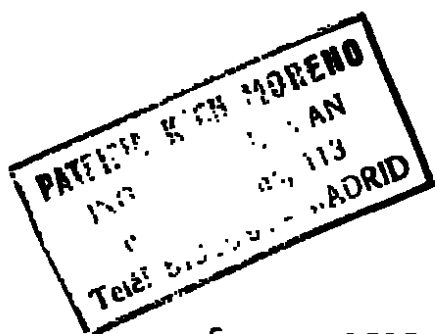


65
67

-52-

ejemplo una caja de papel o cartón, un frasco o un tarro de plástico o vidrio, una bolsa que puede cerrarse herméticamente repetidas veces (por ejemplo para mantener un "recambio" de comprimidos para colocar en un envase
5 diferente), o un envase blíster con dosis individuales que se extraen presionando el envase según una programación terapéutica. El envase utilizado puede depender de la forma de dosificación exacta implicada, por ejemplo una caja de cartón convencional no sería generalmente adecuada para
10 mantener una suspensión líquida. Es factible que puedan utilizarse más de un envase juntos en un único paquete para comercializar una forma de dosificación simple. Por ejemplo, los comprimidos pueden estar contenidos en un frasco que está a su vez contenido en una caja.

15 Un ejemplo de dicho estuche es el denominado envase blíster. Los envases blíster son bien conocidos en la industria del envasado y se usan ampliamente para envasar formas de dosificación unitarias farmacéuticas (comprimidos, cápsulas y similares). Los envases blíster están formados por
20 lo general por una lámina de material relativamente rígido cubierta con una delgada hoja de un material plástico, preferiblemente transparente. Durante el procedimiento de envasado, se conforman unos alveolos en la hoja delgada de plástico. Los alveolos tienen el tamaño y la forma de los
25 comprimidos o cápsulas a envasar o pueden tener el tamaño y



67
68

-53-

forma necesario para alojar varios comprimidos y/o cápsulas.

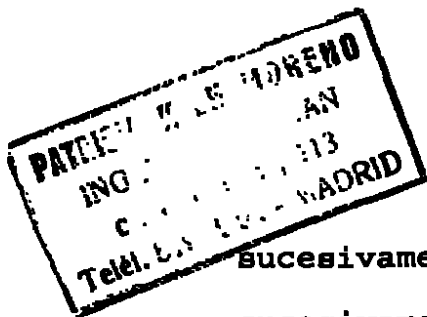
A continuación, se colocan en los alveolos los comprimidos o cápsulas y se sella la lámina de material relativamente rígido a la hoja delgada de plástico por la cara de la hoja

5 opuesta a la dirección en que se han conformado los alveolos.

Como resultado, los comprimidos o cápsulas quedan, individual o colectivamente, según se desee, herméticamente cerrados en los alveolos entre la hoja delgada de plástico y la lámina.

Con preferencia, la resistencia de la lámina es tal que los
10 comprimidos o cápsulas se pueden extraer del envase blíster aplicando una presión manual sobre los alveolos, mediante la cual se practica una abertura en la lámina en la posición donde se encuentra el alveolo. El comprimido o cápsula pueden extraerse entonces a través de dicha abertura.

15 Puede ser deseable proporcionar un recordatorio escrito en el estuche, siendo el recordatorio escrito del tipo que contiene información y/o instrucciones para el médico, farmacéutico o paciente, por ejemplo, en forma de números próximos a los comprimidos o cápsulas, de forma que los
20 números correspondan a los días de la pauta de administración en la que deben ingerirse los comprimidos o cápsulas especificados o una tarjeta que contenga la misma información. Otro ejemplo de dicho recordatorio es un calendario impreso en la tarjeta, por ejemplo, tal como
25 sigue" Primera semana, Lunes, Martes...", y así



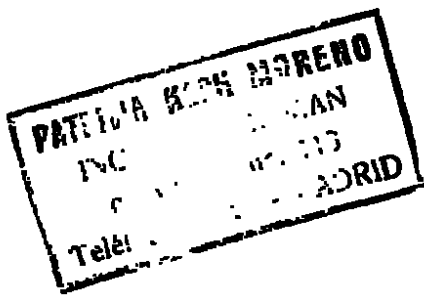
68
69

-54-

Sucesivamente. "Segunda semana, Lunes, Martes...", y así sucesivamente". Serán evidentes otras variaciones de recordatorio. Una "dosis diaria" puede ser un único comprimido o cápsula o varios comprimidos o cápsulas que se
5 deben tomar en un día dado. Cuando el estuche contenga composiciones separadas, una dosis diaria de una o más composiciones del estuche puede consistir en un comprimido o cápsula, mientras que una dosis diaria de otra o más composiciones puede consistir en varios comprimidos o
10 cápsulas.

Otra realización preferida de un estuche es un dispensador diseñado para dispensar las dosis diarias en cada momento en el orden de su uso deseado. Con preferencia, el dispensador está dotado de un recordatorio, para facilitar
15 el cumplimiento de la pauta de dosificación. Un ejemplo de dicho recordatorio es un contador mecánico que indique el número de dosis diarias que se han dispensado. Otro ejemplo de dicho recordatorio es una memoria de microprocesador que funcione a pilas acoplada a una pantalla de cristal líquido,
20 o una señal de recuerdo audible que, por ejemplo, muestre la fecha en que se ha tomado la última dosis y/o recuerde cuando debe tomarse la dosis siguiente.

Basándose en la lectura de la presente descripción y reivindicaciones, resultarán evidentes para los expertos en
25 la técnica ciertas modificaciones de las composiciones y



68
70

-55-

procedimientos descritos en la presente. Se pretende que las reivindicaciones adjuntas a la presente memoria incluyan estas modificaciones.

Todas las referencias y patentes citadas en la presente se incorporan como referencia.

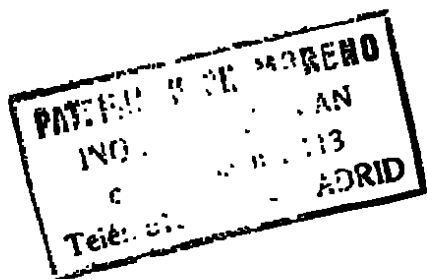
EJEMPLOS

Ejemplo 1: Unión del receptor de estrógenos

Se midió la afinidad de unión de estrógenos y agonista/antagonista de estrógenos mediante el siguiente protocolo:

Clonación de cDNA de ER α humano: Se clonó la región de codificación de ER α humano por RT-PCR de mRNA de células de cáncer de mama humanas utilizando Expand™ High Fidelity PCR System según las instrucciones del fabricante (Boehringer-Mannheim, Indianápolis, IN). Se clonaron los productos de PCR en pCR2.1 TA Cloning Kit (Invitrogen, Carlsbad, CA) y se secuenciaron. Se subclonó cada región de codificación de receptor en el vector de expresión de mamíferos pcDNA3 (Invitrogen, Carlsbad, CA).

Expresión en células de mamífero: Se sobreexpresaron proteínas receptoras en células 293T. Estas células, derivadas de células HEK293 (ATCC, Manassas, VA), se han modificado genéticamente para expresar de forma estable el antígeno T mayor y poder por lo tanto replicar plásmidos que contienen un origen de replicación SV40 a números elevados



70
71

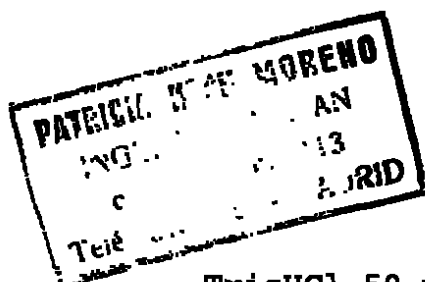
-56-

de copias. Las células 293T se transfectaron con hER α -pcDNA3 o hER β -pcDNA3 utilizando lipofectamina como describe el fabricante (Gibco/BRL, Bethesda, MD). Se recogieron las células en suero salino tamponado con fosfato (PBS) con EDTA 0,5 mM 48 horas después de la transfección. Se lavaron los sedimentos celulares una vez con PBS/EDTA. Se prepararon lisados de células enteras por homogeneización en tampón TEG (Tris 50 mM, pH 7,4, EDTA 1,5 mM, NaCl 50 mM, glicerol al 10%, DTT 5 mM, aprotinina 5 μ g/ml, leupeptina 10 μ g/ml, Pefabloc 0,1 mg/ml), utilizando un homogeneizador Dounce. Se centrifugaron los extractos a 100.000 x g durante 2 horas a 4°C y se recogieron los sobrenadantes. Se determinaron las concentraciones de proteína total utilizando un reactivo BioRad (BioRad, Hercules, CA).

15 Ensayo de unión competitiva: Se midió la capacidad de diversos compuestos para inhibir la unión de [3 H]-estradiol mediante un ensayo de unión competitiva utilizando carbón recubierto con dextrano como se ha descrito (Leake R.E., Habib F., 1987 Steroid Hormone receptors: assay and characterization en: B. Green y R.E. Leake (eds). Steroid Hormones, a Practical Approach. IRL Press Ltd, Oxford, 67-92). Los extractos de células 293T que expresaban hER α o hER β se incubaron en presencia de concentraciones crecientes del compuesto a ensayar y una concentración fija de [3 H]-estradiol (141 μ Ci/mmol, New England Nuclear, Boston, MA) en

20

25



72

-57-

TrisHCl 50 mM, pH 7,4, EDTA 1,5 mM, NaCl 50 mM, glicerol al 10%, DTT 5 mM, β -lactoglobulina 0,5 mg/ml en un volumen final de 0,2 ml. Se disolvieron todos los compuestos a ensayar en dimetilsulfóxido. La concentración final del receptor fue 50 pM con [3 H]-estradiol 0,5 nM. Después de 16 horas a 4°C, se añadió el carbón recubierto con dextrano (20 μ l). Después de 15 minutos a temperatura ambiente, se eliminó el carbón por centrifugación y se midió el ligando radiactivo presente en el sobrenadante por recuento de centelleo. Todos los reactivos se obtuvieron de Sigma (St. Louis. MO) a menos que se indique otra cosa.

Se midieron la afinidad de unión del (-)-cis-6-fenil-5-[4-(2-pirrolidin-1-iletoxi)fenil]-5,6,7,8-tetrahidronaftalen-2-ol (PPTN) y del 17 β -estradiol utilizando receptor de estrógeno humano (ER) recombinante. La figura 1 muestra los resultados del experimento de unión en el que se encontró que la unión de PPTN era similar a la de 17 β -estradiol.

Ejemplo 2: Inhibición in vitro del crecimiento de células tumorales de mama humanas.

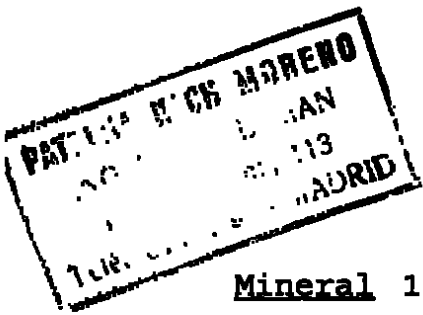
Se ensayaron los efectos antiproliferativos in vitro del (-)-cis-6-fenil-5-[4-(2-pirrolidin-1-iletoxi)fenil]-5,6,7,8-tetrahidronaftalen-2-ol (PPTN) utilizando dos tipos de líneas celulares humanas de cáncer de mama: en primer lugar, células MCF-7, que contenían ER, así como receptores de progesterona (PgR), y en segundo lugar, células MDA-MB-231, que carecían

de ER y PgR y posibilitaban la determinación de un efecto que es independiente del mecanismo ER. El efecto de PPTN sobre el crecimiento de estas diferentes líneas celulares se determinó por incubación de las células a diversas 5 concentraciones de compuesto durante 6 días.

Se determinaron entonces los efectos antiproliferativos por recuento directo de células. El PPTN inhibió el crecimiento de la línea celular MCF-7 ER positiva. La IC_{50} para la inhibición del crecimiento era aproximadamente de 3 10 a 5×10^{-11} M. En las líneas celulares MDA-MB-231 ER negativas, el compuesto no inhibió la proliferación celular. Estos resultados indican que la inhibición del crecimiento era específica de ER y no debida a la citotoxicidad, ya que el compuesto no tenía un efecto medible sobre la línea 15 celular ER negativa.

Ejemplo 3: Efecto del (-)-cis-6-fenil-5-[4-(2-pirrolidin-1-iletoksi)fenil]-5,6,7,8-tetrahidronaftalen-2-ol (PPTN) en el Modelo de Rata Ovariectomizada: Un Modelo de Osteoporosis Postmenopáusica.

20 En mujeres, la deficiencia de estrógenos durante la menopausia da como resultado un mayor recambio óseo que conduce a una pérdida ósea. La ovariectomía en ratas produce una deficiencia de estrógenos y una recambio óseo aumentada que conduce a una pérdida ósea trabecular similar a la 25 observada en mujeres postmenopáusicas (Kalu, D.N., Bone and



73
74

-59-

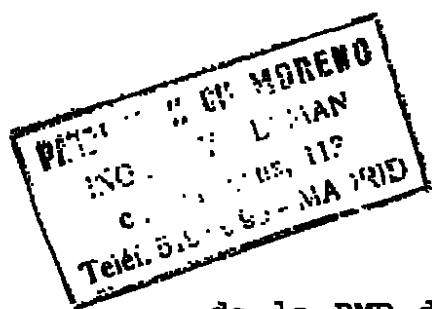
Mineral 1991, 15:175, Frost, H.M., Jee, W.S.S., Bone and Mineral 1992, 18:227, Wronski, T.J., Yen, C-F, Cells Materials 1991, (supl. 1):69). Las ratas OVX son pues un modelo apropiado para evaluar los compuestos para la
5 prevención y tratamiento de la osteoporosis postmenopáusica. La capacidad del PPTN de inhibir la pérdida ósea por deficiencia de estrógenos fue evaluada en ratas OVX de 5 meses de edad, ya que la ovariectomía produce pérdidas óseas significativas en las vértebras lumbares, tibia proximal y
10 metáfisis femoral distal (Ke, H.Z., et al., Endocrin 1995, 136:2435, Chen, H.K., et al., J. Bone Miner. Res. 1995, 10:1256).

Se trataron ratas hembra OVX de cinco meses de edad con PPTN en dosis orales de 0,733, 7,33, 73,3 y 733 $\mu\text{g/kg/día}$,
15 o con 17α -etinilestradiol (EE) a 30 $\mu\text{g/kg/día}$ (10 ratas por subgrupo) diariamente durante 4 semanas. El tratamiento oral empezó 1 día después de la cirugía. Un grupo de ratas ovariectomizadas de forma simulada tratadas con vehículo (n=10) y ratas OVX tratadas con vehículo (n=10) sirvieron
20 como controles. Se inyectó calceína a 10 mg/kg subcutáneamente a todas las ratas 12 y 2 días antes de la autopsia como marcador óseo fluorocrómico para medir los parámetros histomorfométricos dinámicos óseos. Se determinaron los efectos del PPTN sobre los siguientes
25 objetivos: (a) osteocalcina en suero, un marcador bioquímico

de la recambio óseo, (b) densidad mineral ósea de las vértebras lumbares y metáfisis femoral distal, (c) histomorfometría ósea del quinto cuerpo vertebral lumbar y metáfisis tibial proximal.

5 Se determinó la concentración de osteocalcina por radioinmunoensayo. Cuatro semanas después de la cirugía, la concentración de osteocalcina aumentó significativamente en un 85% de los controles OVX tratados con vehículo, comparado con los controles simulados tratados con vehículo. Este
10 aumento se previno completamente por tratamiento con PPTN a dosis $\geq 7,33 \mu\text{g/kg/día}$, o por tratamiento con EE. Por lo tanto, $7,33 \mu\text{g/kg/día}$ tanto de PPTN como de EE previnieron el aumento de la concentración de osteocalcina inducida por deficiencia de estrógenos en rata. Estos datos sugieren que
15 el PPTN inhibe la recambio óseo inducida por deficiencia de estrógenos.

Se extrajeron de la primera a la sexta vértebras lumbares de cada rata durante la autopsia. Estas se exploraron ex vivo utilizando absorciometría de rayos X de
20 doble energía. Se analizaron las imágenes de barrido y se determinaron el área ósea, el contenido mineral óseo (BMC) y la densidad mineral ósea (BMD) de las vértebras lumbares (WLVI) y de LV1 a LV6. Las áreas óseas de WLVI y de LV1 a LV6 no difirieron entre los grupos. Los cambios del BMC fueron
25 similares a los observados para la BMD. Además, los cambios



78
76

-61-

de la BMD de las WLIV fueron idénticos a los observados en cada una de las seis vértebras. Por lo tanto, sólo se comunican los cambios en las vértebras lumbares completas.

Después de la ovariectomía con tratamiento con vehículo,
5 se encontró una reducción significativa de la BMD de las vértebras lumbares 4 semanas después de la ovariectomía. El PPTN a todos los niveles de dosis y el EE previnieron totalmente la reducción de la BMD vertebral lumbar. Además, la BMD en ratas OVX tratadas con 73,3 $\mu\text{g/kg/día}$ de PPTN
10 aumentó significativamente comparada con los controles simulados y OVX. Estos datos indican que PPTN a dosis tan bajas como 0,733 $\mu\text{g/kg/día}$ prevenía completamente la pérdida ósea vertebral lumbar inducida por deficiencia de estrógenos.

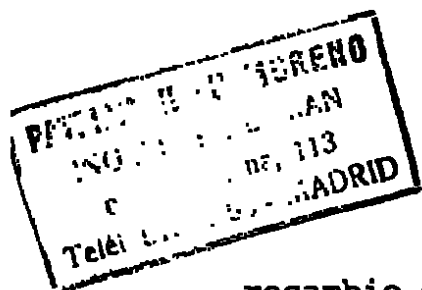
Para comprender el mecanismo celular de los efectos de
15 protección ósea del PPTN en los tejidos, se utilizaron procedimientos histomorfométricos para determinar los efectos de PPTN sobre hueso esponjoso del quinto cuerpo vertebral lumbar en ratas OVX. La ovariectomía produjo reducciones significativas del volumen óseo trabecular (área ósea
20 trabecular dividida entre el área de espacio de la médula, expresado en porcentaje) y del número trabecular, y un aumento significativo de la separación trabecular del quinto cuerpo vertebral lumbar. Estos cambios inducidos por la ovariectomía fueron completamente prevenidos por el
25 tratamiento con todas las dosis de PPTN y EE. Además, el

número trabecular aumentó significativamente en ratas OVX tratadas con EE o con PPTN a 73,3 o 733 $\mu\text{g/kg/día}$ comparado con los controles simulados. Estos datos revelaron que el PPTN es un agente de protección ósea en ratas deficientes en estrógenos. La DE_{50} de PPTN en la prevención de la masa y estructura ósea esponjosa vertebral lumbar en ratas OVX era menor de 0,733 $\mu\text{g/kg/día}$.

Se encontró un aumento significativo del porcentaje de superficie erosionada (+59%), un índice de resorción ósea osteoclástica, en ratas OVX tratadas con vehículo en comparación con los controles simulados tratados con vehículo. De manera similar al EE, el PPTN a todos los niveles de dosis redujo significativamente el porcentaje de superficie erosionada en ratas OVX en comparación con los controles simulados. Por lo tanto, el PPTN previno la pérdida ósea en ratas OVX por inhibición de la resorción ósea asociada a la deficiencia de estrógenos.

La ovariectomía dio como resultado un aumento significativo de la tasa de formación de hueso (BFR, cantidad de formación de hueso por unidad de superficie ósea), un índice del recambio óseo, mientras que el EE y el PPTN a todos los niveles de dosis inhibieron este aumento.

La tasa de recambio óseo aumentó significativamente en ratas OVX tratadas con vehículo en comparación con los controles simulados tratados con vehículo. La tasa de



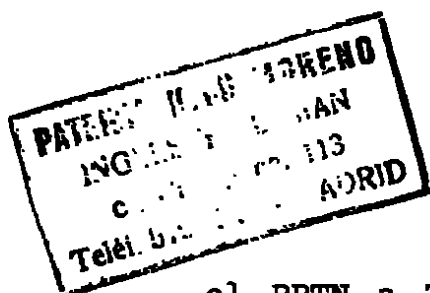
77
78

recambio óseo en ratas OVX tratadas con PPTN o EE no difería de los controles simulados, indicando que el PPTN a todos los niveles de dosis y el EE prevenían completamente el aumento de la recambio óseo asociada a la deficiencia de estrógenos.

5 En resumen, el PPTN prevenía la pérdida ósea vertebral lumbar por inhibición de la resorción ósea y de la recambio óseo asociada a la deficiencia de estrógenos de una manera no distinguible del estrógeno. La DE_{50} de PPTN en la conservación de hueso trabecular en este modelo era menor de
10 0,733 $\mu\text{g/kg/día}$.

Utilizando absorciometría de rayos X de doble energía, se exploró el fémur derecho de cada rata ex vivo. Se determinaron la densidad mineral ósea (BMD) de las metáfisis femorales distales (los 0,5 cm del extremo distal del fémur)
15 y el fémur proximal (los primeros 0,5 cm del extremo proximal del fémur, que contiene la cabeza, el cuello y el trocánter mayor).

Cuatro semanas después de la ovariectomía en ratas tratadas con vehículo, la BMD de las metáfisis femorales
20 distales y fémures proximales se redujo significativamente. el EE previno la reducción de la BMD en las metáfisis femorales distales, pero no tuvo efecto en la BMD femoral proximal. En ratas OVX tratadas con PPTN a 0,733 o 7,33 $\mu\text{g/kg/día}$, la BMD de las metáfisis femorales distales y el
25 fémur proximal no difería de los controles OVX. Sin embargo,



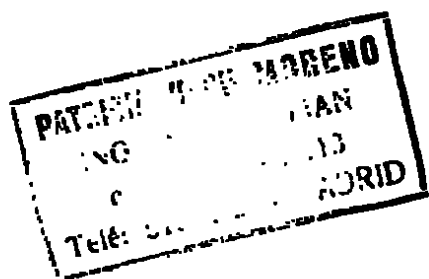
28
79

-64-

el PPTN a 73,3 y 733 $\mu\text{g/kg/día}$ prevenía completamente la reducción de la BMD de las metáfisis femorales distales y del fémur proximal en ratas OVX.

Para determinar el efecto del PPTN sobre las metáfisis de huesos largos, se realizaron análisis histomorfométricos en la tibia proximal. El volumen óseo trabecular se redujo significativamente en controles OVX tratados con vehículo en comparación con los controles simulados. El PPTN a dosis $\geq 7,33 \mu\text{g/kg/día}$ tenía un efecto sobre el volumen óseo trabecular significativamente mayor en comparación con los controles OVX. A $0,733 \mu\text{g/kg/día}$, el PPTN no tuvo un efecto significativo sobre el volumen óseo trabecular. La DE_{50} de PPTN en la conservación de la masa ósea trabecular tibial proximal en ratas OVX estaba entre $0,733$ y $7,33 \mu\text{g/kg/día}$.

Se encontraron aumentos significativos de los índices de resorción ósea osteoclástica (número de osteoclastos por milímetro de superficie de hueso y porcentaje de superficie de osteoclasto) en ratas OVX tratadas con vehículo en comparación con los controles simulados tratados con vehículo. De manera similar al EE, el PPTN a niveles de dosis de 7,33, 73,7 y 733 $\mu\text{g/kg/día}$ redujo significativamente el número de osteoclastos por milímetro de superficie ósea y porcentaje de superficie de osteoclasto, comparado con los controles simulados y OVX. Además, el porcentaje de superficie de osteoclasto se redujo significativamente en



-65-

ratas OVX tratadas con PPTN a 0,733 $\mu\text{g/kg/día}$ comparado con los controles OVX.

La ovariectomía aumentó significativamente la tasa de recambio óseo en hueso trabecular tibial proximal en comparación con los controles simulados tratados con vehículo. La tasa de recambio óseo en ratas OVX tratadas con PPTN o EE no difería de la de los controles simulados, con la excepción del PPTN a una dosis de 0,733 $\mu\text{g/kg/día}$, indicando que el PPTN a dosis de 7,33 a 733 $\mu\text{g/kg/día}$ prevenía el aumento en recambio óseo asociado a la deficiencia de estrógenos y la mantenía a los niveles del control simulado.

En resumen, el PPTN tenía efectos similares en la conservación de la densidad mineral ósea y del volumen óseo trabecular tanto en tibia proximal como en vértebras lumbares. La discrepancia entre vértebras lumbares y tibia proximal en la respuesta a la administración de el PPTN se encontró sólo a 0,733 $\mu\text{g/kg/día}$, lo que indicaba que PPTN a 0,733 $\mu\text{g/kg/día}$ prevenía completamente la pérdida ósea en vértebras lumbares y no conseguía hacerlo en tibia proximal. Por lo tanto, la DE_{50} de PPTN en la conservación de masa ósea esponjosa y en la inhibición de la resorción ósea era menor de 0,733 $\mu\text{g/kg/día}$ en vértebras lumbares y entre 0,733 y 73,3 $\mu\text{g/kg/día}$ en tibia proximal.

Ejemplo 4: Formación de Óxido Nítrico por Células

80
81

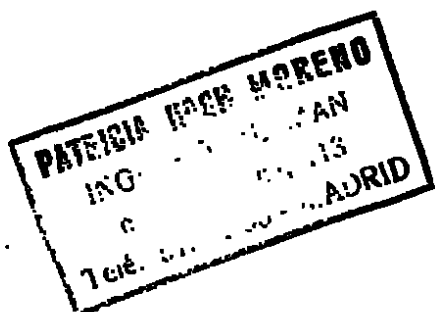
INC. C. 1003 no. 113
Teléf. 513 44 93 - MADRID

Endoteliales Cultivadas

Se valora la formación de NO determinando el GMP cíclico intracelular en células endoteliales cultivadas, mientras que la liberación de NO de estas células se mide por el efecto
5 estimulador del NO sobre la actividad de la guanilil ciclase soluble (Lückhoff, et al., Br J Pharmacol, 95:189, 1988; Wiemer, et al., Hypertension, 18:558, 1991; Linz, et al., J Mol Cell Cardiol, 24:909, 1992).

Se obtiene aorta bovina y porcina y se aíslan las
10 células endoteliales por digestión con dispasa. Las células se siembran en placas de 6 o de 24 pocillos y se desarrollan hasta la confluencia. Se suplementa medio Eagle modificado de Dulbecco/medio F-12 de Ham que contenía suero de ternero fetal al 20% con penicilina (10 U/ml), estreptomycin (10
15 mg/ml), L-glutamato (1 mM/l), glutatión (5 mg/ml) y ácido L-(+)-ascórbico (5 mg/ml).

Se usan cultivos primarios de células endoteliales. Después de retirar el medio de cultivo por aspiración, se lava la monocapa dos veces con 2 ml de solución HEPES-Tyrode
20 (37°C). Seguidamente, las células se preincuban durante 15 minutos a 37°C con 3-isobutil-1-metil-xantina (IBMX) (10^{-4} M). Después de este tiempo, se añaden los compuestos o disolventes. Después de períodos de tiempo predeterminados, se retira rápidamente el medio de incubación. Las células se
25 extraen inmediatamente con 0,6 ml de ácido tricloroacético



82

-67-

al 6% y se despegan por raspado con una espátula de goma. La suspensión celular se somete a ultrasonidos durante 10 segundos antes de centrifugarla durante 5 minutos a 4.000 g. Los líquidos sobrenadantes se extraen con cuatro volúmenes de éter dietílico acuoso saturado y las muestras se congelan (-20°C) hasta su análisis. El contenido en proteínas de la muestra se mide según Lowry et al., (J Biol Chem, 193:265, 1951). El GMP cíclico se puede determinar en las muestras acetiladas por diversos métodos (Heath et al., Which Cyclic GMP Assay?, en Moncada, S., et al., (eds) The Biology of Nitric Oxide: 2 Enzymology, Biochemistry and Immunology. Portland Press, Londres, página 98, 1992), por ejemplo, usando un radioinmunoensayo disponible de forma comercial (New England Nuclear). El contenido de GMP cíclico se expresa como picomoles de GMP por miligramo de proteína.

La liberación de NO de las células endoteliales se ensaya en base al efecto estimulador del NO sobre la actividad de la guanilil ciclase soluble (purificada a partir de pulmón bovino) (Gerzer, et al., Eur J Biochem 116:479, 1981). La actividad de la enzima se determina en términos de la formación de [³²P]GMP cíclico a partir de α[³²P]GMP. Las reacciones se llevan a cabo en una mezcla de reacción que contiene trietanolamina 30 mM, HCl (pH 7,4), glutatión reducido 1 mM, MgCl₂ 4 mM, cGMP 1 mM y 0,1 mg/ml de g-globulina bovina (volumen total de 0,18 ml) a 37°C en

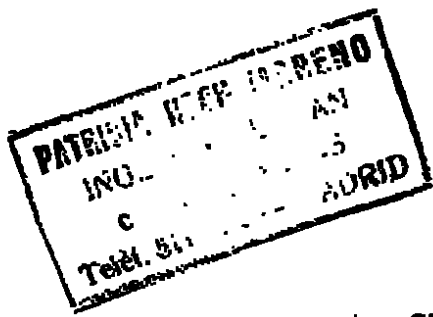
-68-

presencia de α [32 P]GMP (0,03 mM; 0,2 mCi) y guanilil ciclase soluble (4 mg). Se traspasan rápidamente muestras de diez mililitros a la mezcla de reacción. La formación enzimática de cGMP se deja proceder durante 60 segundos y luego se
5 interrumpe mediante la adición de 450 ml de acetato de cinc (120 mM) y 500 ml de carbonato sódico (120 mM). Se puede conseguir una inhibición total de la formación de cGMP mediante una incubación previa de las monocapas durante 30 minutos con el inhibidor estereoespecífico de la NO sintasa,
10 N^G-nitro-L-arginina.

Se obtienen curvas de tiempo-respuesta y de dosis-respuesta después de la adición de agonistas/antagonistas de estrógenos de la presente invención. Los datos se expresan como valores medios + SEM de cGMP (pmol/mg de proteína) o
15 como actividad de la guanilil ciclase (nmol/mg/min).

Ejemplo 5: Morbilidad y Riesgo de Mortalidad en Enfermedad Cardiovascular Estable

Se valoran los efectos de los agonistas/antagonistas de estrógenos para reducir la morbilidad y/o el riesgo de
20 mortalidad cardiovascular en una población de riesgo utilizando medidas de electrocardiograma (ECG) como punto final. La presencia de isquemia de miocardio, evidenciada por el ECG, es un dato predictivo independiente no invasivo de episodios clínicos adversos en pacientes con enfermedad
25 coronaria estable (CAD). La presencia de depresión en el



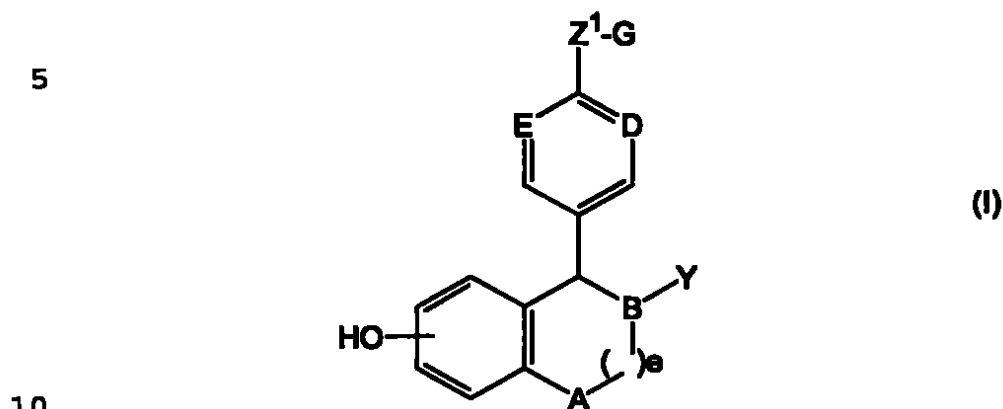
Ps
84

-69-

segmento ST en el ECG de reposo predice una mayor morbilidad y mortalidad (Chaitman, B.R., et al., J Am Coll Cardiol 1995; 26:585; Stone, P.H., et al., Am J Cardiol 1997;80:1395). El desarrollo de depresión en el segmento ST inducida por
5 esfuerzo es el marcador no invasivo convencional de un mal pronóstico y sirve como guía clínica fundamental para identificar la necesidad de angiografía coronaria y revascularización de pacientes con CAD. Los episodios de depresión del segmento ST durante las actividades de la vida
10 diaria, identificadas por el control del ECG ambulatorio (Holter) proporciona una información de pronóstico adicional. En un estudio clínico al azar doble ciego, pacientes de riesgo recibieron un agonista/antagonista de estrógenos o placebo. El ECG se controla de forma continua por un control
15 Holter o mediante medidas del ECG diarias o periódicas. Una eliminación o reducción significativa de la depresión del segmento ST en los pacientes que reciben agonista/antagonista de estrógenos indica una reducción posible de la morbilidad y/o el riesgo de mortalidad cardiovascular.

REIVINDICACIONES

1. El uso de un agonista/antagonista de estrógenos de fórmula (I):



en la que

A se selecciona de CH₂ y NR;

B, D y E se seleccionan independientemente de CH y N;

15 Y es

(a) fenilo, opcionalmente sustituido con de 1 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente de R⁴;

(b) naftilo, opcionalmente sustituido con de 1 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente de R⁴;

20 (c) cicloalquilo C₃-C₈, opcionalmente sustituido con 1 a 2 sustituyentes seleccionados independientemente de R⁴;

(d) cicloalquenilo C₃-C₈, opcionalmente sustituido con 1 a 2 sustituyentes seleccionados independientemente de R⁴;

25 (e) un heterociclo de cinco miembros que contiene

hasta dos heteroátomos seleccionados del grupo formado por -O-, -NR²- y -S(O)_n-, opcionalmente sustituido con de 1 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente de R⁴;

(f) un heterociclo de seis miembros que contiene hasta dos heteroátomos seleccionados del grupo formado por -O-, -NR²- y -S(O)_n-, opcionalmente sustituido con de 1 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente de R⁴; o

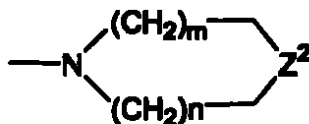
(g) un sistema de anillo bicíclico que comprende un anillo heterocíclico de cinco o seis miembros condensado con un anillo de fenilo, conteniendo el citado anillo heterocíclico hasta dos heteroátomos seleccionados del grupo formado por -O-, -NR²- y -S(O)_n-, opcionalmente sustituido con de 1 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente de R⁴;

15 Z¹ es

- (a) - (CH₂)_pW(CH₂)_q-;
- (b) -O(CH₂)_pCR⁵R⁶-;
- (c) -O(CH₂)_pW(CH₂)_q-;
- (d) -OCHR²CHR³-; o
- 20 (e) -SCHR²CHR³-;

G es

- (a) -NR⁷R⁸;
- (b)



25

en la que n es 0, 1 ó 2; m es 1, 2 ó 3; Z^2 es
 -NH-, -O-, -S- o -CH₂-; opcionalmente condensado sobre átomos
 de carbono adyacentes con uno o dos anillos fenilo y,
 opcionalmente, sustituido de forma independiente en el
 5 carbono con de uno a tres sustituyentes y, opcionalmente, de
 forma independiente en el nitrógeno con un sustituyente
 químicamente adecuado seleccionado de R^4 ; o

(c) una amina bicíclica que contiene de cinco a
 doce átomos de carbono, con los anillos unidos mediante un
 10 puente o condensados y opcionalmente sustituidos con de 1 a
 3 sustituyentes seleccionados independientemente de R^4 ; o

Z^1 y G combinados pueden ser



W es

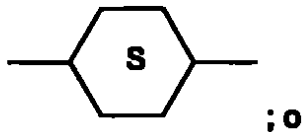
- (a) -CH₂- ;
- (b) -CH=CH- ;
- 20 (c) -O- ;
- (d) -NR²- ;
- (e) -S(O)_n- ;
- (f) $\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ -\text{C}- \end{array}$;
- 25 (g) -CR²(OH)- ;

(h) $-\text{CONR}^2-$;

(i) $-\text{NR}^2\text{CO}-$;

(j)

5



(k) $-\text{C}\equiv\text{C}-$;

R es hidrógeno o alquilo C_1-C_6 ;

R^2 y R^3 son independientemente

10

(a) hidrógeno; o

(b) alquilo C_1-C_4 ;

R^4 es

(a) hidrógeno;

(b) halógeno;

15

(c) alquilo C_1-C_6 ;

(d) alcoxi C_1-C_4 ;

(e) aciloxi C_1-C_4 ;

(f) alquil(C_1-C_4)tio;

(g) alquil(C_1-C_4)sulfinilo;

20

(h) alquil(C_1-C_4)sulfonilo;

(i) hidroxialquilo C_1-C_4 ;

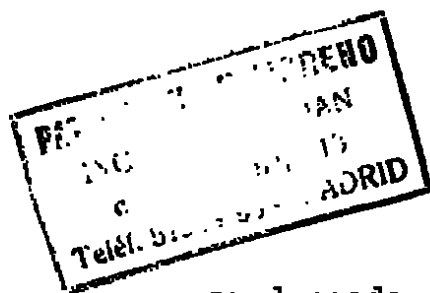
(j) arilalquilo C_1-C_4 ;

(k) $-\text{CO}_2\text{H}$;

(l) $-\text{CN}$;

25

(m) $-\text{CONHOR}$;



-75-

condensado con un anillo de fenilo;

e es 0, 1 ó 2;

m es 1, 2 ó 3;

n es 0, 1 ó 2;

5 p es 0, 1, 2 ó 3;

q es 0, 1, 2 ó 3;

o uno de los isómeros ópticos y geométricos del mismo;

o una sal de adición de ácidos, N-óxido, éster, sal de amonio
cuaternaria o un profármaco del mismo no tóxico y
10 farmacéuticamente aceptable, para fabricar un medicamento
para reducir la morbilidad y/o el riesgo de mortalidad.

2. Uso de un agonista/antagonista de estrógenos según
la reivindicación 1, en el que la morbilidad y mortalidad es
morbilidad y mortalidad cardiovascular.

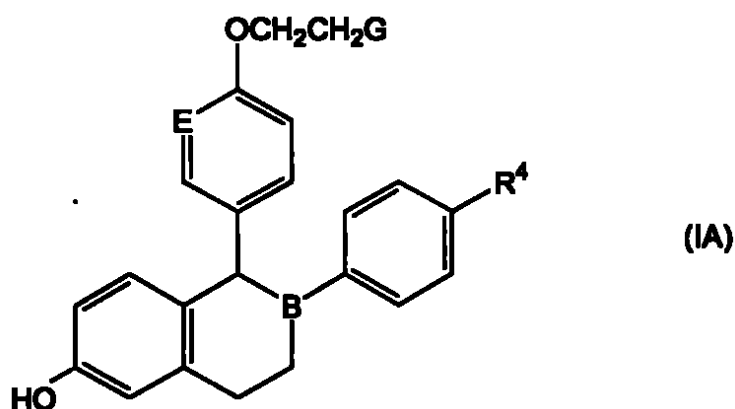
15 3. Uso de un agonista/antagonista de estrógenos según
la reivindicación 1, en el que la reducción de la morbilidad
y/o el riesgo de mortalidad se debe a un efecto combinado de
enfermedad cardiovascular reducida, cáncer de mama reducido
y osteoporosis reducida en una mujer postmenopáusica.

20 4. Uso de un agonista/antagonista de estrógenos según
la reivindicación 1, en el que la reducción de la morbilidad
y/o el riesgo de mortalidad tiene una menor posibilidad
concomitante de efectos adversos asociados a la
administración de estrógenos.

25 5. Uso de un agonista/antagonista de estrógenos según

la reivindicación 1, en el que el agonista/antagonista de estrógenos es un compuesto de fórmula (IA):

5



10 en la que G es

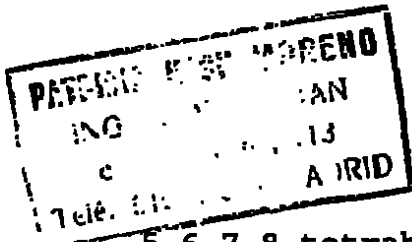


15 R^4 es H, OH, F o Cl; y B y E se seleccionan independientemente de CH y N o uno de sus isómeros ópticos o geométricos; o una sal de adición de ácidos, N-óxido, éster, sal de amonio cuaternaria o un profármaco del mismo no tóxico y farmacéuticamente aceptable.

20 6. Uso de un agonista/antagonista de estrógenos según la reivindicación 1, en el que dicho agonista/antagonista de estrógenos es un miembro del grupo formado por:

cis-6-(4-fluorofenil)-5-[4-(2-piperidin-1-il-etoxi)-fenil]-5,6,7,8-tetrahidro-naftalen-2-ol;

25 (-)-cis-6-fenil-5-[4-(2-pirrolidin-1-il-etoxi)-fenil]-



9/ 92

-77-

5,6,7,8-tetrahidro-naftalen-2-ol;

cis-6-fenil-5-[4-(2-pirrolidin-1-il-etoxi)-fenil]-

5,6,7,8-tetrahidro-naftalen-2-ol;

cis-1-[6'-pirrolidinoetoxi-3'-piridil]-2-fenil-6-

5 hidroxil-1,2,3,4-tetrahidronaftaleno;

1-(4'-pirrolidinetoxifenil)-2-(4"-fluorofenil)-6-

hidroxil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina;

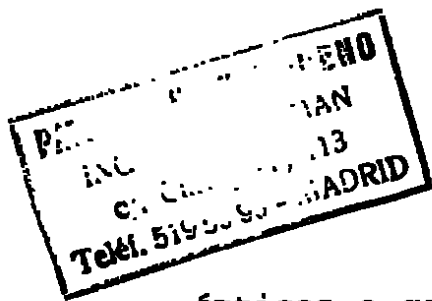
cis-6-(4-hidroxifenil)-5-[4-(2-piperidin-1-il-etoxi)-

fenil]-5,6,7,8-tetrahidronaftalen-2-ol; y

10 1-(4'-pirrolidinoetoxifenil)-2-fenil-6-hidroxil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina e isómeros ópticos o geométricos de los mismos; y las sales de adición de ácidos, N-óxidos, ésteres, sales de amonio cuaternaria o profármacos de los mismos no tóxicos y farmacéuticamente aceptables.

15 7. Uso de un agonista/antagonista de estrógenos según la reivindicación 6, en el que dicho agonista/antagonista de estrógenos es cis-6-(4-fluorofenil)-5-[4-(2-piperidin-1-il-etoxi)-fenil]-5,6,7,8-tetrahidro-naftalen-2-ol o uno de sus isómeros ópticos o geométricos; o una sal de adición de
20 ácidos, N-óxido, éster, sal de amonio cuaternaria o profármaco del mismo no tóxico y farmacéuticamente aceptable.

8. Uso de un agonista/antagonista de estrógenos según la reivindicación 6, en el que dicho agonista/antagonista de estrógenos es (-)-cis-6-fenil-5-[4-(2-pirrolidin-1-il-etoxi)-
25 fenil]-5,6,7,8-tetrahidro-naftalen-2-ol o uno de sus isómeros



92
93

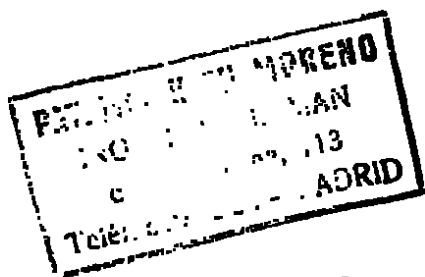
-78-

ópticos o geométricos; o una sal de adición de ácidos, N-
óxido, éster, sal de amonio cuaternaria o un profármaco del
mismo no tóxico y farmacéuticamente aceptable.

9. Uso de un agonista/antagonista de estrógenos según
5 la reivindicación 6, en el que dicho agonista/antagonista de
estrógenos es *cis*-6-fenil-5-[4-(2-pirrolidin-1-il-etoxi)-
fenil]-5,6,7,8-tetrahidro-naftalen-2-ol o uno de sus isómeros
ópticos o geométricos; o una sal de adición de ácidos, N-
óxido, éster, sal de amonio cuaternaria o un profármaco del
10 mismo no tóxico y farmacéuticamente aceptable.

10. Uso de un agonista/antagonista de estrógenos según
la reivindicación 6, en el que dicho agonista/antagonista de
estrógenos es *cis*-1-[6'-pirrolidinoetoxi-3'-piridil]-2-fenil-
6-hidroxi-1,2,3,4-tetrahidronaftaleno o uno de sus isómeros
15 ópticos o geométricos; o una sal de adición de ácidos, N-
óxido, éster, sal de amonio cuaternaria o un profármaco del
mismo no tóxico y farmacéuticamente aceptable.

11. Uso de un agonista/antagonista de estrógenos según
la reivindicación 6, en el que dicho agonista/antagonista de
20 estrógenos es 1-(4'-pirrolidinoetoxifenil)-2-(4"-
fluorofenil)-6-hidroxi-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina o uno
de sus isómeros ópticos o geométricos; o una sal de adición
de ácidos, N-óxido, éster, sal de amonio cuaternaria o un
profármacos del mismo no tóxico y farmacéuticamente
25 aceptable.



22
94

-79-

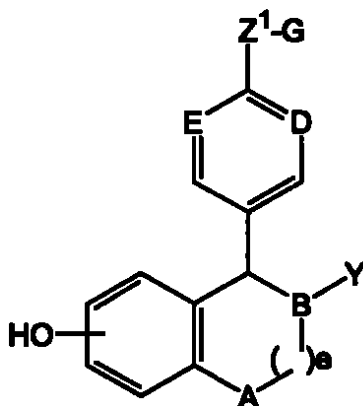
12. Uso de un agonista/antagonista de estrógenos según la reivindicación 6, en el que dicho agonista/antagonista de estrógenos es *cis*-6-(4-hidroxifenil)-5-[4-(2-piperidin-1-il-etoxi)-fenil]-5,6,7,8-tetrahidronaftalen-2-ol o uno de sus isómeros ópticos o geométricos; o una sal de adición de ácidos, N-óxido, éster, sal de amonio cuaternaria o un profármacos del mismo no tóxicos y farmacéuticamente aceptable.

13. Uso de un agonista/antagonista de estrógenos según la reivindicación 6, en el que dicho agonista/antagonista de estrógenos es 1-(4'-pirrolidinoletoxifenil)-2-fenil-6-hidroxi-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina o uno de sus isómeros ópticos o geométricos; o una sal de adición de ácidos, N-óxido, éster, sal de amonio cuaternaria o un profármaco del mismo no tóxico y farmacéuticamente aceptable.

14. Uso de un agonista/antagonista de estrógenos según la reivindicación 8, en el que dicho agonista/antagonista de estrógenos está en forma de una sal D-tartrato.

15. Un procedimiento para reducir la morbilidad y/o el riesgo de mortalidad que comprende: administrar a un sujeto que lo necesite una cantidad eficaz de un compuesto de fórmula (I):

5



(I)

en la que

10 A se selecciona de CH_2 y NR ;

B, D y E se seleccionan independientemente de CH y N;

Y es

(a) fenilo, opcionalmente sustituido con de 1 a 3
 sustituyentes seleccionados independientemente de R^4 ;

15 (b) naftilo, opcionalmente sustituido con de 1 a
 3 sustituyentes seleccionados independientemente de R^4 ;

(c) cicloalquilo $\text{C}_3\text{-C}_8$, opcionalmente sustituido con
 1 a 2 sustituyentes seleccionados independientemente de R^4 ;

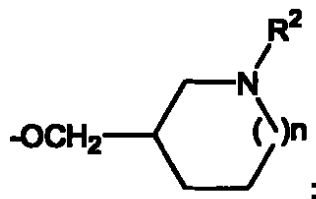
(d) cicloalquenilo $\text{C}_3\text{-C}_8$, opcionalmente sustituido
 20 con 1 a 2 sustituyentes seleccionados independientemente de
 R^4 ;

(e) un heterociclo de cinco miembros que contiene
 hasta dos heteroátomos seleccionados del grupo formado por
 $-\text{O}-$, $-\text{NR}^2-$ y $-\text{S}(\text{O})_2-$, opcionalmente sustituido con de 1 a 3
 25 sustituyentes seleccionados independientemente de R^4 ;

de carbono adyacentes con uno o dos anillos de fenilo y, opcionalmente, sustituido de forma independiente en el carbono con de uno a tres sustituyentes y, opcionalmente, de forma independiente en el nitrógeno con un sustituyente
5 químicamente adecuado seleccionado de R^4 ; o

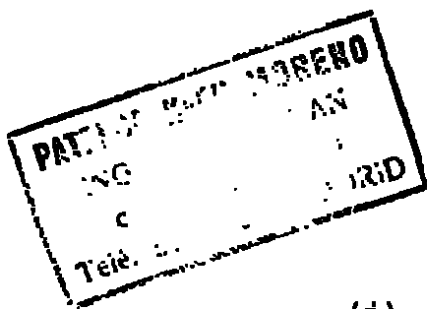
(c) una amina bicíclica que contiene de cinco a doce átomos de carbono, con los anillos unidos mediante un puente o condensados y opcionalmente sustituidos con de 1 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente de R^4 ; o

10 Z^1 y G combinados pueden ser



15 W es

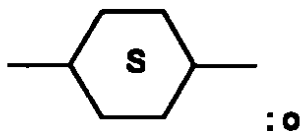
- (a) $-CH_2-$;
- (b) $-CH=CH-$;
- (c) $-O-$;
- (d) $-NR^2-$;
- 20 (e) $-S(O)_n-$;
- (f) $\begin{array}{c} O \\ || \\ -C- \end{array}$;
- (g) $-CR^2(OH)-$;
- 25 (h) $-CONR^2-$;
- (i) $-NR^2CO-$;



8798

-83-

(j)



5

(k) $-C \equiv C-$;

R es hidrógeno o alquilo C₁-C₆;

R^2 y R^3 son independientemente

(a) hidrógeno; o

(b) alquilo C₁-C₄;

10

R⁴ es

(a) hidrógeno;

(b) halógeno;

(c) alquiler C₁-C₆;

(d) alcoxí C₁-C₄;

15

(e) aciloxi C₁-C₄;

(f) alquil (C₁-C₄)tio;

(g) alquil (C₁-C₄) sulfinilo;

(h) alquil (C₁-C₄) sulfonilo;

(i) hidroxialquilo C₁-C₄;

20

(j) arilalquilo C₁-C₄;

(k) $-\text{CO}_2\text{H}$;

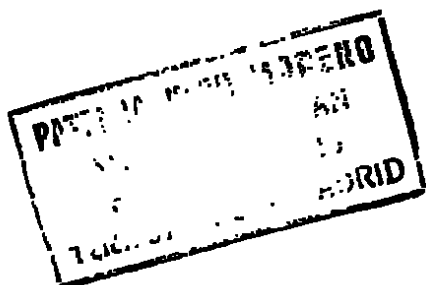
(1) -CN;

(m) - CONHOR;

(n) $-\text{SO}_2\text{NHR}$;

25

(o) $-NH_2$;



28 99

-84-

- (p) alquil (C_1-C_4) amino;
- (q) dialquil (C_1-C_4) amino;
- (r) $-NHSO_2R$;
- (s) $-NO_2$;
- 5 (t) -arilo; o
- (u) $-OH$;

R^5 y R^6 son independientemente alquilo C_1-C_8 o forman conjuntamente un anillo carbocíclico C_3-C_{10} ;

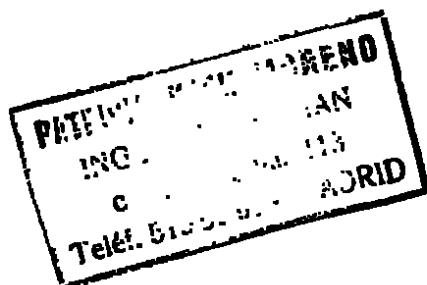
R^7 y R^8 son independientemente

- 10 (a) fenilo;
- (b) un anillo carbocíclico C_3-C_{10} , saturado o insaturado;
- (c) un anillo heterocíclico C_3-C_{10} que contiene hasta dos heteroátomos seleccionados de $-O-$, $-N-$ y $-S-$;
- 15 (d) H ;
- (e) alquilo C_1-C_6 ; o
- (f) forman un anillo de 3 a 8 miembros que contiene nitrógeno con R^5 o R^6 ;

R^7 y R^8 en forma lineal o de anillo pueden estar
20 opcionalmente sustituidos con hasta tres sustituyentes seleccionados independientemente de alquilo C_1-C_6 , halógeno, alcoxi, hidroxí y carboxi;

un anillo formado por R^7 y R^8 puede estar opcionalmente condensado con un anillo de fenilo;

25 e es 0, 1 ó 2;



120
101

-86-

o geométricos; o una sal de adición de ácidos, N-óxido, éster, sal de amonio cuaternaria o un profármaco del mismo no tóxico y farmacéuticamente aceptable.

17. Un procedimiento según la reivindicación 15, en el
5 que el agonista/antagonista de estrógenos es un miembro del grupo formado por:

cis-6-(4-fluorofenil)-5-[4-(2-piperidin-1-il-etoxi)-
fenil]-5,6,7,8-tetrahidro-naftalen-2-ol;

(-)-cis-6-fenil-5-[4-(2-pirrolidin-1-il-etoxi)-fenil]-
10 5,6,7,8-tetrahidro-naftalen-2-ol;

cis-6-fenil-5-[4-(2-pirrolidin-1-il-etoxi)-fenil]-
5,6,7,8-tetrahidro-naftalen-2-ol;

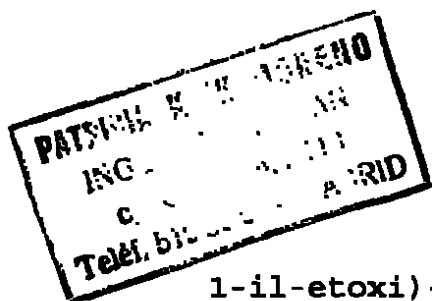
cis-1-[6'-pirrolidinoetoxi-3'-piridil]-2-fenil-6-
hidroxi-1,2,3,4-tetrahidronaftaleno;

15 1-(4'-pirrolidinoetoxifenil)-2-(4"-fluorofenil)-6-
hidroxi-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina;

cis-6-(4-hidroxifenil)-5-[4-(2-piperidin-1-il-etoxi)-
fenil]-5,6,7,8-tetrahidronaftalen-2-ol; y

1-(4'-pirrolidinoetoxifenil)-2-fenil-6-hidroxi-1,2,3,4-
20 tetrahidroisoquinolina e isómeros ópticos o geométricos de
los mismos; y las sales de adición de ácidos, N-óxidos,
ésteres, sales de amonio cuaternario o profármacos de los
mismos no tóxicos y farmacéuticamente aceptables.

18. Un procedimiento según la reivindicación 17, en el
25 que el compuesto es cis-6-(4-fluorofenil)-5-[4-(2-piperidin-



for
102

-87-

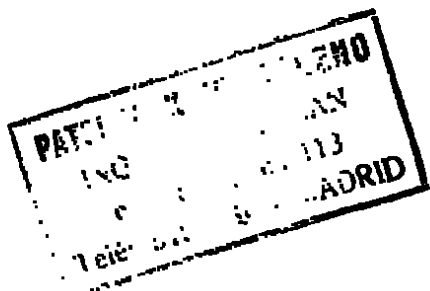
1-il-etoxi)-fenil]-5,6,7,8-tetrahidro-naftalen-2-ol o uno de sus isómeros ópticos o geométricos; o una sal de adición de ácidos, N-óxido, éster, sal de amonio cuaternaria o un profármaco del mismo no tóxico y farmacéuticamente aceptable.

5 19. Un procedimiento según la reivindicación 17, en el que el compuesto es (-)-cis-6-fenil-5-[4-(2-pirrolidin-1-il-etoxi)-fenil]-5,6,7,8-tetrahidro-naftalen-2-ol o uno de sus isómeros ópticos o geométricos; o una sal de adición de ácidos, N-óxido, éster, sal de amonio cuaternaria o un
10 profármaco del mismo no tóxico y farmacéuticamente aceptable.

20. Un procedimiento según la reivindicación 17, en el que el compuesto es cis-6-fenil-5-[4-(2-pirrolidin-1-il-etoxi)-fenil]-5,6,7,8-tetrahidro-naftalen-2-ol o uno de sus isómeros ópticos o geométricos; o una sal de adición de
15 ácidos, N-óxido, éster, sal de amonio cuaternaria o un profármaco del mismo no tóxico y farmacéuticamente aceptable.

21. Un procedimiento según la reivindicación 17, en el que el compuesto es cis-1-[6'-pirrolidinoetoxi-3'-piridil]-2-fenil-6-hidroxi-1,2,3,4-tetrahidronaftaleno o uno de sus
20 isómeros ópticos o geométricos; o una sal de adición de ácidos, N-óxido, éster, sal de amonio cuaternaria o un profármaco del mismo no tóxico y farmacéuticamente aceptable.

22. Un procedimiento según la reivindicación 17, en el que el compuesto es 1-(4'-pirrolidinoetoxifenil)-2-(4"-
25 fluorofenil)-6-hidroxi-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina o uno



102
103

-88-

de sus isómeros ópticos o geométricos; o una sal de adición de ácidos, N-óxido, éster, sal de amonio cuaternaria o un profármaco del mismo no tóxico y farmacéuticamente aceptable.

23. Un procedimiento según la reivindicación 17, en el que el compuesto es *cis*-6-(4-hidroxifenil)-5-[4-(2-piperidin-1-il-etoxi)-fenil]-5,6,7,8-tetrahidronaftalen-2-ol o uno de sus isómeros ópticos o geométricos; o una sal de adición de ácidos, N-óxido, éster, sal de amonio cuaternaria o un profármaco del mismo no tóxico y farmacéuticamente aceptable.

24. Un procedimiento según la reivindicación 17, en el que el compuesto es 1-(4'-pirrolidinoletoxifenil)-2-fenil-6-hidroxi-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina o uno de sus isómeros ópticos o geométricos; o una sal de adición de ácidos, N-óxido, éster, sal de amonio cuaternaria o un profármaco del mismo no tóxico y farmacéuticamente aceptable.

25. Un procedimiento según la reivindicación 19, en el que el agonista/antagonista de estrógenos está en forma de una sal D-tartrato.

26. Un procedimiento según la reivindicación 15, en el que el procedimiento es para la reducción de la morbilidad y/o el riesgo de mortalidad cardiovascular.

27. Un procedimiento según la reivindicación 26, en el que el procedimiento reduce sustancialmente la posibilidad concomitante de efectos adversos asociados a la administración de estrógenos.

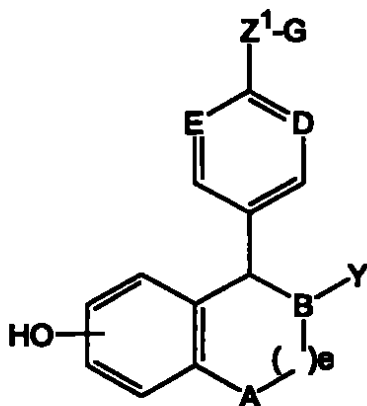
28. Un procedimiento según la reivindicación 15, en el que el procedimiento es para la reducción de la morbilidad y/o el riesgo de mortalidad en mujeres postmenopáusicas a través de los efectos combinados de reducciones de la enfermedad cardiovascular, el cáncer de mama y la osteoporosis.

29. Un procedimiento según la reivindicación 28, en el que el procedimiento reduce sustancialmente la posibilidad concomitante de efectos adversos asociados a la administración de estrógenos.

30. Un estuche para usar por un consumidor para reducir la morbilidad y/o el riesgo de mortalidad cardiovascular en un sujeto y/o reducir la morbilidad y/o el riesgo de mortalidad en mujeres postmenopáusicas debido a los efectos combinados de enfermedad cardiovascular reducida, cáncer de mama reducido y osteoporosis reducida, comprendiendo dicho estuche:

a) una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I):

5



(II)

en la que

10 A se selecciona de CH_2 y NR ;

B, D y E se seleccionan independientemente de CH y N;

Y es

(a) fenilo, opcionalmente sustituido con de 1 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente de R^4 ;

15 (b) naftilo, opcionalmente sustituido con de 1 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente de R^4 ;

(c) cicloalquilo $\text{C}_3\text{-C}_8$, opcionalmente sustituido con 1 a 2 sustituyentes seleccionados independientemente de R^4 ;

(d) cicloalquenilo $\text{C}_3\text{-C}_8$, opcionalmente sustituido
20 con 1 a 2 sustituyentes seleccionados independientemente de R^4 ;

(e) un heterociclo de cinco miembros que contiene hasta dos heteroátomos seleccionados del grupo formado por $-\text{O}-$, $-\text{NR}^2-$ y $-\text{S}(\text{O})_2-$, opcionalmente sustituido con de 1 a 3
25 sustituyentes seleccionados independientemente de R^4 ;

(f) un heterociclo de seis miembros que contiene hasta dos heteroátomos seleccionados del grupo formado por -O-, -NR²- y -S(O)_n-, opcionalmente sustituido con de 1 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente de R⁴; o

5 (g) un sistema de anillo bicíclico que comprende un anillo heterocíclico de cinco o seis miembros condensado con un anillo de fenilo, conteniendo el citado anillo heterocíclico hasta dos heteroátomos seleccionados del grupo formado por -O-, -NR²- y -S(O)_n-, opcionalmente sustituido con
 10 de 1 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente de R⁴;

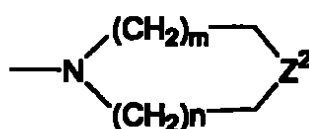
Z¹ es

- (a) - (CH₂)_pW(CH₂)_q-;
- (b) -O(CH₂)_pCR⁵R⁶-;
- 15 (c) -O(CH₂)_pW(CH₂)_q-;
- (d) -OCHR²CHR³-; o
- (e) -SCHR²CHR³-;

G es

- (a) -NR⁷R⁸;

20



(b)

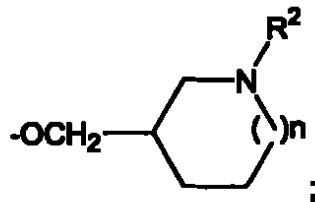
en la que n es 0, 1 ó 2; m es 1, 2 ó 3; Z² es

25 -NH-, -O-, -S- o -CH₂-; opcionalmente condensado sobre átomos

de carbono adyacentes con uno o dos anillos de fenilo y, opcionalmente, sustituido de forma independiente en el carbono con de uno a tres sustituyentes y, opcionalmente, de forma independiente en el nitrógeno con un sustituyente
5 químicamente adecuado seleccionado de R^4 ; o

(c) una amina bicíclica que contiene de cinco a doce átomos de carbono, con los anillos unidos mediante un puente o condensados y opcionalmente sustituidos con de 1 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente de R^4 ; o

10 Z^1 y G combinados pueden ser

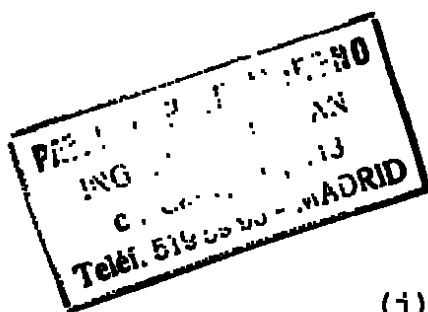


15 W es

- (a) $-CH_2-$;
- (b) $-CH=CH-$;
- (c) $-O-$;
- (d) $-NR^2-$;
- (e) $-S(O)_n-$;
- (f) $\begin{array}{c} O \\ || \\ -C- \end{array}$;
- (g) $-CR^2(OH)-$;
- (h) $-CONR^2-$;
- (i) $-NR^2CO-$;

20

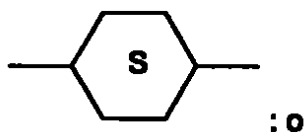
25



107
108

-93-

(j)



5

(k) $-C\equiv C-$;

R es hidrógeno o alquilo C_1-C_6 ;

R^2 y R^3 son independientemente

(a) hidrógeno; o

(b) alquilo C_1-C_4 ;

10

R^4 es

(a) hidrógeno;

(b) halógeno;

(c) alquilo C_1-C_6 ;

(d) alcoxi C_1-C_4 ;

15

(e) aciloxi C_1-C_4 ;

(f) alquil(C_1-C_4)tio;

(g) alquil(C_1-C_4)sulfinilo;

(h) alquil(C_1-C_4)sulfonilo;

(i) hidroxialquilo C_1-C_4 ;

20

(j) arilalquilo C_1-C_4 ;

(k) $-CO_2H$;

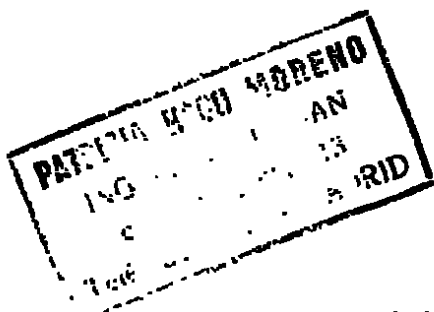
(l) $-CN$;

(m) $-CONHOR$;

(n) $-SO_2NHR$;

25

(o) $-NH_2$;



~~108~~
109

-94-

- (p) alquil (C₁-C₄) amino;
(q) dialquil (C₁-C₄) amino;
(r) -NHSO₂R;
(s) -NO₂;
5 (t) -arilo; o
(u) -OH;

R⁵ y R⁶ son independientemente alquilo C₁-C₈ o forman conjuntamente un anillo carbocíclico C₃-C₁₀;

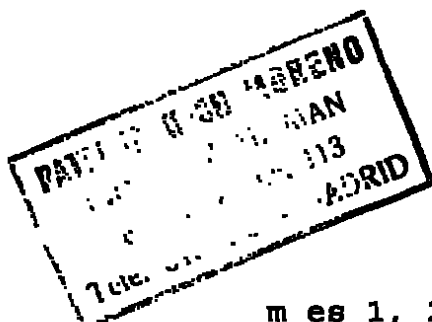
R^7 y R^8 son independientemente

- 10 (a) fenilo;
- (b) un anillo carbocíclico C_3-C_{10} , saturado o insaturado;
- (c) un anillo heterocíclico C_3-C_{10} que contiene hasta dos heteroátomos seleccionados de -O-, -N- y -S-;
- 15 (d) H;
- (e) alquilo C_1-C_6 ; o
- (f) forman un anillo de 3 a 8 miembros que contiene nitrógeno con R^5 o R^6 ;

R' y Rⁱⁱ en forma lineal o de anillo pueden estar
20 opcionalmente sustituidos con hasta tres sustituyentes
seleccionados independientemente de alquilo C₁-C₆, halógeno,
alcoxi, hidroxí y carboxi;

un anillo formado por R⁷ y R⁸ puede estar opcionalmente condensado con un anillo fenilo;

25 e es 0, 1 6 2;



109
110

-95-

m es 1, 2 ó 3;

n es 0, 1 ó 2;

p es 0, 1, 2 ó 3;

q es 0, 1, 2 ó 3;

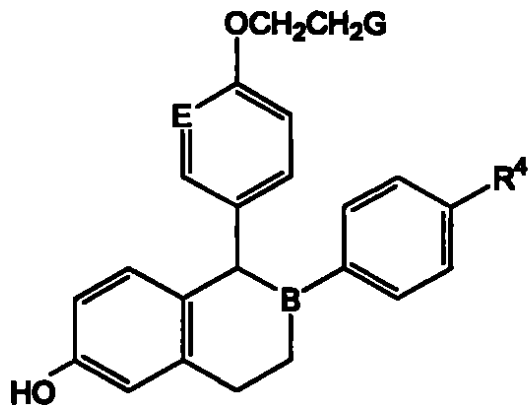
5 o uno de los isómeros ópticos y geométricos del mismo;
o una sal de adición de ácidos, N-óxido, éster, sal de amonio
cuaternaria o un profármaco del mismo no tóxico y
farmacéuticamente aceptable y un vehículo, excipiente o
diluyente farmacéuticamente aceptable; y

10 b) instrucciones que describen un procedimiento de uso
de la composición farmacéutica para reducir el riesgo de
morbilidad y/o mortalidad.

31. Un estuche según la reivindicación 30, en el que
las instrucciones indican además que la composición
15 farmacéutica reduce sustancialmente la posibilidad
concomitante de efectos adversos asociados a la
administración de estrógenos.

32. Un estuche según la reivindicación 30, en el que
el agonista/antagonista de estrógenos es un compuesto de
20 fórmula (IA):

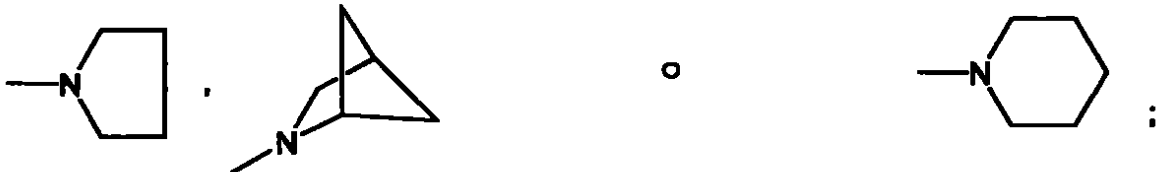
5



(IA)

en la que G es

10



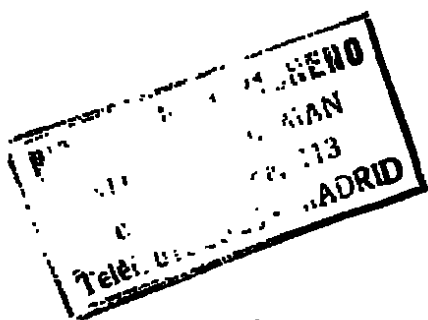
R^4 es H, OH, F o Cl; y B y E se seleccionan independientemente de CH y N o uno de sus isómeros ópticos o geométricos; o una sal de adición de ácidos, N-óxido, éster, sal de amonio cuaternaria o un profármaco del mismo no tóxico y farmacéuticamente aceptable.

33. Un estuche según la reivindicación 30, en el que el agonista/antagonista de estrógenos es un miembro del grupo formado por:

cis-6-(4-fluorofenil)-5-[4-(2-piperidin-1-il-etoxi)-fenil]-5,6,7,8-tetrahidro-naftalen-2-ol;

(-)-cis-6-fenil-5-[4-(2-pirrolidin-1-il-etoxi)-fenil]-5,6,7,8-tetrahidro-naftalen-2-ol;

25 cis-6-fenil-5-[4-(2-pirrolidin-1-il-etoxi)-fenil]-



112

-97-

5,6,7,8-tetrahidro-naftalen-2-ol;

cis-1-[6'-pirrolidinoetoxi-3'-piridil]-2-fenil-6-hidroxi-1,2,3,4-tetrahidronaftaleno;

1-(4'-pirrolidinoetoxifenil)-2-(4"-fluorofenil)-6-5 hidroxi-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina;

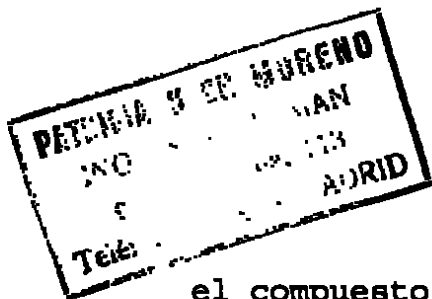
cis-6-(4-hidroxifenil)-5-[4-(2-piperidin-1-il-etoxi)-fenil]-5,6,7,8-tetrahidronaftalen-2-ol;

1-(4'-pirrolidinoetoxifenil)-2-fenil-6-hidroxi-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina e isómeros ópticos o geométricos de 10 los mismos; y las sales de adición de ácidos, N-óxidos, ésteres, sales de amonio cuaternarias o profármacos de los mismos no tóxicos y farmacéuticamente aceptables.

34. Un estuche según la reivindicación 30, en el que el compuesto es cis-6-(4-fluorofenil)-5-[4-(2-piperidin-1-il-etoxi)-fenil]-5,6,7,8-tetrahidro-naftalen-2-ol o uno de sus 15 isómeros ópticos o geométricos; o una sal de adición de ácidos, N-óxido, éster, sal de amonio cuaternaria o un profármaco del mismo no tóxico y farmacéuticamente aceptable.

35. Un estuche según la reivindicación 30, en el que 20 el compuesto es (-)-cis-6-fenil-5-[4-(2-pirrolidin-1-il-etoxi)-fenil]-5,6,7,8-tetrahidro-naftalen-2-ol o uno de sus isómeros ópticos o geométricos; o una sal de adición de ácidos, N-óxido, éster, sal de amonio cuaternaria o un profármaco del mismo no tóxico y farmacéuticamente aceptable.

25 36. Un estuche según la reivindicación 30, en el que



112
113

-98-

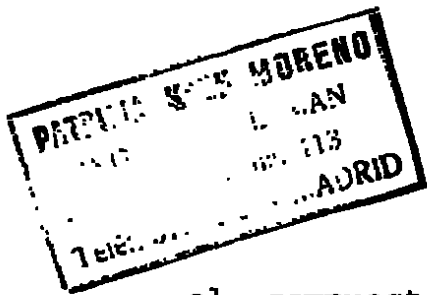
el compuesto es cis-6-fenil-5-[4-(2-pirrolidin-1-il-etoxi)-fenil]-5,6,7,8-tetrahidro-naftalen-2-ol o uno de sus isómeros ópticos o geométricos; o una sal de adición de ácidos, N-óxido, éster, sal de amonio cuaternaria o un profármaco del mismo no tóxico y farmacéuticamente aceptable.

37. Un estuche según la reivindicación 30, en el que el compuesto es cis-1-[6'-pirrolidinoetoxi-3'-piridil]-2-fenil-6-hidroxi-1,2,3,4-tetrahidronaftaleno o uno de sus isómeros ópticos o geométricos; o una sal de adición de ácidos, N-óxido, éster, sal de amonio cuaternaria o un profármaco del mismo no tóxico y farmacéuticamente aceptable.

38. Un estuche según la reivindicación 30, en el que el compuesto es 1-(4'-pirrolidinetoxifenil)-2-(4"-fluorofenil)-6-hidroxi-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina o uno de sus isómeros ópticos o geométricos; o una sal de adición de ácidos, N-óxido, éster, sal de amonio cuaternaria o un profármacos del mismo no tóxico y farmacéuticamente aceptable.

39. Un estuche según la reivindicación 30, en el que el compuesto es cis-6-(4-hidroxifenil)-5-[4-(2-piperidin-1-il-etoxi)-fenil]-5,6,7,8-tetrahidronaftalen-2-ol o uno de sus isómeros ópticos o geométricos; o una sal de adición de ácidos, N-óxido, éster, sal de amonio cuaternaria o un profármaco del mismo no tóxico y farmacéuticamente aceptable.

40. Un estuche según la reivindicación 30, en el que

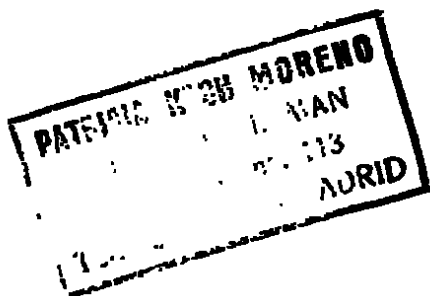


113
114

-99-

el compuesto es 1-(4'-pirrolidinoletoxifenil)-2-fenil-6-hidroxi-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina o uno de sus isómeros ópticos o geométricos; o una sal de adición de ácidos, N-óxido, éster, sal de amonio cuaternaria o un profármaco del mismo no tóxico y farmacéuticamente aceptable.

41. Un estuche según la reivindicación 35, en el que el agonista/antagonista de estrógenos está en forma de una sal D-tartrato.



115

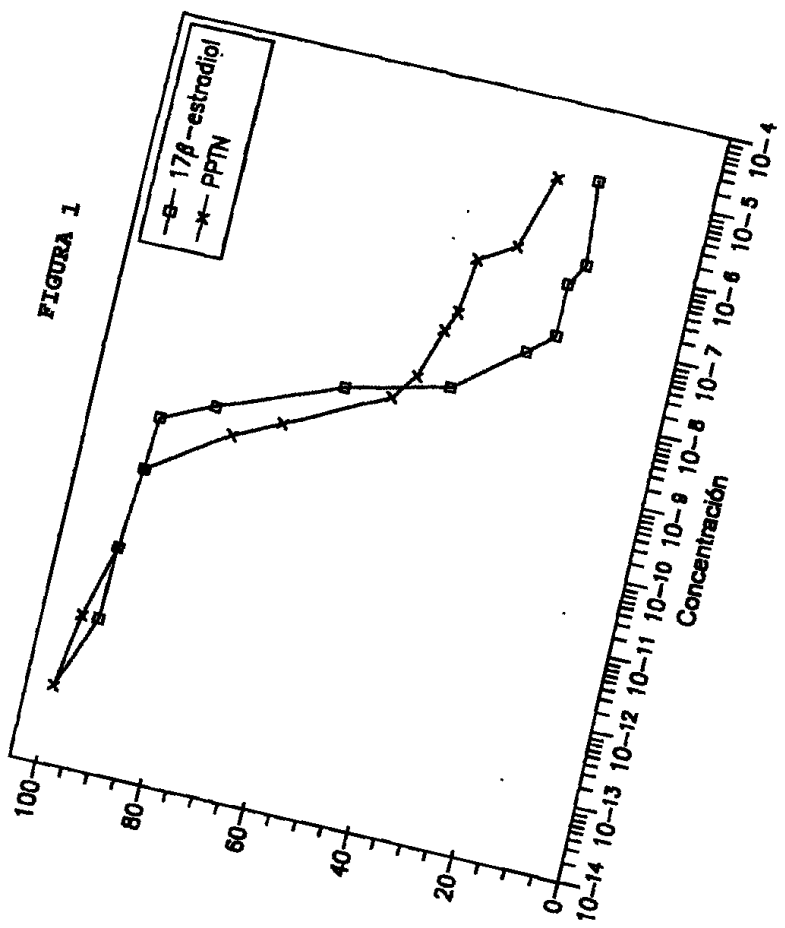
-100-

RESUMEN

Esta invención se refiere a procedimientos, composiciones farmacéuticas y estuches útiles para reducir la morbilidad cardiovascular y el riesgo de mortalidad en 5 hombres y en mujeres postmenopáusicas y la morbilidad y el riesgo de mortalidad en mujeres postmenopáusicas a partir de la reducción combinada del cáncer de mama, la osteoporosis y la enfermedad cardiovascular, mediante la administración de agonistas/antagonistas de estrógenos. Las composiciones 10 comprenden un agonista/antagonista de estrógenos y un vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable. Las composiciones y procedimientos de tratamiento son eficaces, reduciendo al mismo tiempo la posibilidad concomitante de efectos adversos asociados a la 15 administración de estrógenos.

148
116

1/1



CL
117

PATRICIA KOCH MORENO
INGLES Y ALEMAN
c/ Cartagena, 113
Telé. 519 55 90 - MADRID

Doña PATRICIA KOCH MORENO, intérprete jurado de inglés y alemán, certifica que la adjunta es traducción fiel y completa al español del documento adjunto redactado en inglés.

En Madrid, a 30 OCT 2000

PATRICIA KOCH MORENO
INGLES Y ALEMAN
c/ Cartagena, 113
Telé. 519 55 90 - MADRID

[Handwritten signature]

PATRICIA KOCH MORENO
INGLES Y ALEMAN
c Cartagena, 113
Teléf. 519 59 90 - MADRID

117
118

Doña PATRICIA KOCH MORENO, intérprete jurado de inglés y alemán, certifica que la adjunta es traducción fiel y completa al español del documento adjunto redactado en inglés.

En Madrid, a 30 OCT 2000

PATRICIA KOCH MORENO
INGLES Y ALEMAN
c Cartagena, 113
Teléf. 519 59 90 - MADRID

117
118

119
119

PA 299380



THE UNITED STATES OF AMERICA

TO ALL TO WHOM THESE PRESENTS SHALL COME;

UNITED STATES DEPARTMENT OF COMMERCE

United States Patent and Trademark Office

September 14, 2000

THIS IS TO CERTIFY THAT ANNEXED HERETO IS A TRUE COPY FROM THE RECORDS OF THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE OF THOSE PAPERS OF THE BELOW IDENTIFIED PATENT APPLICATION THAT MET THE REQUIREMENTS TO BE GRANTED A FILING DATE UNDER 35 USC 111.

APPLICATION NUMBER: 60/175,663

FILING DATE: January 12, 2000



**By Authority of the
COMMISSIONER OF PATENTS AND TRADEMARKS**

H. Phillips
H. PHILLIPS
Certifying Officer

1-13-00
PROVISIONAL APPLICATION COVER SHEET

A/peou 120

a request for filing a PROVISIONAL APPLICATION under 37 CFR 1.53 (b)(2).

		Docket Number	PC10640SMC	Type a plus sign (+) inside this box	+
INVENTOR(s)/APPLICANT(s)					
LAST NAME	FIRST NAME	MIDDLE INITIAL	RESIDENCE (CITY AND EITHER STATE OR FOREIGN COUNTRY)		
Day	Wesley	W.	Old Lyme, CT		
Thompson	David	D.	Gales Ferry, CT		
Lee	Andrew	G.	Old Lyme, CT		
TITLE OF THE INVENTION (280 characters max)					
Method of Reducing Morbidity and The Risk of Mortality					
CORRESPONDENCE ADDRESS					
Gregg C. Benson Pfizer Inc Patent Department Box 519, Eastern Point Road Groton, CT 06340					
ENCLOSED APPLICATION PARTS (check all that apply)					
☒ Specification		Number of Pages 40		☒ Claim(s)	
				Number of Pages 20	
☒ Drawing(s)		Number of Sheets 1		☒ Other (specify) Abstract 1 page	
METHOD OF PAYMENT (check one)					
☐ A check or money order is enclosed to cover the Provisional filing fees				PROVISIONAL FILING FEE AMOUNT(\$)	
☒ The Commissioner is hereby authorized to charge all required filing fees to, and credit any overpayment to Deposit Account Number: 16-1445. Two copies of this page are enclosed.				\$150.00	

The invention was made by an agency of the United States Government or under a contract with an agency of the United States Government.

☒ No.

☐ Yes, the name of the U.S. Government agency and the Government contract number are:

Respectfully submitted,

SIGNATURE

Steven W. Collier

DATE:

1-11-2000

TYPED or PRINTED NAME

Steven W. Collier

REGISTRATION NO

42,429

(if appropriate)

☐ Additional inventors are being named on separately numbered sheets attached hereto.

PROVISIONAL APPLICATION FILING ONLY

Express Mail No. EJ248205295US

METHOD OF REDUCING MORBIDITY AND THE RISK OF MORTALITY

5

FIELD OF THE INVENTION

This Invention relates to compositions and methods for reducing morbidity and/or the risk of mortality. The compositions and methods utilize estrogen agonist / antagonist compounds. In both male and female subjects, cardiovascular morbidity and the risk of mortality is reduced through the administration of the estrogen agonists / antagonists of the invention. In post-menopausal women, morbidity and the risk of mortality are reduced through a combined effect of reductions in cardiovascular disease, breast cancer and osteoporosis.

15

BACKGROUND OF THE INVENTION

The incidence of cardiovascular disease differs significantly between men and women, in part because of differences in risk factors and hormones (Barrett-Connor, E., Circulation 1997;95:252-64). The incidence of atherosclerotic diseases is low in premenopausal women, rises in post-menopausal women, and is reduced to premenopausal levels in post-menopausal women who receive estrogen therapy. (Stampfer, M.J., et al., N Engl J Med 1991;325:758-62.; Grady, D., et al., Ann Intern Med 1992;117:1016-37) Until recently, the atheroprotective effects of estrogen were attributed principally to the hormone's effects on serum lipid concentrations. However, estrogen-induced alterations in serum lipids account for only approximately one third of the observed clinical benefits of estrogen (Mendelsohn, M.E., Karas RH. Curr Opin Cardio 1994;9:618-26; Bush, T.L., et al., Circulation 1987;75:1102-9). It is now believed that the direct actions of estrogen on blood vessels contribute substantially to the cardiovascular protective effects of estrogen (Farhat, M.Y., et al., FASEB J 1996;10:615-24).

The hormone estrogen has a profound effect in the vascular system of both male and female subjects although its administration is associated with other effects that can be undesirable. Estrogen increases vasodilatation and inhibits the response of blood vessels to injury and the development of atherosclerosis.

50175533 11200

5

25

30

estrogen receptor β is also present in myocardial cells, in which it regulates the expression of nitric oxide synthases.

5 In premenopausal women, 17β -estradiol produced by the ovaries is the
chief circulating estrogen. Serum estradiol concentrations are low in
preadolescent girls and increase at menarche. In women, they range from about
100 pg per milliliter (367 pmol per liter) in the follicular phase to about 600 pg per
milliliter (2200 pmol per liter) at the time of ovulation. They may rise to nearly
20,000 pg per milliliter (70,000 pmol per liter) during pregnancy. After
10 menopause, serum estradiol concentrations fall to values similar to or lower than
those in men of similar age (5 to 20 pg per milliliter [18 to 74 pmol per liter]) (Yen,
S.S.C. and Jaffe, R.B., eds. Reproductive Endocrinology: Physiology,
Pathophysiology and Clinical Management, 3rd ed. Philadelphia: W.B. Saunders,
1991).

15 Estrogen alters serum lipid concentrations, coagulation and fibrinolytic
systems, antioxidant systems, and the production of other vasoactive molecules,
such as nitric oxide and prostaglandins, all of which can influence the
development of vascular disease.

20 The effects of estrogen therapy on serum lipid concentrations result
largely from estrogen-receptor-mediated effects on the hepatic expression of
apoprotein genes (Table 1). Many studies, including one large, randomized,
25 controlled trial (The Writing Group for the PEPI Trial, JAMA 1995;273:199-208.
[Erratum, JAMA 1995;274:1676.]) have documented that estrogen therapy in
post-menopausal women decreases serum total cholesterol and low density
lipoprotein (LDL) cholesterol concentrations, increases serum high-density
lipoprotein (HDL) cholesterol and triglyceride concentrations, and decreases
30 serum Lp(a) lipoprotein concentrations. Hepatic expression of the genes for
several coagulation and fibrinolytic proteins is also regulated by estrogen through
estrogen receptors (Table 1).

00175533011200

TABLE 1. ESTROGEN-REGULATED GENES OF POTENTIAL IMPORTANCE
IN VASCULAR PHYSIOLOGY AND DISEASE.

(Source: Mendelsohn, M.E. and Karas, R.H., N Engl J Med, 1999;340:1801-11)

GENE PRODUCT	PHYSIOLOGIC OR PATHO- PHYSIOLOGIC ROLE
Candidate estrogen-regulated genes (vascular cells)	
Prostacyclin synthase	Vasodilatation
Endothelial nitric oxide synthase	Vasodilatation
Inducible nitric oxide synthase	Vasodilatation in response to vascular injury
Endothelin-1	Vasoconstriction
Collagen	Vascular-matrix formation
Matrix metalloproteinase 2	Vascular-matrix remodeling
E-selectin	Cell adhesion
Vascular-cell adhesion molecule	Cell adhesion
Vascular endothelial growth factor	Angiogenesis and endothelial-cell proliferation
Candidate estrogen-regulated genes (nonvascular cells)	
Growth- and development-related genes	
Transforming growth factor β_1	Wound healing
Epidermal growth factor receptor	Cell growth in response to vascular injury
Platelet-derived growth factor	Cell growth in response to vascular injury
flt-4 tyrosine kinase	Angiogenesis and endothelial-cell proliferation
Coagulation- and fibrinolysis -related genes	
Tissue factor	Hemostasis in response to thrombosis
Fibrinogen	Hemostasis in response to thrombosis
Protein S	Hemostasis in response to thrombosis
Coagulation factor VII	Hemostasis in response to thrombosis
Coagulation factor XII	Hemostasis in response to thrombosis
Plasminogen-activator inhibitor 1	Hemostasis in response to thrombosis
Tissue plasminogen activator	Fibrinolysis
Antithrombin III	Anticoagulation
Signaling-related and miscellaneous genes	
Estrogen receptor α	Hormonal regulation and gene expression
Estrogen receptor β	Hormonal regulation and gene expression
Monocyte chemotactic protein 1	Monocyte recruitment and atherosclerosis
I and HK2 (cardiac potassium channels)	Cardiac conduction
Connexin 43	Cardiac conduction
Leptin	Fat metabolism and obesity
Apolipoproteins A, B, D, and E and Lp(a)	Lipid metabolism and atherosclerosis
Angiotensin-converting enzyme	Vasoconstriction
Angiotensin II receptor, type 1	Vasoconstriction

Estrogen directly regulates vasomotor tone through both short-term and

50175553 011200

long-term effects on the vasculature. Long-term administration of estrogen is associated with decreased plasma concentrations of renin (Schunkert, H., et al., Circulation 1997;95:39-45), angiotensin-converting enzyme (Prouder, A., et al., Lancet 1995;346:89-90) and endothelin-1 (Ylikorkala, O., et al., J Clin Endocrinol Metab 1995;80:3384-7) and decreased vascular expression of the gene for angiotensin II receptor type 1 (Nickenig, G., et al., Circulation 1998;97:2197-201) as well as an increased ratio of nitric oxide to endothelin-1 in plasma (Best, P.J.M., et al., Ann Intern Med 1998;128:285-8). The net effect of these changes is to promote vasodilatation.

Estrogens can cause short-term vasodilatation by both endothelium-dependent and endothelium-independent pathways. These rapid effects do not appear to involve changes in gene expression. Two mechanisms for the rapid vasodilatory effects of estrogens have been explored in some depth: effects on ion-channel function and effects on nitric oxide.

At physiologic concentrations, estrogen stimulates the opening of calcium-activated potassium channels through a nitric oxide- and cyclic guanosine monophosphate- dependent pathway (White, R.E., et al., Circ Res 1995;77:936-42; Wellman, G.C., et al., Circ Res 1996;79:1024-30) thus relaxing smooth muscle and promoting vasodilatation. These rapid effects of estrogen on vascular cells could be mediated by a known estrogen receptor, perhaps located in the plasma membrane (Pappas, T.C., et al., FASEB J 1995;9:404-10) that is able to activate nitric oxide synthase rapidly in a nongenomic manner. This suggestion is consistent with the observations that estrogen-induced stimulation of nitric oxide synthase activity in endothelial cells is blocked by specific estrogen-receptor antagonists (Chen, Z., et al., J Clin Invest 1999;103:401-6; Lantin-Hermoso, R.L., Am J Physiol 1997;273:L119-L126; Caullin-Glaser, T., et al., Circ Res 1997;81:885-92) and that estrogen receptor α can directly activate endothelial nitric oxide synthase.

Estrogen rapidly causes coronary vasodilatation ex vivo (Mendelsohn, M.E., et al., Curr Opin Cardiol 1994;9:619-26; Farhat, M.Y., et al., FASEB J 1998;10:615-24) and in vivo in cholesterol-fed ovariectomized primates (Williams,

SD175533-011200

J.K., et al., J Am Coll Cardiol 1992;20:452-7) and other animals (Guetta, V., et al., Circulation 1997;96:2795-801). Estrogen dilates coronary and brachial arteries in post-menopausal women (Reis, S.E., et al., Circulation 1994;89:52-60; Gilligan, D.M., et al., Circulation 1994;89:2545-51; Gilligan, D.M., et al., Circulation 1994;90:786-91; Lieberman, E.H., et al., Ann Intern Med 1994;121:936-41; Collins, P., et al., Circulation 1995;92:24-30; Guetta, V., et al., Circulation 1997;96:2795-801) and, in some studies, in men (Collins, P., et al., Circulation 1995;92:24-30; Blumenthal, R.S., et al., Am J Cardiol 1997;80:1021-4; Reis, S.E., et al., Circulation 1998;97:23-5). Sublingual administration of 17 β -estradiol in post-menopausal women increases the duration of treadmill exercise before the onset of ischemia (Rosano, G.M.C., et al., Lancet 1993;342:133-6).

Estrogen increases the expression of genes for important vasodilatory enzymes such as prostacyclin synthase and nitric oxide synthase (Table 1) (Weiner, C.P., et al., Proc Natl Acad Sci USA 1994;91:5212-6; Binko, J., et al., Am J Physiol 1998;274:H853-H859). Some of the rapid effects of estrogen may therefore be due to longer-term increases in the expression of the genes for these enzymes in vascular tissues. Estrogen may also increase the bioavailability of nitric oxide in vessels by increasing the expression of the gene for the inducible form of nitric oxide synthase (Binko, J., et al., Am J Physiol 1998;274:H853-H859). Long-term administration of estrogen increases acetylcholine-mediated coronary vasodilatation in nonhuman primates (Williams, J.K., et al., Circulation 1990;81:1680-7; Williams, J.K., et al., Circulation 1997;98:1870-5), male-to-female transsexuals (McCrohon, J.A., et al., J Am Coll Cardiol 1997;29:1432-6; New, G., et al., J Am Coll Cardiol 1997;29:1437-44), post-menopausal women (Herrington, D.M., et al., Am J Cardiol 1994;73: 951-2) and post-menopausal women with angina and normal coronary arteries (Roque, M., et al., J Am Coll Cardiol 1998;31:139-43).

Estrogen accelerates endothelial cell growth in vitro and in vivo (Morales, D.E., et al., Circulation 1995;91:755-63; Krasinski, K., et al., Circulation 1997;95:1768-72). The rapid reendothelialization induced by estrogen after vascular injury may be due in part to increased local expression of vascular endothelial growth factor. Estrogen also inhibits apoptosis of cultured human

endothelial cells in an estrogen receptor-dependent manner (Spyridopoulos, I., et al., Circulation 1997;95:1505-14). Early restoration of endothelial integrity by estrogen may contribute to the attenuation of the response to injury by increasing the availability of nitric oxide, which can directly inhibit the proliferation of smooth-muscle cells (Cornwell, T.L., et al., Am J Physiol 1994;267:C1405-C1413). Estrogen directly inhibits the migration and proliferation of smooth-muscle cells in vitro (Kolodgie, F.D., et al., Am J Pathol 1996;148: 969-78; Bhatta, R.C., et al., Am J Physiol 1997;272:H1996-H2003).

Thus estrogen has both rapid and longer-term effects on the blood-vessel wall. It is believed that estrogen influences the bioavailability of endothelial-derived nitric oxide and, through nitric oxide-mediated increases in cyclic guanosine monophosphate, causes the relaxation of vascular smooth-muscle cells. The longer-term effects of estrogen are due at least in part to changes in vascular-cell gene and protein expression that is mediated by estrogen receptor α , β , or both. Estrogen-regulated proteins influence vascular function in an autocrine or paracrine fashion.

The direct effects of estrogen on the vasculature promote vasodilatation and inhibit the development and progression of atherosclerosis. However, some of the nonvascular effects of estrogen may offset its beneficial vascular effects.

Breast cancer is a hormone-dependent disease. Women without functioning ovaries who never receive estrogen replacement do not develop breast cancer. The female-to-male ratio for the disease is about 150 to 1. A host of findings indicate that hormones play a critical role as promoters of the disease. For most epithelial malignancies, a log-log plot of incidence versus age shows a straight-line increase with every year of life. A similar plot for breast cancer shows the same straight line increase, but with a decrease in slope beginning at the age of menopause. The three dates in a woman's life that have a major impact on breast cancer incidence are age of menarche, age at first full-term pregnancy, and age of menopause. Women who experience menarche at age 16 have only 50 to 80 percent of the lifetime breast cancer risk of women who experience menarche at age 12. Similarly, menopause occurring 10 years before

the median age (52 years), whether natural or surgically induced, reduces lifetime breast cancer risk by about 35 percent. Compared with nulliparous women, women who have a first full-term pregnancy by age 18 have 30 to 40 percent the risk of breast cancer. Thus, length of menstrual life—particularly the fraction occurring before the first full-term pregnancy—is a substantial component of the total risk of breast cancer. This factor can account for 70 to 80 percent of the variation in breast cancer frequency in different countries.

International variation has provided some of the most important clues on hormonal carcinogenesis. A woman living to age 80 in North America has 1 chance in 9 of developing invasive breast cancer. Asian women have one-fifth to one-tenth the risk of breast cancer of women in North America or Western Europe. Asian women have substantially lower concentrations of estrogens and progesterone. These differences cannot be explained on a genetic basis, because Asian women living in a Western environment have a risk identical to that of their Western counterparts. These women also differ markedly in height and weight from Asian women in Asia; height and weight are critical regulators of age of menarche and have substantial effects on plasma concentrations of estrogens. (Lippman, M.E., *Breast Cancer*, Chapter 91, in Harrison's Principles of Internal Medicine, 14th ed., 1998).

Menopause occurs naturally at an average age of 50 to 51 years in the USA. As ovaries age, response to pituitary gonadotropins (follicle-stimulating hormone [FSH] and luteinizing hormone [LH]) decreases, initially resulting in shorter follicular phases (thus, shorter menstrual cycles), fewer ovulations, decreased progesterone production, and more irregularity in cycles. Eventually, the follicle fails to respond and does not produce estrogen. The transitional phase, during which a woman passes out of the reproductive stage, begins before menopause. It is termed the climacteric or perimenopause, although many persons refer to it as menopause.

Premature menopause refers to ovarian failure of unknown cause that occurs before age 40. It may be associated with smoking, living at high altitude, or poor nutritional status. Artificial menopause may result from oophorectomy,

chemotherapy, radiation of the pelvis, or any process that impairs ovarian blood supply.

Symptoms of the climacteric range from nonexistent to severe. Hot flushes (flashes) and sweating secondary to vasomotor instability affect 75% of women. Most have hot flushes for more than 1 year, and 25 to 50% for more than 5 years. The woman feels warm or hot and may perspire, sometimes profusely. The skin, especially of the head and neck, becomes red and warm. The flush, which may last from 30 sec to 5 min, may be followed by chills. Vasomotor symptoms of the hot flush coincide with the onset of LH pulses, but not every increase in LH is associated with a hot flush, suggesting that hypothalamic control of LH pulses is independent of that of flushes. This independence is confirmed by the occurrence of hot flushes in women who have had pituitary failure and do not secrete LH and/or FSH.

Psychologic and emotional symptoms—including fatigue, irritability, insomnia, inability to concentrate, depression, memory loss, headache, anxiety, and nervousness and timidity can occur. Sleep disruption by recurrent hot flushes contributes to fatigue and irritability. Intermittent dizziness, paresthesias, palpitations, and tachycardia may also occur. Nausea, constipation, diarrhea, arthralgia, myalgia, cold hands and feet, and weight gain are also common.

The large reduction in estrogen leads to profound changes in the lower genital tract; e.g., the vaginal mucosa and vulvar skin become thinner, the normal bacterial flora changes, and the labia minora, clitoris, uterus, and ovaries decrease in size. Inflammation of the vaginal mucosa (atrophic vaginitis) can cause the mucosa to have a strawberry appearance and can lead to urinary frequency and urgency, vaginal dryness, and dyspareunia. Women tend to lose pelvic muscle tone and to develop urinary incontinence, cystitis, and vaginitis.

The incidence of clinical coronary artery disease (CAD) in premenopausal women is very low. However, following menopause, the atherogenic risk factors increase (e.g., increased LDL, reduced HDL) and the rate of clinical coronary events accelerates to the levels observed in men. Diabetes mellitus, which is more common in women, greatly increases the occurrence of clinical CAD and

amplifies the deleterious effects of hypertension, hyperlipidemia, and smoking. The post-menopausal use of hormone replacement therapy (estrogen with or without a progestin) reduces adverse coronary outcomes but should not be given to patients at higher than usual risk of breast cancer.

5

Over and above obstetric and gynecologic conditions, women experience or report greater morbidity than men. Studies have found that women experience a 25 percent higher rate of restricted activity and a 40 percent higher rate of bed disability, adjusted across all ages. For example, 22.2 percent of women aged 85 and older require assistance with activities of daily living, compared to 14.5 percent of men in this age group. Women also make more visits to physicians, particularly for acute self-limited illnesses. It is unclear whether there are real differences in the prevalence of morbidity or differences in care-seeking behavior following the perception of symptoms.

10

15

In the developed nations, women live longer than men. In 1995, in the United States, the projected average life expectancy from birth is 79.7 years for females and 72.8 years for males. Although more male fetuses are conceived than female fetuses, females have a survival advantage over males in all age groups. The longer life expectancy of women in developed countries, compared to men, is due in large part to the difference in mortality caused by ischemic heart disease (IHD).

20

As shown in Table 2, the leading causes of death among young women in the United States are accidents, homicide, and suicide. During the middle years, breast cancer is a slightly more common cause of death than IHD and lung cancer. In women between ages 65 and 74, IHD, lung cancer, and cerebrovascular disease overtake breast cancer as the leading causes of death. Among women of all ages, IHD is the leading cause of death, by a substantial margin, with a mortality rate five to sixfold higher than the rate for either lung or breast cancer.

25

30

30175553-11760

Table 2: Death Rates (Per 100,000) For The Leading Causes Of Death In U.S. Women, 1990

Ages 24-34	Ages 45-54	Ages 65-74	All Ages
Total: 74.2	Total: 342.7	Total 1991.2	Total 812.0
1. Motor vehicle accidents (11.5)	1. Breast cancer (45.4)	1. Ischemic heart disease (415.2)	1. Ischemic heart disease (185.6)
2. Homicide (7.2)	2. Ischemic heart disease (33.6)	2. Lung cancer* (181.7)	2. Cerebrovascular disease (68.6)
3. Suicide (5.6)	3. Lung cancer (35.3)*	3. Cerebrovascular disease (126.9)	3. Lung cancer* (40.4)
4. Non-motor vehicle accidents (4.6)	4. Cerebrovascular disease (17.0)	4. Breast cancer (111.7)	4. Breast cancer (34.0)
SOURCE: Adapted from National Center for Health Statistics Vital Statistics of the United States, 1990, vol II: Mortality, Part A. Washington, Public Health Service, 1994. DHHS Publication No. (PHS)95-1101, pp 40-52. * Cancer of respiratory and intrathoracic organs, predominantly lung cancer.			

5 Certain biological differences also contribute to the greater longevity of women. The most obvious is the exposure to estrogen that most women experience for about 40 years of their lives, which may provide some protection from IHD.

10 Primary prevention and screening are crucial elements in improving the health of women. Although there are few definitive clinical trials of preventive interventions in women, a growing number of large case-control and prospective cohort observational studies (such as the Nurses' Health Study) have evaluated the prevention of disease in women. Based on available literature and experience,

15 various authoritative organizations (e.g., the U.S. Preventive Services Task Force, Canadian Task Force, American College of Physicians, American Heart Association, American Cancer Society) have published guidelines on preventive practices in women (Blumenthal, S.J. et al: Towards a Women's Health Research Agenda. Findings of the Scientific Advisory Meeting. Washington, DC, Bass and

20 Howes, 1991; Colditz, G.A, JAMWA 50:40, 1995; Gjebers van Wijk, C.M.T., et al., Women Health 17:91, 1991; Verbrugge, L.M. and Wingard, D.L., Women Health 12:103, 1987).

Post-menopausal estrogen therapy is associated with a 40 to 50 percent reduction in deaths due to IHD, a finding supported by several case-control studies. Calcium and estrogen replacement therapy have been shown to slow the development of osteoporosis and to reduce the frequency of hip and vertebral fracture in the post-menopausal woman (Rich-Edwards, J.W., et al., N Engl J Med 332:1758, 1995).

Many people think of IHD as primarily a problem of men, perhaps because men have more than twice the total incidence of cardiovascular morbidity and mortality than women between the ages of 35 and 84. However, as stated earlier, in the United States IHD is the leading cause of death among women as well as men (Table 1), although the curve for mortality rate from IHD lags behind that for men by about a decade. Nearly 250,000 women die annually from IHD ; after age 40, one in three women will die from heart disease. Although IHD mortality has been falling in the United States over the past 30 years, the rate of decline has been lower in women than in men.

Women have a more favorable risk profile for IHD in some respects: higher HDL cholesterol levels, lower triglyceride levels, and less upper-body obesity than men. But women also have a less favorable risk profile in other respects: more obesity, higher blood pressure, higher plasma cholesterol levels, higher fibrinogen levels, and more diabetes. An explanation for the sex differential in IHD is a cardioprotective effect of estrogen, due to improvement of the lipid profile, a direct vasodilatory effect, and perhaps other factors. HDL cholesterol levels appear to be a particularly important risk factor for IHD in women. HDL levels are higher in all age groups in women compared to men, and are higher in premenopausal and estrogen-treated post-menopausal women than in non-estrogen-treated post-menopausal women.

IHD presents differently in men and women. In the Framingham study, angina was the most frequent initial symptom of IHD in women, occurring in 47 percent of women. Myocardial infarction was the most frequent initial symptom in men, occurring in 46 percent of men. The exercise electrocardiogram appears to have a lower specificity for IHD in women than in men.

50175663 0111200

Hypertension is more common in U.S. women than men, largely owing to the high prevalence of hypertension in older age groups and the longer survival of women. Renovascular hypertension from fibromuscular dysplasia occurs more often in women. Other causes of secondary hypertension occur with equal frequency in women and men. Both the effectiveness and the adverse effects of various antihypertensive drugs appear to be comparable in women and men. Benefits of treatment for severe hypertension have been dramatic in both women and men. However, in clinical trials of the treatment of mild to moderate hypertension, women have had a smaller decrease in morbidity and mortality than men, perhaps because women have a lower risk of myocardial infarction and stroke than men to begin with. Older women benefit at least as much as men from treatment, as demonstrated by the Systolic Hypertension in the Elderly study. When oral contraceptives were first introduced, many women had a small increase in blood pressure, with 5 percent showing an increase to above 140/90 over a 5-year period. The incidence of hypertension appears to be lower with the current low-dose oral contraceptives. Post-menopausal estrogen therapy is not associated with increases in blood pressure (Kaplan, N.M., Arch Intern Med 185:563, 1995).

Estrogen secretion also appears to play an important role in the control of bone density. While it is clear that the risk of osteoporosis in post-menopausal women is much greater than in men of the same age, and while post-menopausal estrogen supplementation is associated with a decreased incidence of osteoporosis, the mechanisms by which estrogen exerts its protective effects are not fully elucidated.

The Framingham Study, an observational study of men and women under way since 1947, has been increasingly analyzing data specific to women. Since 1976, the Nurses' Health Study has been following more than 120,000 women, prospectively collecting data about their smoking, diet, physical activity, medications, prevention and screening behaviors, and some psychosocial factors. This study already has revealed information about how these factors contribute to the relative risk of developing a number of medical disorders, including breast

cancer, ischemic heart disease, stroke, diabetes, and fracture, as well as to causes of mortality (Murabito, J.M., JAMWA 50:35, 1995).

The Post-menopausal Estrogens/Progestins Intervention (PEPI) Trial was the first major trial testing the effects of post-menopausal hormone replacement therapy. It was a 3-year, multicenter, randomized, double-blind, placebo-control trial of the effects of three estrogen/progestin regimens on risk factors for cardiovascular disease, bone mineral density, and endometrial tissue. Thus far, the study has reported that estrogen alone or in combination with progestin increased serum levels of HDL and decreased low-density lipoprotein (LDL) and fibrinogen levels. While unopposed estrogen (without progestins) resulted in the most beneficial effects on lipids, it also was associated with an increased risk of endometrial hyperplasia (The Writing Group for the PEPI Trial, JAMA 273:199, 1995).

The compositions and methods of the present invention act to cure, ameliorate, or prevent pathological conditions that contribute to cardiovascular mortality in men and post-menopausal women and reduce morbidity and the risk of mortality in post-menopausal women due to the combined reduction of cardiovascular disease, breast cancer and osteoporosis. These effects are accomplished by the compositions and methods of the invention with a substantial reduction of the concomitant liability of adverse effects associated with estrogen administration. Not being bound by any single theory, it is believed that administration of the compositions of the invention results in an estrogenic effect on the cardiovascular system and bone while having an antiestrogenic effect on the breast and other tissues. The overall effect is a beneficial one that is substantially free of the adverse effects attributed to estrogen administration.

BRIEF DESCRIPTION OF THE DRAWINGS

Figure 1 is a log-linear competition binding plot of PPTN and 17 β -estradiol to human estrogen receptor. The X-axis represents percentage of radiolabeled estrogen bound to receptor. The Y-axis represents concentration of added ligand. Values are mean $\pm$ SEM.

60175553
11200

SUMMARY OF THE INVENTION

This invention relates to pharmaceutical compositions useful for the reduction of morbidity and the risk of mortality. The compositions are comprised of an estrogen agonist / antagonist and a pharmaceutically acceptable carrier, vehicle or diluent. These compositions are effective in reducing cardiovascular morbidity and the risk of mortality in male and female subjects and for reducing morbidity and/or the risk of mortality in post-menopausal women due to the combined effect of reductions in cardiovascular disease, breast cancer and osteoporosis.

A second aspect of the invention relates to methods of reducing morbidity and mortality. Specifically the methods relate to methods of reducing cardiovascular morbidity and the risk of mortality in male and female subjects and reducing morbidity and/or the risk of mortality in post-menopausal women due to the combined effect of reductions of cardiovascular disease, breast cancer and osteoporosis. The methods comprise the administration of an effective amount of the estrogen agonists / antagonists as described herein.

A third aspect of the invention is that the compositions and methods of reducing cardiovascular morbidity and the risk of mortality in male and female subjects and reducing morbidity and/or the risk of mortality due to the combined effect of reductions of cardiovascular disease, breast cancer and osteoporosis are effective while substantially reducing the concomitant liability of adverse effects associated with estrogen administration.

As a fourth aspect, the present invention provides for kits for use by a consumer to reduce cardiovascular morbidity and the risk of in male and female subjects and reduce morbidity and/or the risk of mortality due to the combined effect of reductions of cardiovascular disease, breast cancer and osteoporosis.

The kit comprises a) a pharmaceutical composition comprising an estrogen agonist / antagonist of the present invention and a pharmaceutically acceptable carrier, vehicle or diluent; and b) instructions describing a method of using the pharmaceutical composition to reduce cardiovascular mortality in men and post-menopausal women and reduce morbidity and the risk of mortality due to the

combined effect of reductions of cardiovascular disease, breast cancer and osteoporosis. The instructions may also indicate that the kit is for the reduction of cardiovascular mortality in men and post-menopausal women and/or the reduction of morbidity and/or the risk of mortality due to the combined effects of cardiovascular disease, breast cancer and osteoporosis, while substantially reducing the concomitant liability of adverse effects associated with estrogen administration.

As a fifth aspect, the present invention provides for the use of estrogen agonists / antagonists of the present invention for the manufacture of a medicament to reduce cardiovascular in male and female subjects and reduce morbidity and/or the risk of mortality due to the combined effect of reductions of cardiovascular disease, breast cancer and osteoporosis in post menopausal women. These indications are also treated by the medicament while substantially reducing the concomitant liability of adverse effects associated with estrogen administration.

DETAILED DESCRIPTION OF THE INVENTION

The present invention relates to compositions and methods for the reduction of morbidity and for the reduction of the risk of mortality. Unless otherwise specified, the following terms have the meanings as defined below:

"Treatment" as used herein includes preventative (e.g., prophylactic) and palliative treatment and "treating" as used herein refers to the act of providing preventative and/or palliative treatment.

A "subject" is an animal including the human species that is treatable with the compositions, methods and kits of the present invention. The term "subject" or "subjects" is intended to refer to both the male and female gender unless one gender is specifically indicated.

"Adverse effects associated with estrogen" include breast tenderness, breast cancer, bloating, headache, increased blood clotting and menstrual bleeding in women. Unopposed estrogen therapy increases the risk of

endometrial carcinoma. Women on long-term estrogen therapy may have an increased risk that is not reversed by concurrent progestin (N Engl J Med 332:1589, 1995). In men, the adverse effects of estrogen include increased blood clotting, gynecomastia, feminization and decreased libido.

5

The term "post-menopausal women" is defined to include not only women of advanced age who have passed through menopause, but also women who have been hysterectomized or for some other reason have suppressed estrogen production, such as those who have undergone long-term administration of corticosteroids, suffer from Cushings' syndrome or have gonadal dysgenesis.

10

"Breast cancer" is defined as a malignant proliferation of epithelial cells lining the ducts or lobules of the breast.

15

An "estrogen agonist / antagonist" is compound that affects some of the same receptors that estrogen does, but not necessarily all, and in some instances, it antagonises or blocks estrogen. It is also known as a "selective estrogen receptor modulator" (SERM). Estrogen agonist / antagonists may also be referred to as antiestrogens although they have some estrogenic activity at some estrogen receptors. Estrogen agonist / antagonists are therefore not what are commonly referred to as "pure antiestrogens". Antiestrogens that can also act as agonists are referred to as Type I antiestrogens. Type I antiestrogens activate the estrogen receptor to bind tightly in the nucleus for a prolonged time but with impaired receptor replenishment (Clark, et al., Steroids 22:707, 1973, Capony, et al., Mol Cell Endocrinol, 3:233, 1975).

20

25

The method referred to above for reducing morbidity and/or mortality generally refers to benefits and/or survival in the long term. Clinical benefits may be observable within a few weeks, for example 2-3 weeks, however, this does not imply that the patients are not benefiting from the treatment prior to actual clinical observation. It is preferred, however that administration be effected long term; that is for longer than 16 weeks, and preferably longer than 6 months.

30

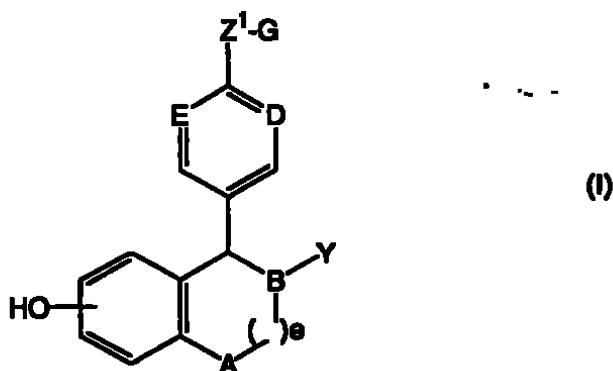
Not being bound by any single theory, it is believed that the estrogen agonists / antagonists of the present invention and the compositions containing

35

50173333 01100

those estrogen agonists / antagonists reduce the risk of cardiovascular mortality in men and reduce morbidity and the risk of mortality in post-menopausal women due to activity at the estrogen receptor. The estrogen agonists / antagonists of the present invention exert an estrogenic cardioprotective effect in animals and an estrogenic effect on bone to treat osteoporosis. The estrogen agonists / antagonists of the present invention exert an anti-estrogenic effect on breast tissue to prevent or treat breast cancer in animals. The effects are achieved without the concomitant liability of adverse effects associated with estrogen administration due to the estrogen agonists / antagonists antiestrogen effects in other tissues such as breast tissue.

The estrogen agonist / antagonists of the present invention include the compounds described in US 5,552,412 which is incorporated in its entirety. The compounds are described by formula (I) given below:



wherein:

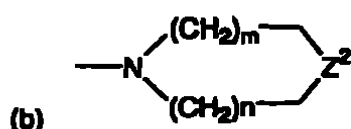
- A is selected from CH₂ and NR;
- B, D and E are independently selected from CH and N;
- Y is
 - (a) phenyl, optionally substituted with 1-3 substituents independently selected from R⁴;
 - (b) naphthyl, optionally substituted with 1-3 substituents independently selected from R⁴;
 - (c) C₃-C₆ cycloalkyl, optionally substituted with 1-2 substituents independently selected from R⁴;

(e) a five membered heterocycle containing up to two heteroatoms selected from the group consisting of -O-, -NR²- and -S(O)_n, optionally substituted with 1-3 substituents independently selected from R⁴

(g) a bicyclic ring system consisting of a five or six membered heterocyclic ring fused to a phenyl ring, said heterocyclic ring containing up to two heteroatoms selected from the group consisting of -O-, -NR²- and -S(O)_m, optionally substituted with 1-3 substituents independently selected from R⁴;

(a) $-(\text{CH}_2)_p \text{W}(\text{CH}_2)_q-$;
(b) $-\text{O}(\text{CH}_2)_p \text{CR}^5\text{R}^6-$;
(c) $-\text{O}(\text{CH}_2)_p \text{W}(\text{CH}_2)_q-$;
(d) $-\text{OCHR}^2\text{CHR}^3-$; or
(e) $-\text{SCHR}^2\text{CHR}^3-$;

(a) $-NR^7R^8$;

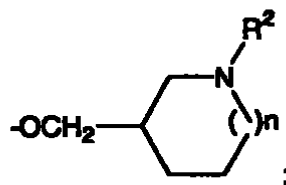


wherein n is 0, 1 or 2; m is 1, 2 or 3; Z² is -NH-, -O-, -S-, or -CH₂-;

optionally fused on adjacent carbon atoms with one or two phenyl rings and, optionally independently substituted on carbon with one to three substituents and, optionally, independently on nitrogen with a chemically suitable substituent selected from R⁴; or

(c) a bicyclic amine containing five to twelve carbon atoms, either bridged or fused and optionally substituted with 1-3 substituents independently selected from R⁴; or

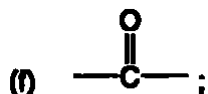
20
 21
 22
 23
 24
 25
 26
 27
 28
 29
 30
 31
 32
 33
 34
 35
 36
 37
 38
 39
 40
 41
 42
 43
 44
 45
 46
 47
 48
 49
 50
 51
 52
 53
 54
 55
 56
 57
 58
 59
 60
 61
 62
 63
 64
 65
 66
 67
 68
 69
 70
 71
 72
 73
 74
 75
 76
 77
 78
 79
 80
 81
 82
 83
 84
 85
 86
 87
 88
 89
 90
 91
 92
 93
 94
 95
 96
 97
 98
 99
 100
 101
 102
 103
 104
 105
 106
 107
 108
 109
 110
 111
 112
 113
 114
 115
 116
 117
 118
 119
 120
 121
 122
 123
 124
 125
 126
 127
 128
 129
 130
 131
 132
 133
 134
 135
 136
 137
 138
 139
 140
 141
 142
 143
 144
 145
 146
 147
 148
 149
 150
 151
 152
 153
 154
 155
 156
 157
 158
 159
 160
 161
 162
 163
 164
 165
 166
 167
 168
 169
 170
 171
 172
 173
 174
 175
 176
 177
 178
 179
 180
 181
 182
 183
 184
 185
 186
 187
 188
 189
 190
 191
 192
 193
 194
 195
 196
 197
 198
 199
 200
 201
 202
 203
 204
 205
 206
 207
 208
 209
 210
 211
 212
 213
 214
 215
 216
 217
 218
 219
 220
 221
 222
 223
 224
 225
 226
 227
 228
 229
 230
 231
 232
 233
 234
 235
 236
 237
 238
 239
 240
 241
 242
 243
 244
 245
 246
 247
 248
 249
 250
 251
 252
 253
 254
 255
 256
 257
 258
 259
 260
 261
 262
 263
 264
 265
 266
 267
 268
 269
 270
 271
 272
 273
 274
 275
 276
 277
 278
 279
 280
 281
 282
 283
 284
 285
 286
 287
 288
 289
 290
 291
 292
 293
 294
 295
 296
 297
 298
 299
 300
 301
 302
 303
 304
 305
 306
 307
 308
 309
 310
 311
 312
 313
 314
 315
 316
 317
 318
 319
 320
 321
 322
 323
 324
 325
 326
 327
 328
 329
 330
 331
 332
 333
 334
 335
 336
 337
 338
 339
 340
 341
 342
 343
 344
 345
 346
 347
 348
 349
 350
 351
 352
 353
 354
 355
 356
 357
 358
 359
 360
 361
 362
 363
 364
 365
 366
 367
 368
 369
 370
 371
 372
 373
 374
 375
 376
 377
 378
 379
 380
 381
 382
 383
 384
 385
 386
 387
 388
 389
 390
 391
 392
 393
 394
 395
 396
 397
 398
 399
 400
 401
 402
 403
 404
 405
 406
 407
 408
 409
 410
 411
 412
 413
 414
 415
 416
 417
 418
 419
 420
 421
 422
 423
 424
 425
 426
 427
 428
 429
 430
 431
 432
 433
 434
 435
 436
 437
 438
 439
 440
 441
 442
 443
 444
 445
 446
 447
 448
 449
 450
 451
 452
 453
 454
 455
 456
 457
 458
 459
 460
 461
 462
 463
 464
 465
 466
 467
 468
 469
 470
 471
 472
 473
 474
 475
 476
 477
 478
 479
 480
 481
 482
 483
 484
 485
 486
 487
 488
 489
 490
 491
 492
 493
 494
 495
 496
 497
 498
 499
 500
 501
 502
 503
 504
 505
 506
 507
 508
 509
 510
 511
 512
 513
 514
 515
 516
 517
 518
 519
 520
 521
 522
 523
 524
 525
 526
 527
 528
 529
 530
 531
 532
 533
 534
 535
 536
 537
 538
 539
 540
 541



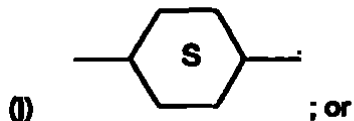
Z^1 and G in combination may be

W is

- (a) $-CH_2-$;
- (b) $-CH=CH-$;
- (c) $-O-$;
- (d) $-NR^2-$;
- (e) $-S(O)_n-$;



- (g) $-CR^2(OH)-$;
- (h) $-CONR^2-$;
- (i) $-NR^2CO-$;



- (k) $-C\equiv C-$;

R is hydrogen or C_1-C_6 alkyl;

R^2 and R^3 are independently

- (a) hydrogen; or
- (b) C_1-C_4 alkyl;

R^4 is

- (a) hydrogen;
- (b) halogen;
- (c) C_1-C_6 alkyl;
- (d) C_1-C_4 alkoxy;
- (e) C_1-C_4 acyloxy;
- (f) C_1-C_4 alkylthio;
- (g) C_1-C_4 alkylsulfinyl;
- (h) C_1-C_4 alkylsulfonyl;
- (i) hydroxy (C_1-C_4)alkyl;
- (j) aryl (C_1-C_4)alkyl;

leaf
141

- 5 (k) $-\text{CO}_2\text{H}$;
 (l) $-\text{CN}$;
 (m) $-\text{CONHOR}$;
 (n) $-\text{SO}_2\text{NHR}$;
 (o) $-\text{NH}_2$;
 (p) $\text{C}_1\text{-C}_4$ alkylamino;
 (q) $\text{C}_1\text{-C}_4$ dialkylamino;
 (r) $-\text{NHSO}_2\text{R}$;
 (s) $-\text{NO}_2$;
 10 (t) $-\text{aryl}$; or
 (u) $-\text{OH}$;

R^6 and R^8 are independently $\text{C}_1\text{-C}_8$ alkyl or together form a $\text{C}_3\text{-C}_{10}$ carbocyclic ring;

- 15 R^7 and R^9 are independently
 (a) phenyl;
 (b) a $\text{C}_3\text{-C}_{10}$ carbocyclic ring, saturated or unsaturated;
 (c) a $\text{C}_3\text{-C}_{10}$ heterocyclic ring containing up to two heteroatoms,
 selected from $-\text{O}-$, $-\text{N}-$ and $-\text{S}-$;
 (d) H ;
 20 (e) $\text{C}_1\text{-C}_8$ alkyl; or
 (f) form a 3 to 8 membered nitrogen containing ring with R^6 or R^8 ;

R^7 and R^9 in either linear or ring form may optionally be substituted with up to three substituents independently selected from $\text{C}_1\text{-C}_8$ alkyl, halogen, alkoxy, hydroxy and carboxy;

- 25 a ring formed by R^7 and R^9 may be optionally fused to a phenyl ring;
 e is 0, 1 or 2;
 m is 1, 2 or 3;
 n is 0, 1 or 2;
 p is 0, 1, 2 or 3;
 30 q is 0, 1, 2 or 3;

and optical and geometric isomers thereof; and nontoxic pharmacologically acceptable acid addition salts, N-oxides, esters, quaternary ammonium salts and prodrugs thereof.

50175663 111200

By halo is meant chloro, bromo, iodo, or fluoro or by halogen is meant chlorine, bromine, iodine or fluorine.

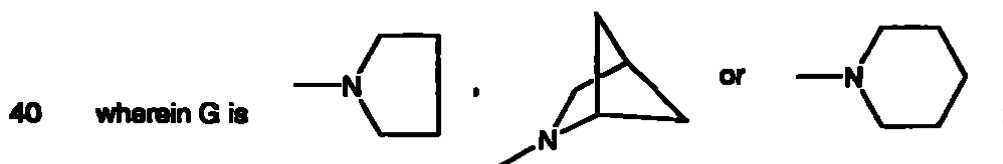
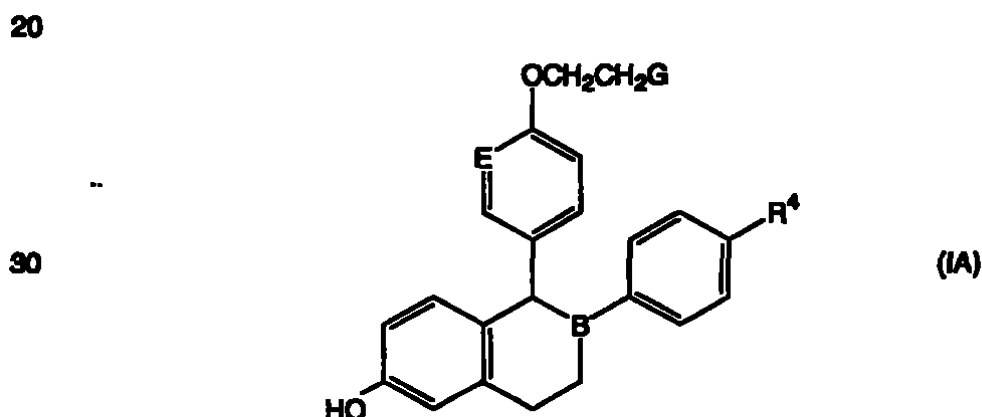
By alkyl is meant straight chain or branched saturated hydrocarbon.

- 5 Exemplary of such alkyl groups (assuming the designated length encompasses the particular example) are methyl, ethyl, propyl, isopropyl, butyl, sec-butyl, tertiary butyl, pentyl, isopentyl, hexyl and isohexyl.

- 10 By alkoxy is meant straight chain or branched saturated alkyl bonded through an oxy. Exemplary of such alkoxy groups (assuming the designated length encompasses the particular example) are methoxy, ethoxy, propoxy, isopropoxy, butoxy, isobutoxy, tertiary butoxy, pentoxy, isopentoxy, hexoxy and isohexoxy.

- 15 The parenthetical negative or positive sign used herein in the nomenclature denotes the direction plane polarized light is rotated by the particular stereoisomer.

Additional preferred compounds of the invention are of the formula (IA):



R^4 is H, OH, F, or Cl; and B and E are independently selected from CH and N.

Especially preferred compounds of the invention for the compositions and methods are:

cis-6-(4-fluoro-phenyl)-5-[4-(2-piperidin-1-yl-ethoxy)-phenyl]-5,6,7,8-
tetrahydro-naphthalene-2-ol;

(-)-cis-6-phenyl-5-[4-(2-pyrrolidin-1-yl-ethoxy)-phenyl]-5,6,7,8-tetrahydro-
naphthalene-2-ol;

cis-6-phenyl-5-[4-(2-pyrrolidin-1-yl-ethoxy)-phenyl]-5,6,7,8-tetrahydro-
naphthalene-2-ol;

cis-1-[6'-pyrrolidinoethoxy-3'-pyridyl]-2-phenyl-6-hydroxy-1,2,3,4-
tetrahydronaphthalene;

1-(4'-pyrrolidinoethoxyphenyl)-2-(4'-fluorophenyl)-6-hydroxy-1,2,3,4-
tetrahydroisoquinoline;

cis-6-(4-hydroxyphenyl)-5-[4-(2-piperidin-1-yl-ethoxy)-phenyl]-5,6,7,8-
tetrahydro-naphthalene-2-ol; and

1-(4'-pyrrolidinoethoxyphenyl)-2-phenyl-6-hydroxy-1,2,3,4-
tetrahydroisoquinoline and their salts. An especially preferred salt of the above is
the tartrate salt.

The chemist of ordinary skill will recognize that certain compounds of this invention will contain one or more atoms which may be in a particular stereochemical, tautomeric, or geometric configuration, giving rise to stereoisomers, tautomers and configurational isomers. All such isomers and mixtures thereof are included in this invention. Hydrates of the compounds of this invention are also included.

The subject invention also includes isotopically-labeled compounds, which are identical to those recited in Formula I, but for the fact that one or more atoms are replaced by an atom having an atomic mass or mass number different from the atomic mass or mass number usually found in nature. Examples of isotopes that can be incorporated into compounds of the invention include isotopes of hydrogen, carbon, nitrogen, oxygen, phosphorous, sulfur, fluorine and chlorine, such as ²H, ³H, ¹³C, ¹⁴C, ¹⁵N, ¹⁸O, ¹⁷O, ³¹P, ³²P, ³⁵S, ¹⁸F and ³⁶Cl, respectively. Compounds of the present invention, prodrugs thereof, and pharmaceutically acceptable salts of said compounds or of said prodrugs which contain the aforementioned isotopes and/or

other isotopes of other atoms are within the scope of this invention. Certain isotopically-labeled compounds of the present invention, for example those into which radioactive isotopes such as ^3H and ^{14}C are incorporated, are useful in drug and/or substrate tissue distribution assays. Tritiated, i.e., ^3H , and carbon-14, i.e., ^{14}C , isotopes are particularly preferred for their ease of preparation and detectability. Further, substitution with heavier isotopes such as deuterium, i.e., ^2H , can afford certain therapeutic advantages resulting from greater metabolic stability, for example increased *in vivo* half-life or reduced dosage requirements and, hence, may be preferred in some circumstances. Isotopically labeled compounds of Formula I of this invention and prodrugs thereof can generally be prepared by carrying out the procedures outlined and/or exemplified in U.S. patent 5,552,412 and by substituting a readily available isotopically labeled reagent for a non-isotopically labeled reagent.

Pharmaceutical chemists will easily recognize that physiologically active compounds which have accessible hydroxy groups are frequently administered in the form of pharmaceutically acceptable esters. The literature concerning such compounds, such as estradiol, provides a great number of instances of such esters. The compounds of this invention are no exception in this respect, and can be effectively administered as an ester, formed on the hydroxy groups, just as one skilled in pharmaceutical chemistry would expect. It is believed that such esters are metabolically cleaved in the body, yielding the compound with a free hydroxy group. It is possible, as has long been known in pharmaceutical chemistry, to adjust the rate or duration of action of the compound by appropriate choices of ester groups.

Certain ester groups are preferred as constituents of the compounds of this invention. The compounds of formula I or IA may contain ester groups at various positions as defined herein above, where these groups are represented as $-\text{COOR}_9$, R_9 is C_1 - C_{14} alkyl, C_1 - C_3 chloroalkyl, C_1 - C_3 fluoroalkyl, C_6 - C_7 cycloalkyl, phenyl, or phenyl mono- or disubstituted with C_1 - C_4 alkyl, C_1 - C_4 alkoxy, hydroxy, nitro, chloro, fluoro or tri(chloro or fluoro)methyl.

The pharmaceutically acceptable acid addition salts of the compounds of this invention may be formed of the compound itself, or of any of its esters, and

include the pharmaceutically acceptable salts which are often used in pharmaceutical chemistry. For example, salts may be formed with inorganic or organic acids such as hydrochloric acid, hydrobromic acid, hydroiodic acid, sulfonic acids including such agents as naphthalenesulfonic, methanesulfonic and toluenesulfonic acids, sulfuric acid, nitric acid, phosphoric acid, tartaric acid, pyrosulfuric acid, metaphosphoric acid, succinic acid, formic acid, phthalic acid, lactic acid and the like, most preferable with hydrochloric acid, citric acid, benzoic acid, maleic acid, acetic acid and propionic acid.

10 The compounds of this invention, as discussed above, can be administered in the form of acid addition salts. The salts are conveniently formed, as is usual in organic chemistry, by reacting a compound of this invention with a suitable acid, such as have been described above. The salts are quickly formed in high yields at moderate temperatures, and often are prepared by merely isolating the compound from a suitable acidic wash as the final step of the synthesis. The salt-forming acid is dissolved in an appropriate organic solvent, or aqueous organic solvent, such as an alcohol, ketone or ester. On the other hand, if a compound of this invention is desired in the free base form, it is isolated from a basic final wash step, according to the usual practice. A preferred technique for preparing hydrochlorides is to dissolve the free base in a suitable solvent and dry the solution thoroughly, as over molecular sieves, before bubbling hydrogen chloride gas through it. A preferred salt of (-)-cis-6-phenyl-5-[4-(2-pyrrolidin-1-yl-ethoxy)-phenyl]-5,6,7,8-tetrahydro-naphthalene-2-ol is the D-(-)-tartrate salt.

25 The dose of a compound of this invention to be administered to a subject is rather widely variable and subject to the judgement of the attending physician. It should be noted that it may be necessary to adjust the dose of a compound when it is administered in the form of a salt, such as a laureate, the salt forming moiety of which has an appreciable molecular weight.

30 The following dosage amounts and other dosage amounts set forth elsewhere in this specification and in the appendant claims are for an average human subject having a weight of about 65 kg to about 70 g. The skilled practitioner will readily be able to determine the dosage amount required for a subject whose weight falls outside the 65 kg to 70 kg range, based upon the

medical history of the subject and the presence of diseases, e.g., diabetes, in the subject. All doses set forth herein, and in the appendant claims, are daily doses of the free base form of the estrogen agonists / antagonists. Calculation of the dosage amount for other forms of the free base form such as salts or hydrates is easily accomplished by performing a simple ratio relative to the molecular weights of the species involved.

The general range of effective administration rates of the estrogen agonists / antagonists is from about 0.001 mg/day to about 10 mg/day. A preferred rate range is from about 0.010 mg/day to 5 mg/day. Of course, it is often practical to administer the daily dose of compound in portions, at various hours of the day. However, in any given case, the amount of compound administered will depend on such factors as the solubility of the active component, the formulation used and the route of administration.

The route of administration of the compounds of this invention is not critical. The compounds are known to be absorbed from the alimentary tract, and so it is usually preferred to administer a compound orally for reasons of convenience. However, the compounds may equally effectively be administered percutaneously, or as suppositories for absorption by the rectum, if desired in a given instance. All of the usual types of compositions may be used, including tablets, chewable tablets, capsules, solutions, parenteral solutions, troches, suppositories and suspensions. Compositions are formulated to contain a daily dose, or a convenient fraction of daily dose, in a dosage unit, which may be a single tablet or capsule or convenient volume of a liquid.

In general, all of the compositions are prepared according to methods usual in pharmaceutical chemistry and by those procedures outlined and/or exemplified in U.S. patent 5,552,412.

Capsules are prepared by mixing the compound with a suitable diluent and filling the proper amount of the mixture in capsules. The usual diluents include inert powdered substances such as starch of many different kinds, powdered cellulose, especially crystalline and microcrystalline cellulose, sugars such as fructose, mannitol and sucrose, grain flours and similar edible powders.

Tablets are prepared by direct compression, by wet granulation, or by dry granulation. Their formulations usually incorporate diluents, binders, lubricants and disintegrators as well as the compound. Typical diluents include, for example, various types of starch, lactose, mannitol, kaolin, calcium phosphate or sulfate, inorganic salts such as sodium chloride and powdered sugar. Powdered cellulose derivatives are also useful. Typical tablet binders are substances such as starch, gelatin and sugars such as lactose, fructose, glucose and the like. Natural and synthetic gums are also convenient, including acacia, alginates, methylcellulose, polyvinylpyrrolidone and the like. Polyethylene glycol, ethylcellulose and waxes can also serve as binders.

A lubricant is necessary in a tablet formulation to prevent the tablet and punches from sticking in the die. The lubricant is chosen from such slippery solids as talc, magnesium and calcium stearate, stearic acid and hydrogenated vegetable oils.

Tablet disintegrators are substances which swell when wetted to break up the tablet and release the compound. They include starches, clays, celluloses, algin and gums, more particularly, corn and potato starches, methylcellulose, agar, bentonite, wood cellulose, powdered natural sponge, cation-exchange resins, alginic acid, guar gum, citrus pulp and carboxymethylcellulose, for example, may be used as well as sodium lauryl sulfate.

Tablets are often coated with sugar as a flavor and sealant, or with film-forming protecting agents to modify the dissolution properties of the tablet. The compounds may also be formulated as chewable tablets, by using large amounts of pleasant-tasting substances such as mannitol in the formulation, as is now well-established in the art.

When it is desired to administer a compound as a suppository, the typical bases may be used. Cocoa butter is a traditional suppository base, which may be modified by addition of waxes to raise its melting point slightly. Water-miscible suppository bases comprising, particularly, polyethylene glycols of various molecular weights are in wide use.

The effect of the compounds may be delayed or prolonged by proper formulation. For example, a slowly soluble pellet of the compound may be prepared and incorporated in a tablet or capsule. The technique may be improved by making pellets of several different dissolution rates and filling capsules with a mixture of the pellets. Tablets or capsules may be coated with a film which resists dissolution for a predictable period of time. Even the parenteral preparations may be made long-acting, by dissolving or suspending the compound in oily or emulsified vehicles which allow it to disperse only slowly in the serum.

The term "prodrug" means compounds that are transformed in vivo to yield a compound of the present invention. The transformation may occur by various mechanisms, such as through hydrolysis in blood. A good discussion of the use of prodrugs is provided by T. Higuchi and W. Stella, "Pro-drugs as Novel Delivery Systems," Vol. 14 of the *A.C.S. Symposium Series*, and in *Bioreversible Carriers in Drug Design*, ed. Edward B. Roche, American Pharmaceutical Association and Pergamon Press, 1987.

For example, if a compound of the present invention contains a carboxylic acid functional group, a prodrug can comprise an ester formed by the replacement of the hydrogen atom of the acid group with a group such as (C₁-C₂)alkyl, (C₂-C₁₂)alkanoyloxymethyl, 1-(alkanoyloxy)ethyl having from 4 to 9 carbon atoms, 1-methyl-1-(alkanoyloxy)-ethyl having from 5 to 10 carbon atoms, alkoxycarbonyloxymethyl having from 3 to 6 carbon atoms, 1-(alkoxycarbonyloxy)ethyl having from 4 to 7 carbon atoms, 1-methyl-1-(alkoxycarbonyloxy)ethyl having from 5 to 8 carbon atoms, N-(alkoxycarbonyl)aminomethyl having from 3 to 9 carbon atoms, 1-(N-(alkoxycarbonyl)amino)ethyl having from 4 to 10 carbon atoms, 3-phthalidyl, 4-crotonolactonyl, gamma-butyrolacton-4-yl, di-N,N-(C₁-C₂)alkylamino(C₂-C₃)alkyl (such as β-dimethylaminoethyl), carbamoyl-(C₁-C₂)alkyl, N,N-di(C₁-C₂)alkylcarbamoyl-(C₁-C₂)alkyl and piperidino-, pyrrolidino- or morpholino(C₂-C₃)alkyl.

Similarly, if a compound of the present invention comprises an alcohol functional group, a prodrug can be formed by the replacement of the hydrogen atom of the alcohol group with a group such as (C₁-C₆)alkanoyloxymethyl, 1-((C₁-C₆)alkanoyloxy)ethyl, 1-methyl-1-((C₁-C₆)alkanoyloxy)ethyl, (C₁-C₆)alkoxycarbonyloxymethyl, N-(C₁-C₆)alkoxycarbonylaminomethyl, succinoyl, (C₁-C₆)alkanoyl, α-amino(C₁-C₆)alkanoyl, arylactyl and α-aminoacyl, or α-aminoacyl-α-aminoacyl, where each α-aminoacyl group is independently selected from the naturally occurring L-amino acids, P(O)(OH)₂, -P(O)(O(C₁-C₆)alkyl)₂ or glycosyl (the radical resulting from the removal of a hydroxyl group of the hemiacetal form of a carbohydrate).

If a compound of the present invention comprises an amine functional group, a prodrug can be formed by the replacement of a hydrogen atom in the amine group with a group such as R^x-carbonyl, R^xO-carbonyl, NR^xR^x-carbonyl where R^x and R^x are each independently ((C₁-C₁₀)alkyl, (C₃-C₇)cycloalkyl, benzyl, or R^x-carbonyl is a natural α-aminoacyl or natural α-aminoacyl-natural α-aminoacyl, -C(OH)C(O)OY^x wherein (Y^x is H, (C₁-C₆)alkyl or benzyl), -C(OY^{x2}) Y^{x1} wherein Y^{x2} is (C₁-C₆) alkyl and Y^{x1} is ((C₁-C₆)alkyl, carboxy(C₁-C₆)alkyl, amino(C₁-C₆)alkyl or mono-N- or di-N,N-(C₁-C₆)alkylaminoalkyl, -C(Y^{x2}) Y^{x3} wherein Y^{x2} is H or methyl and Y^{x3} is mono-N- or di-N,N-(C₁-C₆)alkylamino, morpholino, piperidin-1-yl or pyrrolidin-1-yl.

As used herein, the term "effective amount" means an amount of compound of the methods of the present invention that is capable of treating the symptoms of the described pathological conditions. The specific dose of a compound administered according to this invention will, of course, be determined by the particular circumstances surrounding the case including, for example, the compound administered, the route of administration, the state of being of the patient, and the severity of the pathological condition being treated.

Advantageously, the present invention also provides kits for use by a consumer for reducing cardiovascular morbidity and the risk of in male and female subjects or morbidity and/or the risk of mortality in post-menopausal women due to the combined effects of cardiovascular disease, breast cancer and

10

25

35

material is sealed against the plastic foil at the face of the foil which is opposite from the direction in which the recesses were formed. As a result, the tablets or capsules are individually sealed or collectively sealed, as desired, in the recesses between the plastic foil and the sheet. Preferably the strength of the sheet is such that the tablets or capsules can be removed from the blister pack by manually applying pressure on the recesses whereby an opening is formed in the sheet at the place of the recess. The tablet or capsule can then be removed via said opening.

It may be desirable to provide a written memory aid, where the written memory aid is of the type containing information and/or instructions for the physician, pharmacist or subject, e.g., in the form of numbers next to the tablets or capsules whereby the numbers correspond with the days of the regimen which the tablets or capsules so specified should be ingested or a card which contains the same type of information. Another example of such a memory aid is a calendar printed on the card e.g., as follows "First Week, Monday, Tuesday," . . . etc "Second Week, Monday, Tuesday, . . ." etc. Other variations of memory aids will be readily apparent. A "daily dose" can be a single tablet or capsule or several tablets or capsules to be taken on a given day.

Another specific embodiment of a kit is a dispenser designed to dispense the daily doses one at a time in the order of their intended use. Preferably, the dispenser is equipped with a memory-aid, so as to further facilitate compliance with the regimen. An example of such a memory-aid is a mechanical counter which indicates the number of daily doses that has been dispensed. Another example of such a memory-aid is a battery-powered micro-chip memory coupled with a liquid crystal readout, or audible reminder signal which, for example, reads out the date that the last daily dose has been taken and/or reminds one when the next dose is to be taken.

Based on a reading of the present description and claims, certain modifications to the compositions and methods described herein will be apparent to one of ordinary skill in the art. The claims appended hereto are intended to encompass these modifications.

HFE
152

All references and patents cited herein are incorporated by reference.

5

EXAMPLES

Example 1: Estrogen Receptor Binding.

10 Estrogen and estrogen agonist / antagonist binding affinity was measured by the following protocol:

15 cDNA cloning of human ER α The coding region of human ER α was cloned by RT-PCR from human breast cancer cell mRNA using Expand™ High Fidelity PCR System according to manufacturer's instructions (Boehringer-Mannheim, Indianapolis, IN). PCR products were cloned into pCR2.1 TA Cloning Kit (Invitrogen, Carlsbad, CA) and sequenced. Each receptor coding region was subcloned into the mammalian expression vector pcDNA3 ((Invitrogen, Carlsbad, CA).

20 Mammalian cell expression. Receptor proteins were overexpressed in 293T cells. These cells, derived from HEK293 cells (ATCC, Manassas, VA), have been engineered to stably express large T antigen and can therefore replicate plasmids containing a SV40 origin of replication to high copy numbers. 293T cells were transfected with either hER α -pcDNA3 or hER β -pcDNA3 using lipofectamine as described by the manufacturer (Gibco/BRL, Bethesda, MD). Cells were harvested 25 in phosphate buffered saline (PBS) with 0.5 mM EDTA at 48 h post-transfection. Cell pellets were washed once with PBS/EDTA. Whole cell lysates were prepared by homogenization in TEG buffer (50 mM Tris pH 7.4, 1.5 mM EDTA, 50 mM NaCl, 10% glycerol, 5 mM DTT, 5 μ g/ml aprotinin, 10 μ g/ml leupeptin, 0.1 mg/ml Pefabloc) using a dounce homogenizer. Extracts were centrifuged at 100,000 x g 30 for 2 h at 4C and supernatants were collected. Total protein concentrations were determined using BioRad reagent (BioRad, Hercules, CA).

Competition binding assay. The ability of various compounds to inhibit [3 H]-estradiol binding was measured by a competition binding assay using dextran-

501755633 011200

coated charcoal as has been described (Leake RE, Habib F 1987 Steroid hormone receptors: assay and characterization. In: B. Green and R.E. Leake (eds). Steroid Hormones a Practical Approach. IRL Press Ltd, Oxford. 67-92.) 293T cell extracts expressing either hER α or hER β were incubated in the presence of increasing concentrations of competitor and a fixed concentration of [3 H]-estradiol (141 Ci/mmol, New England Nuclear, Boston, MA) in 50 mM TrisHCl pH 7.4, 1.5 mM EDTA, 50 mM NaCl, 10% glycerol, 5 mM DTT, 0.5 mg/mL β -lactoglobulin in a final volume of 2 mL. All competitors were dissolved in dimethylsulfoxide. The final concentration of receptor was 50 pM with 0.5 nM [3 H]-estradiol. After 16 h at 4C, dextran-coated charcoal (20 μ L) was added. After 15 min at room temperature the charcoal was removed by centrifugation and the radioactive ligand present in the supernatant was measured by scintillation counting. All reagents were obtained from Sigma (St. Louis, MO) unless otherwise indicated.

The binding affinity of (-)-cis-6-phenyl-5-[4-(2-pyrrolidin-1-yl-ethoxy)-phenyl]-5,6,7,8-tetrahydro-naphthalene-2-ol (PPTN) and 17 β -estradiol were measured using recombinant human estrogen receptor (ER). Figure 1 shows the results of a binding experiment in which the binding of PPTN was found to be similar to that of 17 β -estradiol.

Example 2: Inhibition of In Vitro Human Breast Tumor Cell Growth.

The *in vitro* antiproliferative effects of (-)-cis-6-phenyl-5-[4-(2-pyrrolidin-1-yl-ethoxy)-phenyl]-5,6,7,8-tetrahydro-naphthalene-2-ol (PPTN) were tested using two types of human breast cancer cell lines: first, MCF-7 cells, which contain ER as well as progesterone receptors (PgR), and second, MDA-MB-231 cells, which lack ER and PgR, and enable the determination of an effect that is independent of the ER mechanism. The effect of PPTN on the growth of these different cell lines was determined by incubation of the cells with various compound concentrations for 6 days.

The antiproliferative effects were then determined by direct cell counts. PPTN inhibited the growth of the ER-positive cell line MCF-7. The IC₅₀ for growth inhibition was approximately 3 to 5 x 10⁻¹¹ M. In MDA-MB-231, ER-negative cell lines, the compound did not inhibit cell proliferation. These results indicate that

growth inhibition was ER-specific and not due to cytotoxicity since the compound had no observable effect on the ER-negative cell line.

Example 3: Effect of (-)-Cis-6-phenyl-5-[4-(2-pyrrolidin-1-yl-ethoxy)-phenyl]-5,6,7,8-tetrahydro-naphthalene-2-ol (PPTN) in the Ovariectomized Rat Model: A Model of Post-menopausal Osteoporosis.

In women, estrogen deficiency during the menopause results in increased bone turnover leading to bone loss. Ovariectomy in rats produces estrogen deficiency and increased bone turnover leading to trabecular bone loss similar to that observed in post-menopausal women (Kalu, D.N., Bone and Mineral 1991;15:175; Frost, H.M., Jee W.S.S., Bone and Mineral 1992;18:227; Wronski, T.J., Yen, C-F, Cells Materials 1991;(suppl. 1):69). The OVX rat is thus an appropriate model to evaluate compounds for the prevention and treatment of post-menopausal osteoporosis. The ability of PPTN to inhibit estrogen deficiency bone loss was assessed in 5-month-old OVX rats, since ovariectomy causes significant bone loss in the lumbar vertebrae, proximal tibia, and distal femoral metaphyses (Ke, H.Z., et al., Endocrin 1995;136:2435; Chen, H.K., et al., J Bone Miner Res 1995;10:1258).

Five-month-old OVX female rats were treated with PPTN at oral doses of 0.733, 7.33, 73.3, and 733 $\mu\text{g/kg/day}$, or 17 α -ethynyl estradiol (EE) at 30 $\mu\text{g/kg/day}$ (10 rats per subgroup) daily for 4 weeks. The oral treatment began 1 day after surgery. Groups of vehicle-treated sham rats (n = 10) and vehicle-treated OVX rats (n = 10) served as controls. Calcein at 10 mg/kg was injected s.c. to all rats 12 and 2 days before necropsy as a fluorochrome bone marker to measure bone dynamic histomorphometric parameters. The effects of PPTN on the following end points were determined: (a) serum osteocalcin, a biochemical marker of bone turnover, (b) bone mineral density of lumbar vertebrae and distal femoral metaphyses, (c) bone histomorphometry of fifth lumbar vertebral body and proximal tibial metaphyses.

Serum osteocalcin concentration was determined by radioimmunoassay. Four weeks after surgery, serum osteocalcin concentration increased significantly

50175563 011200

by 85% in vehicle-treated OVX controls, compared with vehicle-treated sham controls. This increase was completely prevented by treatment with PPTN at doses $\geq 7.33 \mu\text{g/kg/day}$, or by treatment with EE. Therefore, both $7.33 \mu\text{g/kg/day}$ of PPTN and EE prevented the increase in osteocalcin concentration induced by estrogen deficiency in rats. These data suggest that PPTN inhibits bone turnover induced by estrogen deficiency.

-- The first to the sixth lumbar vertebrae from each rat were removed during necropsy. These were then scanned *ex vivo* using dual-energy X-ray absorptiometry. The scan images were analyzed, and bone area, bone mineral content (BMC), and bone mineral density (BMD) of whole lumbar vertebrae (WLV), and LV1 through LV6 were determined. Bone areas of WLV, and LV1 through LV6 did not differ between groups. The changes in BMC were similar to those observed in BMD. Further, the changes in BMD of WLV were identical to those observed in each of six vertebrae. Therefore, only the changes in the whole lumbar vertebrae are reported.

Following ovariectomy with vehicle treatment, a significant decrease in BMD of lumbar vertebrae was found at 4 weeks after ovariectomy. PPTN at all dose levels and EE completely prevented the decrease in lumbar vertebral BMD. Furthermore, BMD in OVX rats treated with $73.3 \mu\text{g/kg/day}$ of PPTN increased significantly as compared with both sham and OVX controls. These data indicate that PPTN at doses as low as $0.733 \mu\text{g/kg/day}$ completely prevented lumbar vertebral bone loss induced by estrogen deficiency.

In order to understand the cellular mechanism of bone-protective effects of PPTN at the tissue level, bone histomorphometric methods were used to determine the effects of PPTN on cancellous bone of the fifth lumbar vertebral body in OVX rats. Ovariectomy caused significant decreases in trabecular bone volume (trabecular bone area divided by marrow space area, expressed as percent) and trabecular number, and a significant increase in trabecular separation of the fifth lumbar vertebral body. These changes induced by ovariectomy were completely prevented by treatment with all doses of PPTN and EE. Further, trabecular number was significantly increased in OVX rats treated

with EE or PPTN at 73.3 or 733 $\mu\text{g/kg/day}$ as compared with sham controls. These data revealed that PPTN is a bone protective agent in estrogen-deficient rats. The ED_{50} of PPTN in preserving lumbar vertebral cancellous bone mass and structure in OVX rats was less than 0.733 $\mu\text{g/kg/day}$.

5 A significant increase in percent eroded surface (+59%), an index of osteoclastic bone resorption, was found in vehicle-treated OVX rats compared with vehicle-treated sham controls. Similar to EE, PPTN at all dose levels significantly decreased percent eroded surface in OVX rats compared with sham controls. Therefore, PPTN prevented bone loss in OVX rats by inhibiting bone
10 resorption associated with estrogen deficiency.

 Ovariectomy resulted in a significant increase in bone formation rate (BFR, amount of bone formation per unit bone surface), an index of bone turnover, while EE and PPTN at all dose levels inhibited this increase.

15 Bone turnover rate was significantly increased in vehicle-treated OVX rats compared with vehicle-treated sham controls. Bone turnover rate in OVX rats treated with either PPTN or EE did not differ from sham controls, indicating PPTN at all dose levels and EE completely prevented the increase in bone turnover
20 associated with estrogen deficiency.

 In summary, PPTN prevented lumbar vertebral bone loss by inhibiting bone resorption and bone turnover associated with estrogen deficiency in a manner indistinguishable from estrogen. The ED_{50} of PPTN in preserving
25 trabecular bone in this model was less than 0.733 $\mu\text{g/kg/day}$.

 Using dual-energy X-ray absorptiometry, the right femur of each rat was scanned *ex vivo*. Bone mineral density (BMD) of the distal femoral metaphyses (second 0.5 cm from the distal end of femur) and the proximal femur (the first 0.5
30 cm from the proximal end of femur, which contains the femoral head, neck, and greater trochanter) was determined.

 Four weeks after ovariectomy in vehicle-treated rats, BMD of distal femoral metaphyses and proximal femora significantly decreased. EE prevented

00175533 011200

the decrease in BMD of distal femoral metaphyses, but had no effect on proximal femoral BMD. In OVX rats treated with PPTN at 0.733 or 7.33 $\mu\text{g/kg/day}$, BMD of distal femoral metaphyses and proximal femur did not differ from OVX controls. However, PPTN at both 73.3 or 733 $\mu\text{g/kg/day}$ completely prevented the
5 decreases in BMD of distal femoral metaphyses and proximal femur in OVX rats.

In order to determine the effect of PPTN on long bone metaphyses, histomorphometric analyses were performed on the proximal tibiae. Trabecular bone volume significantly decreased in vehicle-treated OVX controls compared
10 with sham controls. PPTN at doses $\geq 7.33 \mu\text{g/kg/day}$ had significantly greater trabecular bone volume compared with OVX controls. At 0.733 $\mu\text{g/kg/day}$, PPTN had no significant effect on trabecular bone volume. The ED_{50} of PPTN in preserving proximal tibial trabecular bone mass in OVX rats was between 0.733 and 7.33 $\mu\text{g/kg/day}$.
15

Significant increases in indices of osteoclastic bone resorption (osteoclast number per millimeter of bone surface and percent osteoclast surface) were found in vehicle-treated OVX rats compared with vehicle-treated sham controls. Similar to EE, PPTN at 7.33, 73.3, or 733 $\mu\text{g/kg/day}$ dose levels significantly
20 decreased osteoclast number per millimeter of bone surface and percent osteoclast surface compared with both sham and OVX controls. Further, percent osteoclast surface decreased significantly in OVX rats treated with PPTN at 0.733 $\mu\text{g/kg/day}$ compared with OVX controls.

Ovariectomy significantly increased the bone turnover rate in proximal tibial trabecular bone compared with vehicle-treated sham controls. The bone turnover rate in OVX rats treated with either PPTN or EE did not differ from sham controls with the exception of PPTN at the 0.733 $\mu\text{g/kg/day}$ dose, indicating that
25 PPTN at doses of 7.33 to 733 $\mu\text{g/kg/day}$ prevented the increase in bone turnover associated with estrogen deficiency and maintained it at sham control levels.
30

In summary, PPTN had similar effects in preserving bone mineral density and trabecular bone volume in both proximal tibiae and lumbar vertebrae. The discrepancy between lumbar vertebrae and proximal tibiae in response to PPTN

administration was found only at 0.733 $\mu\text{g/kg/day}$, which indicated that PPTN at 0.733 $\mu\text{g/kg/day}$ completely prevented bone loss in lumbar vertebrae and failed to do so in proximal tibiae. Therefore, the ED_{50} of PPTN in preserving cancellous bone mass and inhibiting bone resorption was less than 0.733 $\mu\text{g/kg/day}$ in lumbar vertebrae, and between 0.733 and 7.33 $\mu\text{g/kg/day}$ in proximal tibiae.

Example 4: Nitric Oxide Formation by Cultured Endothelial Cells

NO-formation is assessed by determination of intracellular cyclic GMP in cultured endothelial cells, whereas release of NO from these cells is measured by the stimulatory effect of NO on the activity of soluble guanytyl cyclase (Lückhoff, et al, Br J Pharmacol, 95:189, 1988; Wiemer, et al, Hypertension, 18:558, 1991; Linz, et al, J Mol Cell Cardiol, 24:909, 1992).

Bovine or porcine aorta is obtained and endothelial cells are isolated by digestion with dispase. The cells are seeded on 6- or 24-well plates and grown to confluence. Dulbecco's modified Eagle's/Ham's F-12 medium containing 20% fetal calf serum is supplemented with penicillin (10 U/ml), streptomycin (10 mg/ml), L-glutamate (1 mM), glutathione (5 mg/ml), and L(+)-ascorbic acid (5 mg/ml).

Primary cultures of endothelial cells are used. After removal of the culture medium by aspiration, the monolayer is washed twice with 2 ml HEPES-Tyrode's solution (37°C). Thereafter, the cells are preincubated for 15 min at 37°C with 3-isobutyl-1-methyl-xanthine (IBMX), (10^{-4} M). After this time, compounds or solvents are added. After predetermined periods, the incubation medium is quickly removed. The cells are then immediately extracted with 0.8 ml 6% trichloroacetic acid and scraped off with a rubber scraper. The cell suspension is sonicated for 10 sec before being centrifuged for 5 min at 4,000g. The supernatants are extracted with four volumes of water saturated diethylether, and the samples frozen (-20°C) until analysis. The protein contents of the samples are measured according to Lowry, et al (J Biol Chem, 193:285, 1951). Cyclic GMP can be determined in the acetylated samples by various methods (Heath et al, Which Cyclic GMP Assay?, In Moncada, S., et al., (eds) The Biology of Nitric

50175553 041200

Oxide: 2 Enzymology, Biochemistry and Immunology. Portland Press, London, pp 98, 1992), e.g., using a commercially available radio-immunoassay (New England Nuclear). Cyclic GMP content is expressed as picomoles GMP per milligram protein.

5

Release of NO from endothelial cells is assayed on the basis of the stimulatory effect of NO on the activity of soluble guanylyl cyclase (purified from bovine lung) (Gerzer, et al.; Eur J Biochem 116:479, 1981). The activity of the enzyme is determined in terms of the formation of cyclic [32 P]GMP from α - 32 P]GTP. Reactions are carried out in a reaction mixture containing 30 mM triethanolamine HCl (pH 7.4), 1 mM reduced glutathione, 4 mM $MgCl_2$, 1 mM cGMP and 0.1 mg/ml bovine g-globulin (total volume of 0.18 ml) at 37°C in the presence of α - 32 P]GTP (0.03 mM; 0.2 mCi) and soluble guanylyl cyclase (4 mg). Ten ml samples are quickly transferred to the reaction mixture. Enzymatic formation of cGMP is allowed to proceed for 60 sec and then stopped by the addition of 450 μ l zinc acetate (120 mM) and 500 μ l sodium carbonate (120 mM). A complete inhibition of cGMP formation can be achieved by preincubation of the monolayers for 30 min with the stereospecific inhibitor of NO synthase, N^G-nitro-L-arginine.

10

15

20

Time-response curves and dose-response curves are obtained after addition of the estrogen agonists / antagonists of the present invention. Data are reported as mean values $\pm$ SEM of cGMP (pmol / mg protein) or guanylyl cyclase activity (nmol / mg / min).

25

Example 5: Morbidity and Risk of Mortality in Stable Cardiovascular Disease.

Effects of estrogen agonists / antagonists for reducing cardiovascular morbidity and/or the risk of mortality is assessed in an at risk population utilizing electrocardiogram (ECG) measurements as a surrogate endpoint. The presence of myocardial ischemia, as evidenced by the ECG, is an independent, noninvasive predictor of adverse clinical outcomes in patients with stable coronary disease (CAD). The presence of ST-segment depression on the resting ECG predicts increased morbidity and mortality (Chaitman, B.R., et al., J Am Coll Cardiol

30

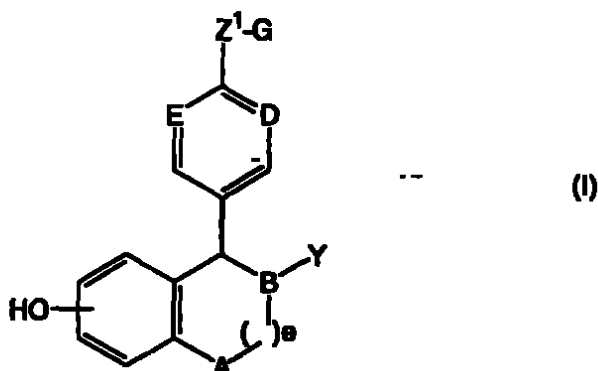
1995;26:585; Stone, P.H., et al., Am J Cardiol 1997;80:1395). The development of exercise-induced ST-segment depression is the standard noninvasive marker of poor prognosis and serves as the fundamental clinical guide to identify the need for coronary angiography and revascularization of patients with CAD.

- 5 Episodes of ST-segment depression during routine daily activities, identified by ambulatory ECG (Holter) monitoring, provides incremental prognostic information.
- In a double-blind randomized clinical study, at risk patients receive either an estrogen agonist / antagonist or a placebo. ECG is monitored continuously via Holter monitoring or through daily or regular ECG measurements. A significant
- 10 elimination or reduction of ST-segment depression in the patients receiving estrogen agonist / antagonist indicates a likely reduction of cardiovascular morbidity and/or the risk of mortality.

50175663-011200

Claims:

1. The use of an estrogen agonist / antagonist of the following formula (I):



wherein:

A is selected from CH_2 and NR ;

B, D and E are independently selected from CH and N;

Y is

- (a) phenyl, optionally substituted with 1-3 substituents independently selected from R^4 ;
- (b) naphthyl, optionally substituted with 1-3 substituents independently selected from R^4 ;
- (c) $\text{C}_2\text{-C}_8$ cycloalkyl, optionally substituted with 1-2 substituents independently selected from R^4 ;
- (d) $\text{C}_2\text{-C}_8$ cycloalkenyl, optionally substituted with 1-2 substituents independently selected from R^4 ;
- (e) a five membered heterocycle containing up to two heteroatoms selected from the group consisting of $-\text{O}-$, $-\text{NR}^2-$ and $-\text{S}(\text{O})_n-$, optionally substituted with 1-3 substituents independently selected from R^4 ;
- (f) a six membered heterocycle containing up to two heteroatoms selected from the group consisting of $-\text{O}-$, $-\text{NR}^2-$ and $-\text{S}(\text{O})_n-$ optionally substituted with 1-3 substituents independently selected from R^4 ; or
- (g) a bicyclic ring system consisting of a five or six membered heterocyclic ring fused to a phenyl ring, said heterocyclic ring containing up to two

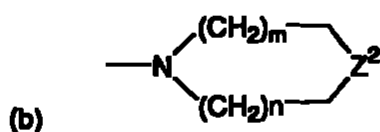
heteroatoms selected from the group consisting of -O-, -NR²- and -S(O)_n-, optionally substituted with 1-3 substituents independently selected from R⁴;

Z¹ is

- (a) -(CH₂)_p W(CH₂)_q-;
- (b) -O(CH₂)_p CR⁵R⁶-;
- (c) -O(CH₂)_p W(CH₂)_q;
- (d) -OCHR²CHR³-; or
- (e) -SCHR²CHR³-;

G is

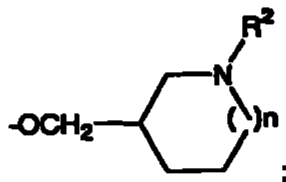
- (a) -NR⁷R⁸;



wherein n is 0, 1 or 2; m is 1, 2 or 3; Z² is -NH-, -O-, -S-, or -CH₂-;

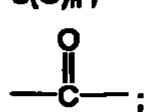
optionally fused on adjacent carbon atoms with one or two phenyl rings and, optionally independently substituted on carbon with one to three substituents and, optionally, independently on nitrogen with a chemically suitable substituent selected from R⁴; or

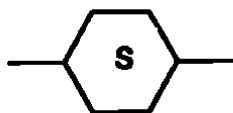
(c) a bicyclic amine containing five to twelve carbon atoms, either bridged or fused and optionally substituted with 1-3 substituents independently selected from R⁴; or



Z¹ and G in combination may be

W is

- (a) -CH₂-;
- (b) -CH=CH-;
- (c) -O-;
- (d) -NR²-;
- (e) -S(O)_n-;
- (f) ;

(g) $-\text{CR}^2(\text{OH})-$;(h) $-\text{CONR}^2-$;(i) $-\text{NR}^2\text{CO}-$;

(j) ; or

(k) $-\text{C}\equiv\text{C}-$;R is hydrogen or $\text{C}_1\text{-C}_8$ alkyl; R^2 and R^3 are independently

(a) hydrogen; or

(b) $\text{C}_1\text{-C}_4$ alkyl; R^4 is

(a) hydrogen;

(b) halogen;

(c) $\text{C}_1\text{-C}_8$ alkyl;(d) $\text{C}_1\text{-C}_4$ alkoxy;(e) $\text{C}_1\text{-C}_4$ acyloxy;(f) $\text{C}_1\text{-C}_4$ alkylthio;(g) $\text{C}_1\text{-C}_4$ alkylsulfinyl;(h) $\text{C}_1\text{-C}_4$ alkylsulfonyl;(i) hydroxy ($\text{C}_1\text{-C}_4$) alkyl;(j) aryl ($\text{C}_1\text{-C}_4$) alkyl;(k) $-\text{CO}_2\text{H}$;(l) $-\text{CN}$;(m) $-\text{CONHOR}$;(n) $-\text{SO}_2\text{NHR}$;(o) $-\text{NH}_2$;(p) $\text{C}_1\text{-C}_4$ alkylamino;(q) $\text{C}_1\text{-C}_4$ dialkylamino;(r) $-\text{NHSO}_2\text{R}$;(s) $-\text{NO}_2$;

(t) -aryl; or

(u) $-\text{OH}$;

R^7 and R^8 are independently

- R^2

a ring formed by R⁷ and R⁸ may be optionally fused to a phenyl ring;

mls 1, 2 or 3:

n is 0, 1 or 2;

p is 0, 1, 2 or 3;

q is 0, 1, 2 or 3;

or an optical or geometric isomer thereof; or a nontoxic pharmacologically

acceptable acid addition salt, N-oxide, ester, quaternary ammonium salt or prodrug thereof for the manufacture of a medicament for reduction of morbidity and/or the risk of mortality.

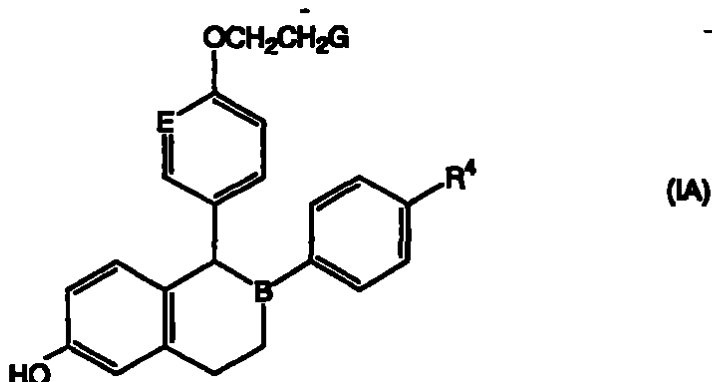
2. A use of an estrogen agonist / antagonist as claimed in claim 1 wherein the morbidity and mortality is cardiovascular morbidity and mortality.

3. A use of an estrogen agonist / antagonist as claimed in claim 1 wherein the reduction of morbidity and/or the risk of mortality is due to a combined effect of reduced cardiovascular disease, reduced breast cancer and reduced osteoporosis in post-menopausal women.

165

4. A use of an estrogen agonist / antagonist as claimed in claim 1 wherein the reduction in morbidity and/or the risk of mortality has a reduced concomitant liability of adverse effects associated with estrogen administration.

5. A use of an estrogen agonist / antagonist as claimed in claim 1 wherein said estrogen agonist / antagonist is a compound of formula (IA):



R^4 is H, OH, F, or Cl; and B and E are independently selected from CH and N or an optical or geometric isomer thereof; or a nontoxic pharmacologically acceptable acid addition salt, N-oxide, ester, quaternary ammonium salt or prodrug thereof.

6. A use of an estrogen agonist / antagonist as claimed in claim 1 wherein said estrogen agonist / antagonist is selected from the group consisting of:

cis-6-(4-fluoro-phenyl)-5-[4-(2-piperidin-1-yl-ethoxy)-phenyl]-5,6,7,8-tetrahydro-naphthalene-2-ol;

(-)-cis-6-phenyl-5-[4-(2-pyrrolidin-1-yl-ethoxy)-phenyl]-5,6,7,8-tetrahydro-naphthalene-2-ol;

50175663-011200

166

cis-6-phenyl-5-[4-(2-pyrrolidin-1-yl-ethoxy)-phenyl]-5,6,7,8-tetrahydro-naphthalene-2-ol;

cis-1-[6'-pyrrolidinoethoxy-3'-pyridyl]-2-phenyl-6-hydroxy-1,2,3,4-tetrahydronaphthalene;

1-(4'-pyrrolidinoethoxyphenyl)-2-(4'-fluorophenyl)-6-hydroxy-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline;

cis-6-(4-hydroxyphenyl)-5-[4-(2-piperidin-1-yl-ethoxy)-phenyl]-5,6,7,8-tetrahydro-naphthalene-2-ol;

1-(4'-pyrrolidinoethoxyphenyl)-2-phenyl-6-hydroxy-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline; and optical or geometric isomers thereof; and nontoxic pharmacologically acceptable acid addition salts, N-oxides, esters, quaternary ammonium salts and prodrugs thereof

7. A use of an estrogen agonist / antagonist as claimed in claim 6 wherein said estrogen agonist / antagonist is **cis-6-(4-fluoro-phenyl)-5-[4-(2-piperidin-1-yl-ethoxy)-phenyl]-5,6,7,8-tetrahydro-naphthalene-2-ol** or an optical or geometric isomer thereof; or a nontoxic pharmacologically acceptable acid addition salt, N-oxide, ester, quaternary ammonium salt, or a prodrug thereof.

8. A use of an estrogen agonist / antagonist as claimed in claim 6 wherein said estrogen agonist / antagonist is **(-)-cis-6-phenyl-5-[4-(2-pyrrolidin-1-yl-ethoxy)-phenyl]-5,6,7,8-tetrahydro-naphthalene-2-ol** or an optical or geometric isomer thereof; or a nontoxic pharmacologically acceptable acid addition salt, N-oxide, ester, quaternary ammonium salt, or a prodrug thereof.

9. A use of an estrogen agonist / antagonist as claimed in claim 6 wherein said estrogen agonist / antagonist is **cis-6-phenyl-5-[4-(2-pyrrolidin-1-yl-ethoxy)-phenyl]-5,6,7,8-tetrahydro-naphthalene-2-ol** or an optical or geometric isomer thereof; or a nontoxic pharmacologically acceptable acid addition salt, N-oxide, ester, quaternary ammonium salt, or a prodrug thereof.

10. A use of an estrogen agonist / antagonist as claimed in claim 6 wherein said estrogen agonist / antagonist is **cis-1-[6'-pyrrolidinoethoxy-3'-pyridyl]-2-phenyl-6-hydroxy-1,2,3,4-tetrahydronaphthalene** or an optical or geometric isomer thereof; or

SECRET

167

a nontoxic pharmacologically acceptable acid addition salt, N-oxide, ester, quaternary ammonium salt, or a prodrug thereof.

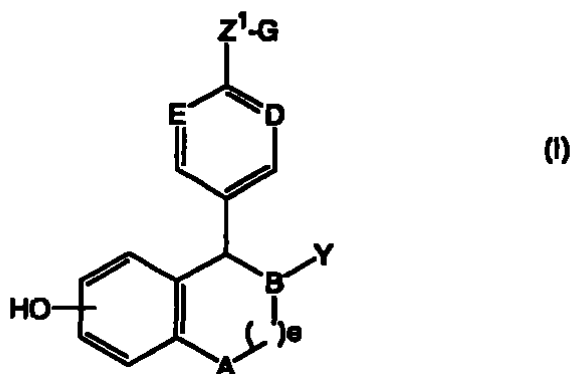
11. A use of an estrogen agonist / antagonist as claimed in claim 6 wherein said estrogen agonist / antagonist is 1-(4'-pyrrolidinoethoxyphenyl)-2-(4"-fluorophenyl)-6-hydroxy-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline or an optical or geometric isomer thereof; or a nontoxic pharmacologically acceptable acid addition salt, N-oxide, ester, quaternary ammonium salt, or a prodrug thereof.

12. A use of an estrogen agonist / antagonist as claimed in claim 6 wherein said estrogen agonist / antagonist is cis-6-(4-hydroxyphenyl)-5-[4-(2-piperidin-1-yl-ethoxy)-phenyl]-5,6,7,8-tetrahydro-naphthalene-2-ol or an optical or geometric isomer thereof; or a nontoxic pharmacologically acceptable acid addition salt, N-oxide, ester, quaternary ammonium salt, or a prodrug thereof.

13. A use of an estrogen agonist / antagonist as claimed in claim 6 wherein said estrogen agonist / antagonist is 1-(4'-pyrrolidinoethoxyphenyl)-2-phenyl-6-hydroxy-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline or an optical or geometric isomer thereof; or a nontoxic pharmacologically acceptable acid addition salt, N-oxide, ester, quaternary ammonium salt or a prodrug thereof.

14. A use of an estrogen agonist / antagonist as claimed in claim 8 wherein the estrogen agonist / antagonist is in the form of a D-tartrate salt.

15. A method of reducing morbidity and/or the risk of mortality comprising: administering to a subject in need thereof, an effective amount of a compound of formula (I):



168

wherein:

A is selected from CH_2 and NR;

B, D and E are independently selected from CH and N;

Y is

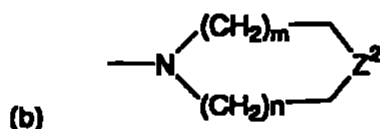
- (a) phenyl, optionally substituted with 1-3 substituents independently selected from R^4 ;
- (b) naphthyl, optionally substituted with 1-3 substituents independently selected from R^4 ;
- (c) $\text{C}_3\text{-C}_8$ cycloalkyl, optionally substituted with 1-2 substituents independently selected from R^4 ;
- (d) $\text{C}_3\text{-C}_8$ cycloalkenyl, optionally substituted with 1-2 substituents independently selected from R^4 ;
- (e) a five membered heterocycle containing up to two heteroatoms selected from the group consisting of -O-, -NR²- and -S(O)_m-, optionally substituted with 1-3 substituents independently selected from R^4 ;
- (f) a six membered heterocycle containing up to two heteroatoms selected from the group consisting of -O-, -NR²- and -S(O)_m-, optionally substituted with 1-3 substituents independently selected from R^4 ; or
- (g) a bicyclic ring system consisting of a five or six membered heterocyclic ring fused to a phenyl ring, said heterocyclic ring containing up to two heteroatoms selected from the group consisting of -O-, -NR²- and -S(O)_m-, optionally substituted with 1-3 substituents independently selected from R^4 ;

Z¹ is

- (a) $-(\text{CH}_2)_p \text{W}(\text{CH}_2)_q-$;
- (b) $-\text{O}(\text{CH}_2)_p \text{CR}^5\text{R}^6-$;
- (c) $-\text{O}(\text{CH}_2)_p \text{W}(\text{CH}_2)_q-$;
- (d) $-\text{OCHR}^2\text{CHR}^3-$; or
- (e) $-\text{SCHR}^2\text{CHR}^3-$;

G is

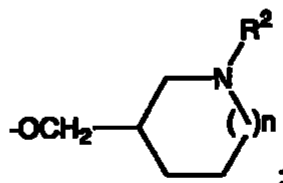
- (a) $-\text{NR}^7\text{R}^8$;



169
169

wherein n is 0, 1 or 2; m is 1, 2 or 3; Z² is -NH-, -O-, -S-, or -CH₂-; optionally fused on adjacent carbon atoms with one or two phenyl rings and, optionally independently substituted on carbon with one to three substituents and, optionally, independently on nitrogen with a chemically suitable substituent selected from R⁴; or

(c) a bicyclic amine containing five to twelve carbon atoms, either bridged or fused and optionally substituted with 1-3 substituents independently selected from R⁴; or



Z¹ and G in combination may be
W is

- (a) -CH₂-;
- (b) -CH=CH-;
- (c) -O-;
- (d) -NR²-;
- (e) -S(O)_n-;
- (f) ;
- (g) -CR²(OH)-;
- (h) -CONR²-;
- (i) -NR²CO-;

- (j) ; or
- (k) -C≡C-;

R is hydrogen or C₁-C₄ alkyl;

R² and R³ are independently

- (a) hydrogen; or
- (b) C₁-C₄ alkyl;

R⁴ is

- (a) hydrogen;

50175563 414200

170
170

- (b) halogen;
- (c) C₁-C₈ alkyl;
- (d) C₁-C₈ alkoxy;
- (e) C₁-C₈ acyloxy;
- (f) C₁-C₈ alkylthio;
- (g) C₁-C₈ alkylsulfinyl;
- (h) C₁-C₈ alkylsulfonyl;
- (i) hydroxy (C₁-C₈)alkyl;
- (j) aryl (C₁-C₈)alkyl;
- (k) -CO₂H;
- (l) -CN;
- (m) -CONHOR;
- (n) -SO₂NHR;
- (o) -NH₂;
- (p) C₁-C₈ alkylamino;
- (q) C₁-C₈ dialkylamino;
- (r) -NHSO₂R;
- (s) -NO₂;
- (t) -aryl; or
- (u) -OH;

R⁶ and R⁸ are independently C₁-C₈ alkyl or together form a C₃-C₁₀ carbocyclic ring;

R⁷ and R⁸ are independently

- (a) phenyl;
- (b) a C₃-C₁₀ carbocyclic ring, saturated or unsaturated;
- (c) a C₃-C₁₀ heterocyclic ring containing up to two heteroatoms,

selected from -O-, -N- and -S-;

- (d) H;
- (e) C₁-C₈ alkyl; or
- (f) form a 3 to 8 membered nitrogen containing ring with R⁶ or

R⁶;

R⁷ and R⁸ in either linear or ring form may optionally be substituted with up to three substituents independently selected from C₁-C₈ alkyl, halogen, alkoxy, hydroxy and carboxy;

50175663 111200

171

a ring formed by R^7 and R^8 may be optionally fused to a phenyl ring;

e is 0, 1 or 2;

m is 1, 2 or 3;

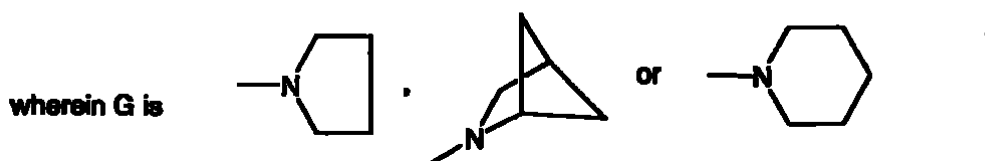
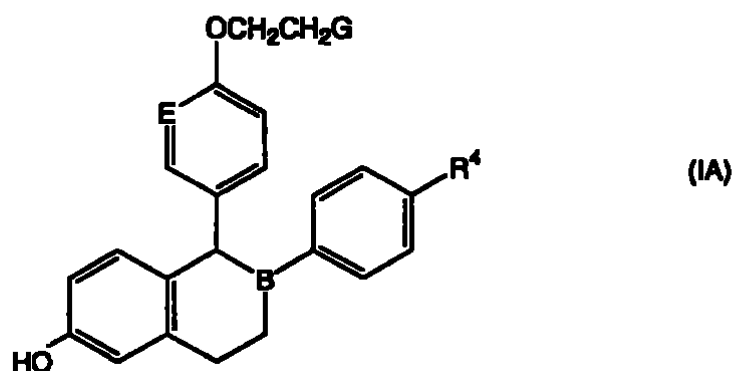
n is 0, 1 or 2;

p is 0, 1, 2 or 3;

q is 0, 1, 2 or 3;

or an optical or geometric isomer thereof; or a nontoxic pharmacologically acceptable acid addition salt, N-oxide, ester, quaternary ammonium salt, or a prodrug thereof.

16. A method as claimed in claim 15 wherein the estrogen agonist / antagonist is a compound of formula (IA):



R^4 is H, OH, F, or Cl; and B and E are independently selected from CH and N or an optical or geometric isomer thereof; or a nontoxic pharmacologically acceptable acid addition salt, N-oxide, ester, quaternary ammonium salt, or a prodrug thereof.

17. A method as claimed in claim 15 wherein the estrogen agonist / antagonist is a member of the group consisting of

50175663 11200

1-(4'-pyrrolidinoethoxyphenyl)-2-phenyl-6-hydroxy-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline and optical or geometric isomers thereof; and nontoxic pharmacologically acceptable acid addition salts, N-oxides, esters, quaternary ammonium salts, and prodrugs thereof.

18. A method as claimed in claim 17 wherein the compound is *cis*-8-(4-fluoro phenyl)-5-[4-(2-piperidin-1-yl-ethoxy)-phenyl]-5,6,7,8-tetrahydro-naphthalene-2-ol or an optical or geometric isomer thereof; or a nontoxic pharmacologically acceptable acid addition salt, N-oxide, ester, quaternary ammonium salt, or a prodrug thereof.

19. A method as claimed in claim 17 wherein the compound is (-)-*cis*-6-phenyl-5-[4-(2-pyrrolidin-1-yl-ethoxy)-phenyl]-5,6,7,8-tetrahydro-naphthalene-2-ol or an optical or geometric isomer thereof; or a nontoxic pharmacologically acceptable acid addition salt, N-oxide, ester, quaternary ammonium salt, or a prodrug thereof.

20. A method as claimed in claim 17 wherein the compound is *cis*-8-phenyl-5-[4-(2-pyrrolidin-1-yl-ethoxy)-phenyl]-5,6,7,8-tetrahydro-naphthalene-2-ol or an optical or geometric isomer thereof; or a nontoxic pharmacologically acceptable acid addition salt, N-oxide, ester, quaternary ammonium salt, or a prodrug thereof.

የጥንታዊ የግልጽ ጥንቅቅ

173
173

21. A method as claimed in claim 17 wherein the compound is *cis*-1-[6'-pyrrolidinoethoxy-3'-pyridyl]-2-phenyl-6-hydroxy-1,2,3,4-tetrahydronaphthalene or an optical or geometric isomer thereof; or a nontoxic pharmacologically acceptable acid addition salt, N-oxide, ester, quaternary ammonium salt, or a prodrug thereof.

22. A method as claimed in claim 17 wherein the compound is 1-(4'-pyrrolidinoethoxyphenyl)-2-(4'-fluorophenyl)-6-hydroxy-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline or an optical or geometric isomer thereof; or a nontoxic pharmacologically acceptable acid addition salt, N-oxide, ester, quaternary ammonium salt, or a prodrug thereof.

23. A method as claimed in claim 17 wherein the compound is *cis*-6-(4-hydroxyphenyl)-5-[4-(2-piperidin-1-yl-ethoxy)-phenyl]-5,6,7,8-tetrahydronaphthalene-2-ol or an optical or geometric isomer thereof; or a nontoxic pharmacologically acceptable acid addition salt, N-oxide, ester, quaternary ammonium salt, or a prodrug thereof.

24. A method as claimed in claim 17 wherein the compound is 1-(4'-pyrrolidinoethoxyphenyl)-2-phenyl-6-hydroxy-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline or an optical or geometric isomer thereof; or a nontoxic pharmacologically acceptable acid addition salt, N-oxide, ester, quaternary ammonium salt, or a prodrug thereof.

25. A method as claimed in claim 19 wherein the estrogen agonist / antagonist is in the form of a D-tartrate salt.

26. A method as claimed in claim 15 wherein the method is for the reduction of morbidity and/or the risk of cardiovascular mortality.

27. A method as claimed in claim 26 wherein the method substantially reduces the concomitant liability of adverse effects associated with estrogen administration.

28. A method as claimed in claim 15 wherein the method is for the reduction of morbidity and/or the risk of mortality in post-menopausal women through the

00175327

14
10
03

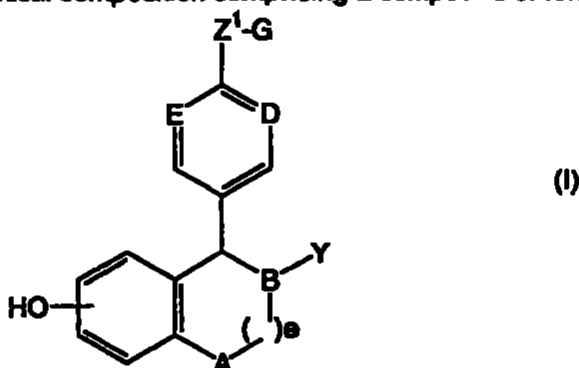
179
174

combined effects of reductions in cardiovascular disease, breast cancer and osteoporosis.

29. A method as claimed in claim 28 wherein the method substantially reduces the concomitant liability of adverse effects associated with estrogen administration.

30. A kit for use by a consumer to reduce cardiovascular morbidity and/or the risk of mortality in a subject and/or reduce morbidity and/or the risk of mortality in post-menopausal women due to the combined effects of reduced cardiovascular disease, reduced breast cancer and reduced osteoporosis, said kit comprising:

a) a pharmaceutical composition comprising a compound of formula (I):



wherein:

A is selected from CH_2 and NR ;

B, D and E are independently selected from CH and N ;

Y is

(a) phenyl, optionally substituted with 1-3 substituents independently selected from R^4 ;

(b) naphthyl, optionally substituted with 1-3 substituents independently selected from R^4 ;

(c) C_2-C_8 cycloalkyl, optionally substituted with 1-2 substituents independently selected from R^4 ;

(d) C_2-C_8 cycloalkenyl, optionally substituted with 1-2 substituents independently selected from R^4 ;

60175563 11200

178
175

(e) a five membered heterocycle containing up to two heteroatoms selected from the group consisting of -O-, -NR²- and -S(O)_n-, optionally substituted with 1-3 substituents independently selected from R⁴;

(f) a six membered heterocycle containing up to two heteroatoms selected from the group consisting of -O-, -NR²- and -S(O)_n-, optionally substituted with 1-3 substituents independently selected from R⁴; or

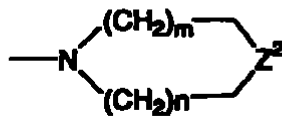
(g) a bicyclic ring system consisting of a five or six membered heterocyclic ring fused to a phenyl ring, said heterocyclic ring containing up to two heteroatoms selected from the group consisting of -O-, -NR²- and -S(O)_n-, optionally substituted with 1-3 substituents independently selected from R⁴;

Z¹ is

- (a) -(CH₂)_p W(CH₂)_q-;
- (b) -O(CH₂)_p CR⁵R⁶-;
- (c) -O(CH₂)_p W(CH₂)_q-;
- (d) -OCHR²CHR³-; or
- (e) -SCHR²CHR³-;

G is

- (a) -NR⁷R⁸;

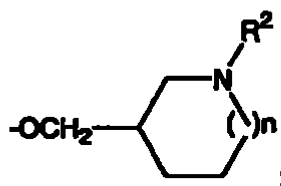


- (b)

wherein n is 0, 1 or 2; m is 1, 2 or 3; Z² is -NH-, -O-, -S-, or -CH₂-;

optionally fused on adjacent carbon atoms with one or two phenyl rings and, optionally independently substituted on carbon with one to three substituents and, optionally, independently on nitrogen with a chemically suitable substituent selected from R⁴; or

(c) a bicyclic amine containing five to twelve carbon atoms, either bridged or fused and optionally substituted with 1-3 substituents independently selected from R⁴; or



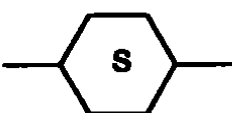
Z¹ and G in combination may be

W is

50175553 11200

176

- (a) $-\text{CH}_2-$;
- (b) $-\text{CH}=\text{CH}-$;
- (c) $-\text{O}-$;
- (d) $-\text{NR}^2-$;
- (e) $-\text{S}(\text{O})_n-$;
- (f) $-\overset{\text{O}}{\underset{\text{||}}{\text{C}}}-$;
- (g) $-\text{CR}^2(\text{OH})-$;
- (h) $-\text{CONR}^2-$;
- (i) $-\text{NR}^2\text{CO}-$;

- (j) ; or
- (k) $-\text{C}\equiv\text{C}-$;

R is hydrogen or C_1-C_8 alkyl;

R^2 and R^3 are independently

- (a) hydrogen; or
- (b) C_1-C_4 alkyl;

R^4 is

- (a) hydrogen;
- (b) halogen;
- (c) C_1-C_8 alkyl;
- (d) C_1-C_4 alkoxy;
- (e) C_1-C_4 acyloxy;
- (f) C_1-C_4 alkylthio;
- (g) C_1-C_4 alkylsulfinyl;
- (h) C_1-C_4 alkylsulfonyl;
- (i) hydroxy (C_1-C_4) alkyl;
- (j) aryl (C_1-C_4) alkyl;
- (k) $-\text{CO}_2\text{H}$;
- (l) $-\text{CN}$;
- (m) $-\text{CONHOR}$;
- (n) $-\text{SO}_2\text{NHR}$;
- (o) $-\text{NH}_2$;

COLEMAN

177
177

- (p) C₁-C₆ alkylamino;
- (q) C₁-C₆ dialkylamino;
- (r) -NHSO₂R;
- (s) -NO₂;
- (t) -aryl; or
- (u) -OH;

R⁵ and R⁶ are independently C₁-C₆ alkyl or together form a C₃-C₁₀ carbocyclic ring;

R⁷ and R⁸ are independently

- (a) phenyl;
- (b) a C₃-C₁₀ carbocyclic ring, saturated or unsaturated;
- (c) a C₃-C₁₀ heterocyclic ring containing up to two heteroatoms, selected from -O-, -N- and -S-;
- (d) H;
- (e) C₁-C₆ alkyl; or
- (f) form a 3 to 8 membered nitrogen containing ring with R⁵ or R⁶;

R⁷ and R⁸ in either linear or ring form may optionally be substituted with up to three substituents independently selected from C₁-C₆ alkyl, halogen, alkoxy, hydroxy and carboxy;

a ring formed by R⁷ and R⁸ may be optionally fused to a phenyl ring;

e is 0, 1 or 2;

m is 1, 2 or 3;

n is 0, 1 or 2;

p is 0, 1, 2 or 3;

q is 0, 1, 2 or 3;

or an optical or geometric isomer thereof; or a nontoxic pharmacologically acceptable acid addition salt, N-oxide, ester or quaternary ammonium salt, or a prodrug thereof and a pharmaceutically acceptable vehicle, carrier or diluent; and

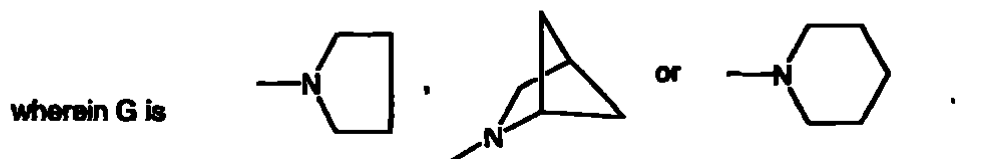
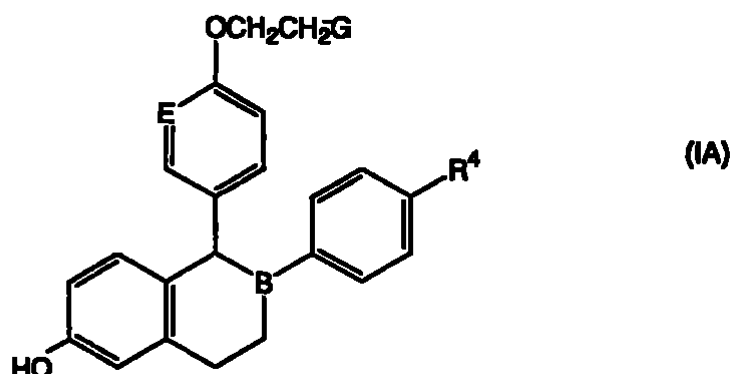
b) instructions describing a method of using the pharmaceutical composition to reduce the risk of morbidity and/or the risk of mortality.

CO17E332

14
14
TU
CC
CC

31. A kit as claimed in claim 30 wherein the instructions further indicate that the pharmaceutical composition substantially reduces the concomitant liability of adverse effects associated with estrogen administration.

32. A kit as claimed in claim 30 wherein the estrogen agonist / antagonist is a compound of formula (IA):



R^4 is H, OH, F, or Cl; and B and E are independently selected from CH and N or an optical or geometric isomer thereof; or a nontoxic pharmacologically acceptable acid addition salt, N-oxide, ester or quaternary ammonium salt, or a prodrug thereof.

33. A kit as claimed in claim 30 wherein the estrogen agonist / antagonist is a member of the group consisting of

cis-6-(4-fluoro-phenyl)-5-[4-(2-piperidin-1-yl-ethoxy)-phenyl]-5,6,7,8-tetrahydro-naphthalene-2-ol;

(-)-cis-6-phenyl-5-[4-(2-pyrrolidin-1-yl-ethoxy)-phenyl]-5,6,7,8-tetrahydro-naphthalene-2-ol;

- הנהלת המועצה**

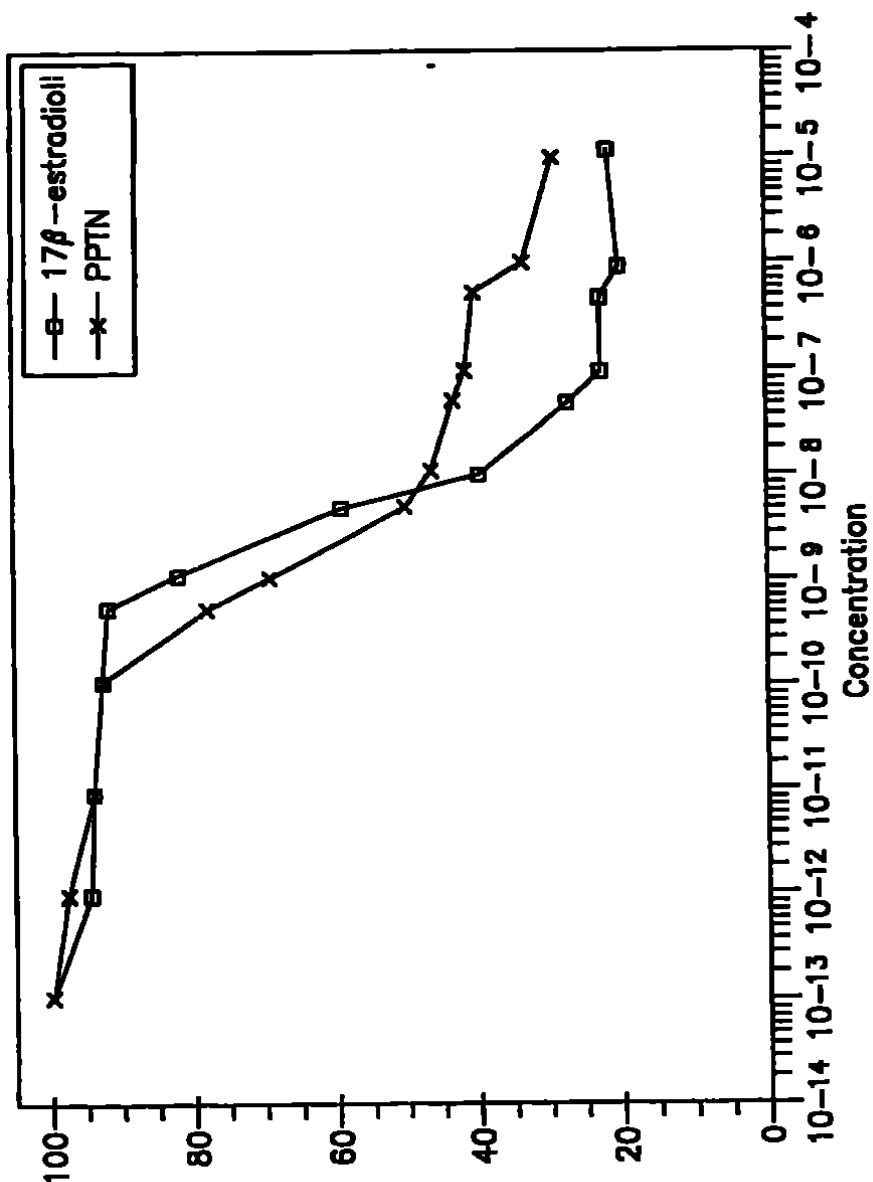
187
181

ABSTRACT

This invention relates to methods, pharmaceutical compositions and kits useful in reducing cardiovascular morbidity and the risk of mortality in men and post-menopausal women and morbidity and the risk of mortality in post-menopausal women from the combined reduction of breast cancer, osteoporosis and cardiovascular disease by the administration of estrogen agonists / antagonists. The compositions are comprised of an estrogen agonist / antagonist and a pharmaceutically acceptable vehicle, carrier or diluent. The compositions and methods of treatment are effective while substantially reducing the concomitant liability of adverse effects associated with estrogen administration.

30175533

11200



187
183
184PROCEDIMIENTO PARA REDUCIR LA MORBILIDADY EL RIESGO DE MORTALIDADCAMPO DE LA INVENCION

Esta invención se refiere a composiciones y a
5 procedimientos para reducir la morbilidad y/o el riesgo de
mortalidad. Las composiciones y procedimientos utilizan
compuestos agonistas/antagonistas de estrógenos. En sujetos
de ambos sexos, la morbilidad y el riesgo de mortalidad
cardiovascular se reducen mediante la administración de
10 agonistas/antagonistas de estrógenos de la invención. En
mujeres postmenopáusicas, la morbilidad y el riesgo de
mortalidad se reducen mediante un efecto combinado de
reducciones en la incidencia de la enfermedad cardiovascular,
el cáncer de mama y la osteoporosis.

15 ANTECEDENTES DE LA INVENCION

La incidencia de la enfermedad cardiovascular difiere
significativamente entre hombres y mujeres, en parte debido
a diferencias en factores de riesgo y de hormonas (Barrett-
Connor E. Circulation 1997, 95:252-64). La incidencia de
20 enfermedades ateroscleróticas en mujeres premenopáusicas es
baja, aumenta en mujeres postmenopáusicas y se reduce a
niveles premenopáusicos en mujeres postmenopáusicas que
reciben terapia de estrógenos (Stampfer, M.J., et al., N.
Engl. J. Med. 1991, 325:756-62; Grady D., et al., Ann.
25 Intern. Med. 1992, 117:1016-37). Hasta hace poco, los efectos

ateroprotectores de los estrógenos se atribúan principalmente a los efectos de la hormona sobre las concentraciones de lípidos séricos. Sin embargo, las alteraciones inducidas por estrógenos en los lípidos séricos
5 constituyen sólo aproximadamente un tercio de los beneficios clínicos observados de los estrógenos (Mendelsohn, M.E., Karas, R.H. Curr. Opin. Cardiol. 1994; 9:619-26; Bush T.L., et al., Circulation 1987; 75:1102-9). Ahora se cree también que las acciones directas de los estrógenos sobre los vasos
10 sanguíneos contribuyen sustancialmente a los efectos protectores cardiovasculares de los estrógenos (Farhat, M.Y., et al., FASEB J 1996; 10:615-24).

Las hormonas estrogénicas tienen un profundo efecto sobre el sistema vascular tanto de hombres como de mujeres,
15 aunque su administración está asociada a otros efectos que pueden ser indeseables. Los estrógenos aumentan la vasodilatación e inhiben la respuesta de los vasos sanguíneos a lesiones y al desarrollo de aterosclerosis. La vasodilatación inducida por estrógenos aparece de 5 a 20
20 minutos después de administrar estrógenos y no depende de cambios en la expresión de los genes; esta acción de los estrógenos se denomina a veces "no genómica". La inhibición de la respuesta a una lesión vascular inducida por estrógenos y el efecto preventivo de los estrógenos frente a la
25 aterosclerosis aparecen durante un período de horas o días

después del tratamiento con estrógenos y dependen de cambios en la expresión de los genes en los tejidos vasculares; estas acciones se denominan a veces "genómicas".

Existen dos receptores de estrógenos, el receptor de estrógenos α y el receptor de estrógenos β , siendo ambos miembros de la superfamilia de los receptores de hormonas esteroideas (Walter P., et al., Proc. Nad. Acad. Sci USA 1985; 82:7889-93, Kuiper G.G.J.M, et al., Proc. Nad. Acad. Sci USA 1996; 93:5925-30). Los receptores de estrógenos α y β tienen una considerable homología y, al igual que todos los receptores de hormonas esteroideas, son factores de transcripción que alteran la expresión génica cuando se activan. (Walter P., et al., Proc. Nad. Acad. Sci USA 1985; 82:7889-93; Kuiper G.G.J.M, et al., Proc. Nad. Acad. Sci USA 1996; 93:5925-30; Shibata, H., et al., Recent Prog. Horm. Res. 1997; 52:141-65; Evans, R.M., Science 1988, 240:889-95; Brown, M., Hematol. Oncol. Clin. North. Am. 1994; 8:101-12). Los vasos sanguíneos son estructuras complejas, con paredes que contienen células de músculo liso y un recubrimiento de células endoteliales. Las células endoteliales vasculares y de músculo liso unen estrógenos con alta afinidad (Mendelsohn, M.E., et al., Curr. Opin. Cardiol. 1994; 9:619-26; Farhat, M.Y., et al., FASEB J. 1996; 10:615-24) y el receptor de estrógenos α se ha identificado en ambos tipos de células vasculares en mujeres y hombres (Karas, R.H., et

al., Circulation 1994; 89:1943-50; Losordo, D.W., et al.,
Circulation 1994; 89:1501-10; Venkov, C.D., et al.,
Circulation 1996; 94:727-33; Kim-Schulze, S., et al.,
Circulation 1996; 94:1402-7; Caulin-Glaser T., et al., J.
5 Clin. Invest. 1996; 98:36-42) así como en células del
miocardio (Grohe C., et al., FEBS Lett. 1997; 416:107-12).

El receptor de estrógeno α activa genes diana
específicos en células de músculo liso y endoteliales
vasculares (Tabla 1) (Karas, R.H., et al., Circulation 1994;
10 89:1943-50; Venkov, C.D., et al., Circulation 1996; 94:727-
33; Kim-Schulze S., et al., Circulation 1996; 94:1402-7;
Caulin-Glaser, T., et al., J. Clin. Invest. 1996; 98:36-42;
Koike H., et al., J. Vasc. Surg. 1996; 23:477-82). El
receptor de estrógenos β es diferente estructural y
15 funcionalmente del receptor de estrógeno α . El receptor de
estrógenos β funcional también está presente en células del
miocardio, en las que regula la expresión de las óxido
nítrico sintasas.

En mujeres premenopáusicas, el 17- β -estradiol producido
20 por los ovarios es el principal estrógeno circulante. Las
concentraciones de estradiol sérico son bajas en niñas
preadolescentes y aumentan con la menarquía. En las mujeres,
varían de aproximadamente 100 pg por mililitro (367 pmol por
litro) en la fase folicular a aproximadamente 600 pg por
25 mililitro (2200 pmol por litro) en el momento de la

ovulación. Pueden aumentar hasta casi 20000 pg por mililitro (70000 pmol por litro) durante el embarazo. Después de la menopausia, las concentraciones de estradiol sérico descienden hasta valores similares o inferiores a los de 5 hombres de edad similar (5 a 20 pg por mililitro [18 a 74 pmol por litro] (Yen, S.S.C. and Jaffe, R.B., Eds. Reproductive Endocrinology: Physiology, Pathophysiology and Clinical Management, 3ª ed. Filadelfia: W.B. Saunders, 1991).

10 Los estrógenos alteran las concentraciones de lípidos séricos, los sistemas de coagulación y fibrinolítico, los sistemas antioxidantes y la producción de otras moléculas vasoactivas, tales como el óxido nítrico y las prostaglandinas, los cuales pueden influir todos ellos en el desarrollo de la enfermedad cardiovascular.

15 Los efectos de la terapia de estrógenos sobre las concentraciones de lípidos séricos pueden ser en gran medida el resultado de efectos en los que participa el receptor de estrógenos sobre la expresión hepática de genes de apoproteínas (Tabla 1). Muchos estudios, incluyendo un gran 20 ensayo al azar y controlado, (The Writing Group for the PEPI Trial, JAMA, 1995; 273:199-208. [Erratum, JAMA 1995; 274:1676]) han documentado que la terapia de estrógenos en mujeres postmenopáusicas reduce las concentraciones en suero de colesterol total y de colesterol asociado a lipoproteínas 25 de baja densidad (LDL), aumenta las concentraciones en suero

-6-

de colesterol asociado a lipoproteínas de alta densidad (HDL) y las concentraciones de triglicéridos, y reduce las concentraciones de lipoproteínas Lp(a) séricas. La expresión hepática de los genes para varias proteínas de coagulación y fibrinolíticas está también regulada por los estrógenos mediante receptores de estrógenos (Tabla 1).

Tabla 1. Genes de importancia potencial en la fisiología y enfermedad vascular regulados por estrógenos

10 (Fuente: Mendelsohn, M.E. and Karas, R.H., N. Engl. J. Med., 1999;340:1801-11)

	PRODUCTO GÉNICO	FUNCIÓN FISIOLÓGICA O PATOFISIOLÓGICA
	Genes regulados por el estrógeno candidato (células vasculares)	
5	Prostaciclina sintasa	Vasodilatación
	Óxido nítrico sintasa endotelial	Vasodilatación
	Óxido nítrico sintasa inducible	Vasodil. como respuesta a lesión vascular
	Endotelina-1	Vasoconstricción
	Colágeno	Formación de la matriz vascular
10	Metaloproteinasa de la matriz 2	Remodelación de la matriz vascular
	E-selectina	Adhesión celular
	Molécula de adhesión a las células vasculares	Adhesión celular
	Factor de crecimiento del endotelio vascular	Angiogénesis y proliferación de células endoteliales
15	Genes regulados por el estrógeno candidato (células no vasculares)	
	Genes relac. con el desarrollo y el crecimiento	
	Factor de crecimiento $\beta 1$ transformado	Cienciación de heridas
	Receptor del factor de crecimiento epidérmico	Crecimiento celular como respuesta a lesión vascular
20	Factor de crecimiento derivado de las plaquetas	Crecimiento celular como respuesta a lesión vascular
	Tiroxina quinasa FLT-4	Angiogénesis y proliferación de células endoteliales
	Genes relac. con la coagulación y la fibrinólisis	
	Factor tisular	Hemostasis como respuesta a trombosis
	Fibrinógeno	Hemostasis como respuesta a trombosis
25	Proteína S	Hemostasis como respuesta a trombosis
	Factor de coagulación VII	Hemostasis como respuesta a trombosis
	Factor de coagulación XII	Hemostasis como respuesta a trombosis
	Inhibidor del activador de plasminógeno 1	Hemostasis como respuesta a trombosis
	Activador del plasminógeno tisular	Fibrinólisis
30	Antitrombina III	Anticoagulación
	Genes relac. con la señalización y otros genes	
	Receptor de estrógenos α	Regulación hormonal y expresión génica
	Receptor de estrógenos β	Regulación hormonal y expresión génica
	Proteína quimiocítica de monocitos 1	Agrup. de monocitos y aterosclerosis
35	I y HK2 (canales del potasio cardíaco)	Conducción cardíaca
	Couexina 43	Conducción cardíaca
	Leptina	Metabolismo de las grasas y obesidad
	Apolipoproteínas A, B, D y E y Lp(a)	Metab. de los lípidos y aterosclerosis
	Enzima convertora de la angiotensina	Vasoconstricción
40	Receptor de la angiotensina II, tipo 1	Vasoconstricción

Los estrógenos dirigen directamente el tono vasomotor a través de efectos a corto y a largo plazo sobre la vasculatura. La administración a largo plazo de estrógenos está asociada a concentraciones reducidas de renina en plasma (Schunkert, H., et al., Circulation 1997;95:39-45), enzima conversora de la angiotensina (Proudler, A., et al., Lancet 1995;346:89-90) y endotelina-1 (Ylikorkala, O., et al., J. Clin Endocrinol Metab 1995;80:3384-7) y a una menor expresión vascular de genes por el receptor de la angiotensina II del tipo 1 (Nickenig, G., et al., Circulation 1998;97:2197-201), así como una mayor relación de óxido nítrico a endotelina-1 en plasma (Best, P.J.M. et al., Ann Intern Med 1998;128:285-8). El efecto neto de estos cambios es promover la vasodilatación.

Los estrógenos pueden provocar vasodilatación a corto plazo mediante las vías dependientes del endotelio e independientes del endotelio. Estos efectos rápidos no parecen implicar cambios en la expresión génica. Se han explorado con cierta profundidad dos mecanismos para los efectos vasodilatadores rápidos de los estrógenos: efectos sobre la función de los canales de iones y efectos sobre el óxido nítrico.

A concentraciones fisiológicas, los estrógenos estimulan la apertura de los canales de potasio activados por el calcio a través de la vía dependiente del óxido nítrico y del

monofosfato de adenosina cíclico (White, R.E. et al., Circ Res 1995;77:936-42; Wellman, G.C., et al., Circ Res 1996;79:1024-30), relajando así el músculo liso y promoviendo la vasodilatación. Estos efectos rápidos de los estrógenos
5 sobre las células vasculares podrían estar mediados por un conocido receptor de estrógenos, quizás localizado en la membrana plasmática (Pappas, T.C., et al., FASEB J 1995;9:404-10) que puede activar la óxido nítrico sintasa rápidamente de una forma no genómica. Esta sugerencia es
10 coherente con las observaciones de que la estimulación inducida por estrógenos de la actividad de la óxido nítrico sintasa en las células endoteliales se ve bloqueada por antagonistas específicos del receptor de estrógenos (Chen, Z., et al., J Clin Invest 1999;103:401-6; Lantin-Hermoso, R.L., Am J Physiol 1997;273:L119-L126; Caulin-Glaser, T., et al., Circ Res 1997;81:885-92) y que el receptor de estrógenos α puede activar directamente la óxido nítrico sintasa endotelial.

Los estrógenos causan rápidamente la vasodilatación
20 coronaria ex vivo (Mendelsohn, M.E., et al., Curr Opin Cardiol 1994;9:619-26; Farhat, M.Y., et al., FASEB J 1996;10:615-24) e in vivo en primates ovariectomizadas alimentadas con colesterol (Williams, J.K., et al., J Am Coll Cardiol 1992;20:452-7) y en otros animales (Guetta, V., et al., Circulation 1997;96:2795-801). Los estrógenos dilatan
25

las arterias coronarias y braquial en mujeres postmenopáusicas (Reis, S.E., et al., Circulation 1994;89:52-60; Gilligan, D.M., et al., Circulation 1994;89:2545-51; Gilligan, D.M., et al., Circulation 1994;90:786-91; 5 Lieberman, E.H., et al., Ann Intern Med 1994;121:936-41; Collins, P., et al., Circulation 1995;92:24-30; Guetta, V., et al., Circulation 1997;96:2795-801) y en algunos estudios, en hombres (Collins, P., et al., Circulation 1995;92:24-30; Blumenthal, R.S., et al., Am J Cardiol 1997;80:1021-4; Reis, 10 S.E., et al., Circulation 1998;97:23-5). La administración sublingual de 17β -estradiol en mujeres postmenopáusicas aumenta la duración del ejercicio en la cinta sin fin antes del comienzo de la isquemia (Rosano, G.M.C., et al., Lancet 1993;342:133-6).

15 Los estrógenos aumentan la expresión de los genes de importantes enzimas vasodilatadoras como la prostaciclina sintasa y la óxido nítrico sintasa (Tabla 1) (Weiner, C.P., et al., Proc Natl Acad Sci USA 1994;91:5212-6; Binko, J. et al., Am J Physiol 1998;274:H853-H859). Algunos de los rápidos 20 efectos de los estrógenos pueden deberse por tanto a aumentos a largo plazo de la expresión de los genes de estas enzimas en los tejidos vasculares. Los estrógenos pueden aumentar también la biodisponibilidad de óxido nítrico en los vasos aumentando la expresión de los genes de la forma inducible 25 de la óxido nítrico sintasa (Binko, J. et al., Am J Physiol

720
193

1998;274:H853-H859). La administración a largo plazo de los
estrógenos aumenta la vasodilatación coronaria mediada por
acetilcolina en primates no humanos (Williams, J.K. et al.,
Circulation 1990;81:1680-7; Williams, J.K. et al.,
5 Circulation 1997;96:1970-5), transexuales macho a hembra
(McCrohon, J.A. et al., J Am Coll Cardiol 1997;29:1432-6; New
G., et al., J Am Coll Cardiol 1997;29:1437-44), mujeres
postmenopáusicas (Herrington, D.M. et al., Am J Cardiol
1994;73:951-2) y mujeres postmenopáusicas con angina y
10 arterias coronarias normales (Roque, M., et al., J Am Coll
Cardiol 1998;31:139-43).

Los estrógenos aceleran el crecimiento de células
endoteliales in vitro e in vivo (Morales, D.E., et al.,
Circulation 1995;91:755-63; Kransinski, K., et al.,
15 Circulation 1997;95:1768-72). La rápida reendotelización
inducida por los estrógenos después de una lesión vascular
puede deberse en parte a la mayor expresión local del factor
de crecimiento del endotelio vascular. Los estrógenos también
inhiben la apoptosis de células endoteliales humanas
20 cultivadas de una forma que depende del receptor de
estrógenos (Spyrodopoulos, I., et al., Circulation
1997;95:1505-14). Una restauración prematura de la integridad
endotelial por los estrógenos puede contribuir a la
atenuación de la respuesta a la lesión aumentando la
25 disponibilidad de óxido nítrico, lo cual puede inhibir

directamente la proliferación de células del músculo liso (Cornwell, T.L. et al., Am J Physiol 1994;267:C1405-C1413). Los estrógenos inhiben directamente la migración y proliferación de células del músculo liso in vivo (Kolodgic, F.D., et al., Am J Pathol 1996;148:969-76; Bhalla, R.C., et al., Am J Physiol 1997;272:H1996-H2003).

De este modo, los estrógenos poseen efectos a largo y a corto plazo sobre la pared de los vasos sanguíneos. Se cree que los estrógenos influyen en la biodisponibilidad de óxido nítrico derivado del endotelio y, a través de aumentos mediados por el óxido nítrico en el monofosfato de guanosina cíclico, y que provocan la relajación de las células del músculo liso vascular. Los efectos a largo plazo de los estrógenos se deben, al menos en parte, a cambios en los genes de las células vasculares y a la expresión de proteínas que es mediada por el receptor de estrógenos α , β o ambos. Las proteínas reguladas por estrógenos influyen en la función vascular de una forma autocrina o paracrina.

Los efectos directos de los estrógenos sobre la vasculatura promueven la vasodilatación e inhiben el desarrollo y la progresión de la aterosclerosis. Sin embargo, algunos de los efectos no vasculares de los estrógenos pueden compensar sus efectos vasculares.

El cáncer de mama es una enfermedad dependiente de hormonas. Las mujeres sin ovarios en funcionamiento que no

reciben nunca reposición de estrógenos, no desarrollan cáncer de mama. La relación mujer a hombre para la enfermedad es de aproximadamente 150 a 1. Una multitud de hallazgos indican que las hormonas desempeñan una función crítica como

5 estimulantes de la enfermedad. Para la mayoría de los procesos malignos epiteliales, una representación gráfica log-log de la incidencia frente a la edad muestra un aumento en línea recta a cada año de vida. Una representación gráfica similar para el cáncer de mama muestra el mismo aumento en

10 línea recta, pero con una reducción en la pendiente que empieza a la edad de la menopausia. Las tres fechas en la vida de una mujer que tienen un mayor impacto sobre la incidencia del cáncer de mama son la edad de la menarquía, la edad del primer embarazo llevado a término y la edad de

15 la menopausia. Las mujeres que experimentan la menarquía a los 16 años tienen sólo un 50 a un 60% del riesgo de cáncer de mama a lo largo de su vida con respecto a las mujeres que experimentaron la menarquía a los 12 años. De manera similar, la menopausia que aparece 10 años antes de la edad media (52

20 años), natural o inducida quirúrgicamente, reduce el riesgo de cáncer de mama a lo largo de su vida aproximadamente en un 35%. Comparado con mujeres nulíparas, las mujeres que han tenido un primer embarazo llevado a término a la edad de 18 años tienen un 30 a un 40 por ciento más de riesgo de cáncer

25 de mama. Así, la duración de la vida menstrual,

-14-

particularmente la fracción que aparece antes del primer embarazo llevado a término, es un componente sustancial del riesgo total de cáncer de mama. Este factor puede llegar a suponer del 70 al 80% de la variación en la frecuencia de
5 cáncer de mama en diferentes países.

La variación internacional ha proporcionado algunos de los indicios más importantes sobre carcinogénesis hormonal. Una mujer que viva 80 años en América del Norte tiene 1 posibilidad entre 9 de desarrollar cáncer de mama invasivo.
10 Las mujeres asiáticas tienen de una quinta a una décima parte del riesgo de cáncer de mama que las mujeres en América del Norte o Europa Occidental. Las mujeres asiáticas tienen concentraciones sustancialmente menores de estrógenos y progesterona. Estas diferencias no pueden explicarse con una
15 base genética, porque las mujeres asiáticas que viven en un entorno occidental tienen un riesgo idéntico al de sus equivalentes occidentales. Estas mujeres difieren notablemente también en altura y peso de las mujeres asiáticas en Asia; la altura y el peso son reguladores
20 críticos de la edad de la menarquía y tienen efectos sustanciales en las concentraciones plasmáticas de estrógenos. (Lippman, M.E., *Breast Cancer*, capítulo 91, en Harrison's Principles of Internal Medicine, 14ª ed., 1998).

La menopausia aparece de modo natural a una edad media
25 de 50 a 51 años en los Estados Unidos. A medida que envejecen

-15-

los ovarios, se reduce la respuesta a las gonadotropinas hipofisiarias (hormona estimulante de folículo [FSH] y hormona luteinizante [LH]), dando como resultado inicialmente fases foliculares más cortas (y así ciclos menstruales más cortos), menos ovulaciones, una producción reducida de progesterona y más irregularidad en los ciclos. Finalmente, el folículo deja de responder y no produce estrógenos. La fase de transición, durante la cual una mujer abandona la etapa reproductora, empieza antes de la menopausia. Se denomina climaterio o perimenopausia, aunque muchas personas se refieren a ella como menopausia.

La menopausia prematura se refiere a fallos del ovario de causa desconocida que aparecen antes de los 40 años. Puede estar asociado al tabaquismo, a vivir en altitud o a un mal estado nutricional. La menopausia artificial puede ser el resultado de ooforectomía, quimioterapia, radiación de la pelvis o cualquier procedimiento que limite el suministro sanguíneo a los ovarios.

Los síntomas de la fase climatérica varían desde la ausencia a síntomas graves. Los episodios de sofocos y la sudoración asociada a inestabilidad vasomotora afectan al 75% de las mujeres. La mayoría de las mujeres presentan sofocos durante más de un año, y entre un 25 y un 50% durante más de cinco años. La mujer siente sofocos o calor y puede sudar, algunas veces de forma intensa. La piel, especialmente la de

199
198

-16-

la cabeza y del cuello, comienza a enrojecer y a calentarse. El sofoco, que puede durar de 30 segundos a 5 minutos puede ir seguido de escalofríos. Los síntomas de sofocos en el sistema vasomotor coinciden con el inicio de los impulsos de LH, pero no se asocia cada incremento de los impulsos de LH con un sofoco, lo que sugiere que el control hipotalámico de los impulsos de LH es independiente de los citados sofocos. La independencia se confirma por la existencia de sofocos en mujeres que han sufrido una lesión de la hipófisis y no segregan LH y/o FSH.

Pueden tener lugar síntomas psicológicos y emocionales-- incluyendo fatiga, irritabilidad, insomnio, incapacidad para concentrarse, depresión, pérdida de memoria, dolor de cabeza, ansiedad, nerviosismo y timidez. La alteración del sueño por sofocos de calor recurrentes contribuye a la fatiga y a la irritabilidad. También puede tener lugar aturdimiento, parestesias, palpitaciones y taquicardia. También son comunes las náuseas, estreñimiento, diarrea, artralgia, mialgia, manos y pies fríos y aumento de peso.

La reducción importante de estrógenos origina profundos cambios en el tracto genital inferior; por ejemplo, la mucosa vaginal y la piel de la vulva se hacen más delgadas, cambia la flora bacteriana normal y los labios menores, clítoris, útero y ovarios disminuyen de tamaño. La inflamación de la mucosa vaginal (vaginitis atrófica) puede originar que la

-17-

mucosa presente una apariencia de piel de fresa y pueda desembocar en frecuencia y necesidad de orinar, sequedad vaginal y dispareunia. La mujer tiende a perder el tono del músculo de la pelvis y a desarrollar incontinencia urinaria, 5 cistitis y vaginitis.

La incidencia de enfermedad de las arterias coronarias clínica (CAD) en mujeres premenopáusicas es muy baja. Sin embargo, después de la menopausia, los factores de riesgo aterogénicos aumentan (por ejemplo, mayores niveles de LDL 10 y menores de HDL) y la tasa de episodios coronarios clínicos se acelera hasta los niveles observados en hombres. La diabetes mellitus, que es más común en mujeres, aumenta enormemente la aparición de CAD clínica y amplifica los efectos perjudiciales de la hipertensión, hiperlipidemia y 15 del tabaquismo. El uso postmenopáusico de la terapia de sustitución hormonal (estrógenos con o sin una progestina) reduce los episodios coronarios adversos pero no se debe administrar a pacientes con un riesgo mayor del normal de cáncer de mama.

20 Durante los trastornos obstétricos y ginecológicos, las mujeres experimentan o describen una mayor morbilidad que los hombres. Los estudios han encontrado que las mujeres experimentan un 25 por ciento más en cuanto a los índices de actividad limitada y un 40 por ciento más en cuanto a los 25 índices de incapacidad en cama, ajustado en todas las edades.

Por ejemplo, un 22,2 por ciento de mujeres de edad superior a los 85 años requiere asistencia en las actividades de la vida diaria, comparado con un 14,5 por ciento de los hombres en este grupo de edad. Las mujeres también realizan más
5 visitas al médico, en particular para enfermedades agudas autolimitantes. No está claro si existen diferencias reales en el mayor porcentaje de morbilidad o diferencias en la conducta en cuanto a buscar cuidados después de percibir los síntomas.

10 En los países desarrollados, las mujeres viven más que los hombres. En 1995, en los Estados Unidos, la esperanza de vida media prevista desde el nacimiento es de 79,7 años para mujeres y de 72,8 para hombres. Aunque se conciben más
15 varones que mujeres, las mujeres tienen una ventaja de supervivencia sobre los hombres en todos los grupos de edad. La mayor esperanza de vida de las mujeres en los países desarrollados, comparada con la de los hombres, se debe en gran parte a la diferencia mortalidad causada por la enfermedad cardíaca isquémica (IHD).

20 Como se muestra en la Tabla 2, las principales causas de muerte entre mujeres jóvenes en los Estados Unidos son los accidentes, el homicidio y el suicidio. Durante los años de la madurez, el cáncer de mama es una causa de muerte ligeramente más común que la IHD y el cáncer de pulmón. En
25 mujeres entre los 65 y los 74 años, la IHD, el cáncer de

pulmón y la enfermedad cerebrovascular superan al cáncer de mama como principales causas de muerte. Entre las mujeres de todas las edades, la IHD es la principal causa de muerte, con un margen sustancial, con una tasa de mortalidad de cinco a seis veces la tasa de mortalidad debida al cáncer de pulmón o al cáncer de mama.

Tabla 2: Tasas de muerte (por 100.000) para las causas principales de muerte en los Estados Unidos, Mujeres 1990

	Edad 24-34	Edad 45-54	Edad 65-74	Todas las edades
10	Total 74,2	Total: 342,7	Total: 1991,2	Total 812,0
	1. Accidente de coche (11,5)	1. Cáncer de mama (45,4)	1. Enfermedad cardíaca isquémica (415,2)	1. Enfermedad cardíaca isquémica (185,6)
	2. Homicidio (7,2)	2. Enfermedad cardíaca isquémica (33,6)	2. Cáncer de pulmón* (181,7)	2. Enfermedad cerebrovascular (68,6)
	3. Suicidio (5,6)	3. Cáncer de pulmón* (35,3)	3. Enfermedad cerebrovascular (126,9)	3. Cáncer de pulmón* (40,4)
15	4. Otros accidentes diferentes a los de coche (4,6)	4. Enfermedad cerebrovascular (17,0)	4. Cáncer de mama (111,7)	4. Cáncer de mama (34,0)
FUENTE: Adaptado del Centro Nacional para las Estadísticas Sanitarias Vitales de los Estados Unidos, 1990, vol II: Mortalidad, Parte A. Washington, Servicio Público de Salud, 1994. DHHS Publication n° (PHS) 95-1101, páginas 40-52. *Cáncer de órganos respiratorios e intratorácicos, fundamentalmente cáncer de pulmón				

20 Ciertas diferencias biológicas también contribuyen a la mayor longevidad de las mujeres. Las más obvia es la exposición a los estrógenos que la mayoría de las mujeres experimenta durante aproximadamente 40 años de sus vidas, que

puede proporcionar cierta protección respecto a la IHD.

La prevención primaria y la selección son elementos importantísimos a la hora de mejorar la salud de las mujeres. Aunque existen unos pocos ensayos clínicos definitivos de intervenciones preventivas en mujeres, un número creciente de estudios que observan grupos caso por caso y prospectivos (tales como el Nurses' Health Study) han evaluado la prevención de enfermedades en mujeres. En base a la bibliografía y a la experiencia disponibles, diversas organizaciones autorizadas (por ejemplo la U.S. Preventive Services Task Force, Canadian Task Force, American College of Physicians, American Heart Association, American Cancer Society) han publicado normas sobre prácticas preventivas en mujeres (Blumenthal, S.J. et al., Towards a Women's Health Research Agenda. Findings of the Scientific Advisory Meeting. Washington, DC, Bass and Howes, 1991; Colditz, G.A. JAMA 275:40, 1995; Gijsbers van Wijk, C.M.T., et al., Women Health 17:91, 1991; Verbrugge, L.M. and Wingard, D.L. Women Health 12:103, 1987).

La terapia de estrógenos postmenopáusica está asociada con una reducción del 40 al 50 por ciento de las muertes debidas a IHD, un hallazgo apoyado por varios estudios de control. La terapia sustitutiva de calcio y estrógenos ha demostrado ralentizar el desarrollo de la osteoporosis y reducir la frecuencia de fracturas de cadera y vertebrales

en mujeres postmenopáusicas (Rich-Edwards, J.W., et al., N Eng J Med 332:1758, 1995).

Muchas personas creen que la IHD es fundamentalmente un problema de los hombres, quizás porque los hombres tienen más del doble de incidencia total de morbilidad y de mortalidad cardiovascular que las mujeres entre las edades de 35 a 84 años. Sin embargo, como se ha expuesto antes, en los Estados Unidos, al igual que entre los hombres, la IHD es la causa principal de muerte entre las mujeres (Tabla 1), aunque la curva de la tasa de mortalidad de la IHD queda detrás de la de los hombres aproximadamente en una década. Casi 250.000 mujeres mueren al año de IHD; después de los 40, una de cada tres mujeres morirá de enfermedad cardíaca. Aunque la mortalidad por IHD ha descendido en los Estados Unidos durante los últimos treinta años, el índice de reducción ha sido menor en mujeres que en hombres.

Las mujeres tienen un perfil de riesgo más favorable de la IHD en algunos aspectos: mayores niveles de colesterol HDL, menores niveles de triglicéridos, y menor obesidad en la parte del tronco que los hombres. Pero las mujeres también tienen un perfil de riesgo menos favorable en otros aspectos: más obesidad, mayor tensión arterial, mayores niveles de colesterol plasmático, mayores niveles de fibrinógeno y más diabetes. Una explicación para la diferencia por sexos de la IHD es un efecto cardioprotector de los estrógenos, debido

a la mejora en el perfil de lípidos, un efecto vasodilatador directo y quizás otros factores. Los niveles de colesterol HDL parecen ser un factor de riesgo particularmente importante de la IHD en mujeres. Los niveles de HDL son
5 mayores en todos los grupos de edad en mujeres que en hombres y son mayores en mujeres premenopáusicas y postmenopáusicas tratadas con estrógenos que en mujeres postmenopáusicas no tratadas con estrógenos.

La IHD se presenta de forma diferente en mujeres que en
10 hombres. En el estudio de Framingham, la angina fue el síntoma inicial de la IHD más frecuente en mujeres, apareciendo en el 47 por ciento de las mujeres. El infarto de miocardio fue el síntoma inicial más frecuente en hombres, apareciendo en el 46 por ciento de los casos. El
15 electrocardiograma de esfuerzo parece tener una menor especificidad para la IHD en mujeres que en hombres.

La hipertensión es más común en las mujeres que en los hombres en los Estados Unidos, en gran parte debido a la elevada prevalencia de hipertensión en los grupos de mayor
20 edad y a la mayor supervivencia de las mujeres. La hipertensión renovascular debida a la displasia fibromuscular se presenta más frecuentemente en mujeres. Otras causas de hipertensión secundaria aparecen con igual frecuencia en mujeres y en hombres. Tanto la eficacia como los efectos
25 adversos de los diversos fármacos antihipertensivos parecen

ser comparables en mujeres y en hombres. Los beneficios del tratamiento de la hipertensión severa han sido asombrosos en mujeres y en hombres. Sin embargo, en ensayos clínicos del tratamiento de la hipertensión leve a moderada, las mujeres han tenido una disminución menor de la morbilidad y de la mortalidad que los hombres, quizás porque las mujeres tienen para empezar un menor riesgo de infarto de miocardio y de apoplejía que los hombres. Las mujeres mayores se benefician al menos igual que los hombres del tratamiento como se ha demostrado por el estudio Systolic Hypertension in the Elderly. Cuando se introdujeron por primera vez los anticonceptivos orales, muchas mujeres tuvieron un pequeño aumento de la tensión arterial, mostrando un 5 por ciento un aumento por encima de 140/90 durante un período de cinco años. La incidencia de la hipertensión parece ser menor con los anticonceptivos orales de baja dosis actuales. La terapia de estrógenos postmenopáusica no está asociada a aumentos en la tensión arterial (Kaplan, N.M., Arch Intern Med 185:563, 1995).

La secreción de estrógenos también parece desempeñar una importante función en el control de la densidad ósea. Aunque está claro que el riesgo de osteoporosis en mujeres postmenopáusicas es mucho mayor que en hombres de la misma edad, y aunque la sustitución de estrógenos postmenopáusica se asocia a una menor incidencia de la osteoporosis, los

mecanismos mediante los cuales los estrógenos ejercen sus efectos positivos no se han descrito totalmente.

El estudio de Framingham, un estudio observacional de hombres y mujeres en vigor desde 1947 ha seguido analizando
5 datos específicos para mujeres. Desde 1976, el Nurses' Health Study ha sido seguido por más de 120.000 mujeres, recogiendo datos de forma prospectiva sobre su hábito de fumar, dieta, actividad física, medicaciones, conductas de prevención y de selección y algunos factores psicosociales. Este estudio ya
10 ha revelado información acerca de cómo contribuyen estos factores al riesgo relativo de desarrollar una serie de trastornos médicos, incluyendo cáncer de mama, enfermedad coronaria isquémica, apoplejía, diabetes y fractura, así como las causas de mortalidad (Murabito, J.M., JAMWA 50:35, 1995).

15 El ensayo de Intervención de estrógenos/progestinas postmenopáusicas (PEPI) fue el primer gran ensayo que estudia los efectos de la terapia sustitutiva de hormonas postmenopáusicas. Consistió en un estudio de 3 años, multicéntrico, al azar, doble ciego y controlado con placebo
20 de los efectos de tres pautas de estrógenos/progestina sobre los factores de riesgo para la enfermedad cardiovascular, la densidad mineral ósea y el tejido endometrial. Hasta ahora, el estudio ha demostrado que los estrógenos solos o combinados con progestina aumentan los niveles séricos de HDL
25 y disminuyen los niveles séricos de lipoproteínas de baja

208
207

-25-

densidad (LDL) y de fibrinógeno. Aunque los estrógenos sin
oposición (sin progestinas) tuvieron efectos más beneficiosos
sobre los lípidos, también se asoció esto a un mayor riesgo
de hiperplasia endometrial (The Writing Group for the PEPI
5 Trial, JAMA, 273:199, 1995).

Las composiciones y procedimientos de la presente
invención actúan curando, aliviando o previniendo afecciones
patológicas que contribuyen a la mortalidad cardiovascular
en hombres y mujeres postmenopáusicas y reducen la morbilidad
10 y el riesgo de mortalidad en mujeres postmenopáusicas debido
a la reducción combinada de la enfermedad cardiovascular, el
cáncer de mama y la osteoporosis. Estos efectos se consiguen
mediante las composiciones y procedimientos de la invención
con una reducción sustancial de la posibilidad concomitante
15 de efectos adversos asociados a la administración de
estrógenos. Sin vincularse con ninguna teoría, se cree que
la administración de las composiciones de la invención tiene
como resultado un efecto estrogénico sobre el sistema
cardiovascular y óseo, teniendo al mismo tiempo un efecto
20 sobre el pecho y sobre otros tejidos. El efecto global es
beneficioso porque está sustancialmente exento de efectos
adversos atribuidos a la administración de estrógenos.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

La figura 1 es una representación gráfica logarítmica-
25 lineal de la unión competitiva de PPTN y 17 β -estradiol al

-26-

receptor de estrógenos humano. El eje X representa el porcentaje de estrógenos marcado radiactivamente unidos al receptor. El eje Y representa la concentración molar de ligando añadido. Los valores son la media $\pm$ SEM (error típico de la media).

SUMARIO DE LA INVENCION

Esta invención se refiere a composiciones farmacéuticas útiles para reducir la morbilidad y el riesgo de mortalidad. Las composiciones comprenden un agonista/antagonista de estrógenos y un excipiente, vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable. Estas composiciones son eficaces para reducir la morbilidad cardiovascular y el riesgo de mortalidad en sujetos de ambos sexos y para reducir la morbilidad y/o el riesgo de mortalidad en mujeres postmenopáusicas debido al efecto combinado de reducciones de la enfermedad cardiovascular, el cáncer de mama y la osteoporosis.

Un segundo aspecto de la invención se refiere a procedimientos para reducir la morbilidad y la mortalidad. Específicamente, los procedimientos se refieren a procedimientos para reducir la morbilidad cardiovascular y el riesgo de mortalidad en sujetos de ambos sexos y para reducir la morbilidad y/o el riesgo de mortalidad en mujeres postmenopáusicas debido al efecto combinado de reducciones de la enfermedad cardiovascular, el cáncer de mama y la

osteoporosis. Los procedimientos comprenden la administración de una cantidad eficaz de los agonistas/antagonistas de estrógenos descritos en la presente memoria.

Un tercer aspecto de la invención es que las
5 composiciones y los procedimientos para reducir la morbilidad cardiovascular y el riesgo de mortalidad en sujetos de ambos sexos y reducir la morbilidad y/o el riesgo de mortalidad debido al efecto combinado de reducciones de la enfermedad cardiovascular, el cáncer de mama y la osteoporosis son
10 eficaces, reduciendo al mismo tiempo sustancialmente la posibilidad concomitante de efectos adversos asociados a la administración de estrógenos.

Como cuarto aspecto, la presente invención proporciona estuches para uso por un consumidor para reducir la
15 morbilidad cardiovascular y el riesgo de mortalidad en sujetos de ambos sexos y para reducir la morbilidad y/o el riesgo de mortalidad debido al efecto combinado de reducciones de la enfermedad cardiovascular, el cáncer de mama y la osteoporosis. El estuche comprende a) una
20 composición farmacéutica que comprende un agonista/antagonista de estrógenos de la presente invención y un excipiente, vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable; y b) instrucciones que describen un procedimiento de uso de la composición farmacéutica para reducir la
25 mortalidad cardiovascular en hombres y mujeres

-28-

postmenopáusicas y reducir la morbilidad y el riesgo de mortalidad debido al efecto combinado de reducciones de la enfermedad cardiovascular, el cáncer de mama y la osteoporosis. Las instrucciones pueden indicar también que
5 el estuche es para reducir la mortalidad cardiovascular en hombres y mujeres postmenopáusicas y/o reducir la morbilidad y/o el riesgo de mortalidad debido al efecto combinado de reducciones de la enfermedad cardiovascular, el cáncer de mama y la osteoporosis, reduciendo al mismo tiempo
10 sustancialmente la posibilidad concomitante de efectos adversos asociados a la administración de estrógenos.

Como quinto aspecto, la presente invención proporciona el uso de los agonistas/antagonistas de estrógenos de la presente invención para fabricar un medicamento para reducir
15 la morbilidad cardiovascular y el riesgo de mortalidad en sujetos de ambos sexos y para reducir la morbilidad y/o el riesgo de mortalidad debido al efecto combinado de reducciones de la enfermedad cardiovascular, el cáncer de mama y la osteoporosis en mujeres. Estas indicaciones se
20 tratan también por el medicamento, reduciendo al mismo tiempo sustancialmente la posibilidad concomitante de los efectos adversos asociados a la administración de estrógenos.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCIÓN

La presente invención se refiere a composiciones y
25 procedimientos para reducir la morbilidad cardiovascular y

211

-29-

el riesgo de mortalidad. A no ser que se indique de otro modo, los siguientes términos tienen los significados definidos a continuación:

"Tratamiento", tal y como se usa en la presente memoria, incluye el tratamiento preventivo (por ejemplo, profiláctico) y paliativo y "tratar" tal y como se usa en la presente memoria, se refiere a la acción de proporcionar el tratamiento paliativo y/o preventivo.

Un "sujeto" es un animal, incluyendo un ser humano, que puede tratarse con las composiciones, procedimientos y estuches de la presente invención. El término "sujeto" o "sujetos" se pretende que se refiera tanto al sexo masculino como al femenino, a menos que se indique un sexo específicamente.

Los "efectos adversos asociados a los estrógenos" incluyen sensibilidad, cáncer de mama, inflamación, dolor de cabeza, coagulación sanguínea y hemorragia menstrual aumentadas en mujeres. La terapia de estrógenos sin oposición aumenta el riesgo de carcinoma de endometrio. Las mujeres con terapia de estrógenos a largo plazo pueden tener un mayor riesgo que no se invierte mediante el tratamiento recurrente con progestinas (N Engl J Med, 332:1589, 1995). En hombres, los efectos adversos de los estrógenos incluyen una coagulación sanguínea aumentada, ginecomastia, feminización y libido reducida.

El término "mujeres postmenopáusicas" se define para incluir no sólo a mujeres de edad avanzada que han pasado la menopausia, sino también a mujeres que han sufrido histerectomía, o que por alguna otra razón han suprimido la producción de estrógeno, como las que se han sometido a una administración a largo plazo de corticosteroides, que sufren el síndrome de Cushion o que tienen disgenesia gonadal.

"Cáncer de mama" se define como una proliferación maligna de las células epiteliales que recubren los conductos o lóbulos del pecho.

Un "agonista/antagonista de estrógenos" es un compuesto que afecta a algunos de los mismos receptores a los que afectan los estrógenos, pero no a todos, y en algunos casos, antagoniza o bloquea a los estrógenos. También se conoce como "modulador del receptor de estrógenos selectivo" (SERM). Los agonistas/antagonistas de estrógenos pueden denominarse también como antiestrógenos aunque tienen cierta actividad estrogénica en algunos receptores de estrógenos. Por tanto, los agonistas/antagonistas de estrógenos no son los que se denominan habitualmente como "antiestrógenos puros". Los antiestrógenos que pueden actuar también como agonistas se denominan antiestrógenos de tipo I. Los antiestrógenos de tipo I activan el receptor de estrógenos para unirse fuertemente en el núcleo durante un tiempo prolongado, pero con una regeneración limitada de los receptores (Clark, et

24p
213

al., Steroids, 22:707, 1973, Capony et al., Mol Cell Endocrinol, 3:233, 1975).

El procedimiento citado antes para reducir la morbilidad y/o el riesgo de mortalidad se refiere de forma general a beneficios y/o supervivencia a largo plazo. Los beneficios clínicos pueden observarse en unas pocas semanas, por ejemplo, de 2 a 3 semanas, sin embargo, esto no supone que los pacientes no se beneficien del tratamiento antes de la observación clínica real. Se prefiere sin embargo, que la administración se efectúe a largo plazo; es decir, durante más de 16 semanas y, preferiblemente, durante más de 6 meses.

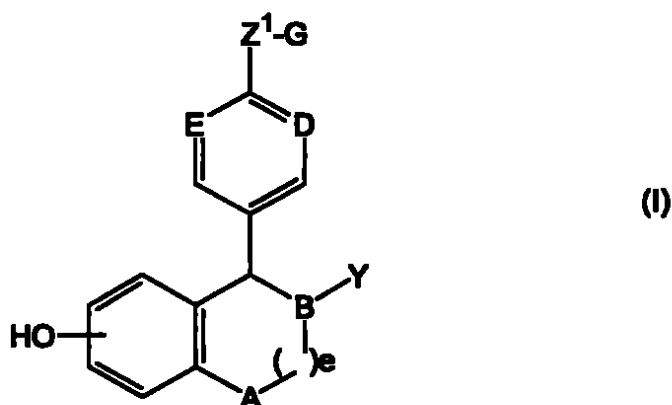
Sin limitarse a ninguna teoría particular, se cree que los agonistas/antagonistas de estrógenos de la presente invención y las composiciones que contienen aquellos agonistas/antagonistas de estrógenos reducen el riesgo de mortalidad cardiovascular en hombres y reducen la morbilidad y el riesgo de mortalidad en mujeres postmenopáusicas debido a la actividad en los receptores de estrógenos. Los agonistas/antagonistas de estrógenos de la presente invención ejercen un efecto estrogénico cardioprotector en animales y un efecto estrogénico en los huesos para tratar la osteoporosis. Los agonistas/antagonistas de estrógenos de la presente invención ejercen un efecto antiestrogénico en el tejido de la mama para prevenir o tratar el cáncer de mama en animales. Los efectos se consiguen sin la posibilidad

concomitante de efectos adversos asociados a la administración de estrógenos debido a los efectos antiestrogénicos de los agonistas/antagonistas de estrógenos en otros tejidos tales como el tejido de la mama.

5 Los agonistas/antagonistas de la presente invención incluyen los compuestos descritos en el documento US 5.552.412, que se incorpora en la presente en su totalidad como referencia. Los compuestos se describen mediante la fórmula (I) dada a continuación:

10

15



en la que

A se selecciona de CH₂ y NR;

20 B, D y E se seleccionan independientemente de CH y N;

Y es

(a) fenilo, opcionalmente sustituido con de 1 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente de R⁴;

25 (b) naftilo, opcionalmente sustituido con de 1 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente de R⁴;

278
215

-33-

(c) cicloalquilo C_3-C_8 , opcionalmente sustituido con 1 a 2 sustituyentes seleccionados independientemente de R^4 ;

(d) cicloalquenilo C_3-C_8 , opcionalmente sustituido con 1 a 2 sustituyentes seleccionados independientemente de R^4 ;

(e) un heterociclo de cinco miembros que contiene hasta dos heteroátomos seleccionados del grupo formado por $-O-$, $-NR^2-$ y $-S(O)_n-$, opcionalmente sustituido con de 1 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente de R^4 ;

(f) un heterociclo de seis miembros que contiene hasta dos heteroátomos seleccionados del grupo formado por $-O-$, $-NR^2-$ y $-S(O)_n-$, opcionalmente sustituido con de 1 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente de R^4 ; o

(g) un sistema de anillo bicíclico que comprende un anillo heterocíclico de cinco o seis miembros condensado con un anillo de fenilo, conteniendo el citado anillo heterocíclico hasta dos heteroátomos seleccionados del grupo formado por $-O-$, $-NR^2-$ y $-S(O)_n-$, opcionalmente sustituido con de 1 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente de R^4 ;

Z^1 es

(a) $-(CH_2)_pW(CH_2)_q-$;

(b) $-O(CH_2)_pCR^5R^6-$;

(c) $-O(CH_2)_pW(CH_2)_q-$;

(d) $-OCHR^2CHR^3-$; o

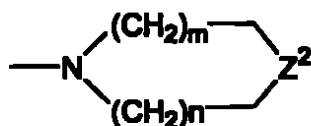
-34-

(e) $-\text{SCHR}^2\text{CHR}^3-$;

G es

(a) $-\text{NR}^7\text{R}^8$;

5



(b)

en la que n es 0, 1 ó 2; m es 1, 2 ó 3; Z^2 es

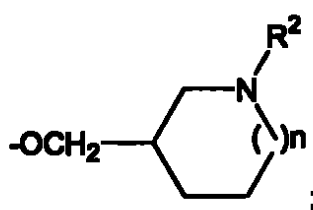
$-\text{NH}-$, $-\text{O}-$, $-\text{S}-$ o $-\text{CH}_2-$; opcionalmente condensado sobre átomos
10 de carbono adyacentes con uno o dos anillos fenilo y,
opcionalmente, sustituido de forma independiente en el
carbono con uno a tres sustituyentes y, opcionalmente, de
forma independiente en el nitrógeno con un sustituyente
químicamente adecuado seleccionado de R^4 ; o

15

(c) una amina bicíclica que contiene de cinco a
doce átomos de carbono, con los anillos unidos mediante un
puente o condensados y opcionalmente sustituidos con de 1 a
3 sustituyentes seleccionados independientemente de R^4 ; o

Z^1 y G combinados pueden ser

20



W es

25

(a) $-\text{CH}_2-$;

(b) $-\text{CH}=\text{CH}-$;

(c) $-\text{O}-$;

(d) $-\text{NR}^2-$;

(e) $-\text{S}(\text{O})_n-$;

5

(f) $\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ -\text{C}- \end{array}$;

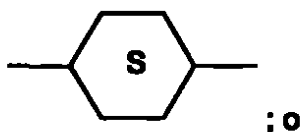
(g) $-\text{CR}^2(\text{OH})-$;

(h) $-\text{CONR}^2-$;

10

(i) $-\text{NR}^2\text{CO}-$;

(j)



15

(k) $-\text{C}\equiv\text{C}-$;

R es hidrógeno o alquilo C_1-C_6 ;

R^2 y R^3 son independientemente

(a) hidrógeno; o

(b) alquilo C_1-C_4 ;

20

R^4 es

(a) hidrógeno;

(b) halógeno;

(c) alquilo C_1-C_6 ;

(d) alcoxi C_1-C_4 ;

25

(e) aciloxi C_1-C_4 ;

(f) alquil(C_1-C_4)tio;

219
218

-36-

- (g) alquil (C₁-C₄) sulfinilo;
(h) alquil (C₁-C₄) sulfonilo;
(i) hidroxialquilo C₁-C₄;
(j) arilalquilo C₁-C₄;
5 (k) -CO₂H;
(l) -CN;
(m) -CONHOR;
(n) -SO₂NHR;
(o) -NH₂;
10 (p) alquil (C₁-C₄) amino;
(q) dialquil (C₁-C₄) amino;
(r) -NHSO₂R;
(s) -NO₂;
(t) -arilo; o
15 (u) -OH;
R⁵ y R⁶ son independientemente alquilo C₁-C₄ o forman
conjuntamente un anillo carbocíclico C₃-C₁₀;
R⁷ y R⁸ son independientemente
(a) fenilo;
20 (b) un anillo carbocíclico C₃-C₁₀, saturado o
insaturado;
(c) un anillo heterocíclico C₃-C₁₀ que contiene
hasta dos heteroátomos seleccionados de -O-, -N- y -S-;
(d) H;
25 (e) alquilo C₁-C₆; o

-37-

(f) forman un anillo de 3 a 8 miembros que contiene nitrógeno con R⁵ o R⁶;

R⁷ y R⁸ en forma lineal o de anillo pueden estar opcionalmente sustituidos con hasta tres sustituyentes
5 seleccionados independientemente de alquilo C₁-C₆, halógeno, alcoxi, hidroxí y carboxi;

un anillo formado por R⁷ y R⁸ puede estar opcionalmente condensado con un anillo de fenilo;

e es 0, 1 ó 2;

10 m es 1, 2 ó 3;

n es 0, 1 ó 2;

p es 0, 1, 2 ó 3;

q es 0, 1, 2 ó 3;

y los isómeros ópticos y geométricos de los mismos; y
15 las sales de adición de ácidos, N-óxidos, ésteres, sales de amonio cuaternarias y profármacos de los mismos no tóxicos y farmacéuticamente aceptables.

Halo significa cloro, bromo, yodo o fluoro o halógeno
significa cloro, bromo, yodo o flúor.

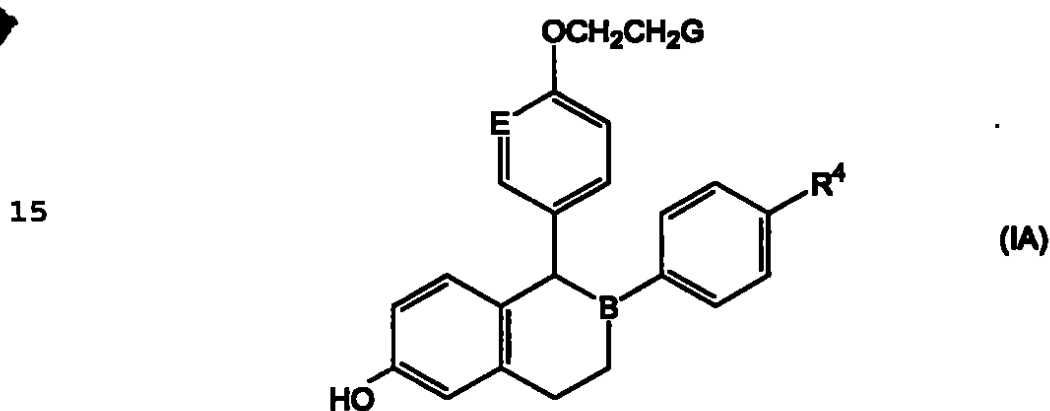
20 Alquilo significa un hidrocarburo saturado de cadena lineal o ramificada. Ejemplos de dichos grupos alquilo (suponiendo que la longitud designada comprende al ejemplo particular) son metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, sec-butilo, butilo terciario, isopentilo, hexilo e isohexilo.

25 Alcoxi significa alquilo saturado de cadena lineal o

ramificada unido mediante un grupo oxo. Ejemplos de dichos grupos alcoxi (suponiendo que la longitud designada comprende al ejemplo particular) son metoxi, etoxi, propoxi, isopropoxi, butoxi, isobutoxi, butoxi terciario, pentoxi, isopentoxi, hexoxi e isohexoxi.

El signo negativo o positivo entre paréntesis usado en la presente memoria indica la dirección en la que el estereoisómero particular hace girar el plano de la luz polarizada.

Otros compuestos preferidos de la invención son los de fórmula (IA):



en la que G es



R^4 es H, OH, F o Cl, y B y E se seleccionan independientemente de CH y N.

-39-

Los compuestos de la invención especialmente preferidos para las composiciones y procedimientos son:

cis-6-(4-fluorofenil)-5-[4-(2-piperidin-1-il-etoxi)-fenil]-5,6,7,8-tetrahidro-naftalen-2-ol;

5 (-)-cis-6-fenil-5-[4-(2-pirrolidin-1-il-etoxi)-fenil]-5,6,7,8-tetrahidro-naftalen-2-ol;

cis-6-fenil-5-[4-(2-pirrolidin-1-il-etoxi)-fenil]-5,6,7,8-tetrahidro-naftalen-2-ol;

10 cis-1-[6'-pirrolidinoetoxi-3'-piridil]-2-fenil-6-hidroxi-1,2,3,4-tetrahidronaftaleno;

1-(4'-pirrolidinoetoxifenil)-2-(4"-fluorofenil)-6-hidroxi-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina;

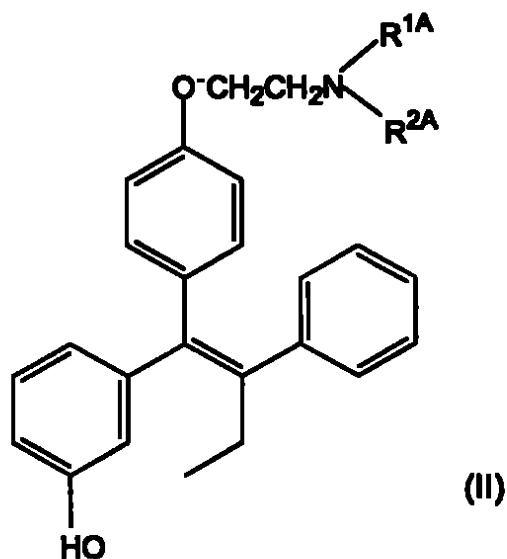
cis-6-(4-hidroxifenil)-5-[4-(2-piperidin-1-il-etoxi)-fenil]-5,6,7,8-tetrahidronaftalen-2-ol; y

15 1-(4'-pirrolidinoetoxifenil)-2-fenil-6-hidroxi-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina y sus sales. Una sal especialmente preferida de los compuestos anteriores es la sal tartrato.

En el documento US 5.047.431 se describen otros agonistas/antagonistas de estrógenos preferidos. La
20 estructura de estos compuestos viene dada por la siguiente fórmula (II):

-40-

5



(II)

10

en la que

$\text{R}^{1\text{A}}$ y $\text{R}^{2\text{A}}$ pueden ser iguales o distintos con tal que, cuando $\text{R}^{1\text{A}}$ y $\text{R}^{2\text{A}}$ son iguales, cada uno es un grupo metilo o etilo y, cuando $\text{R}^{1\text{A}}$ y $\text{R}^{2\text{A}}$ son distintos, uno de ellos es un grupo metilo o etilo y el otro es hidrógeno o un grupo bencilo; y sus sales y profármacos farmacéuticamente aceptables.

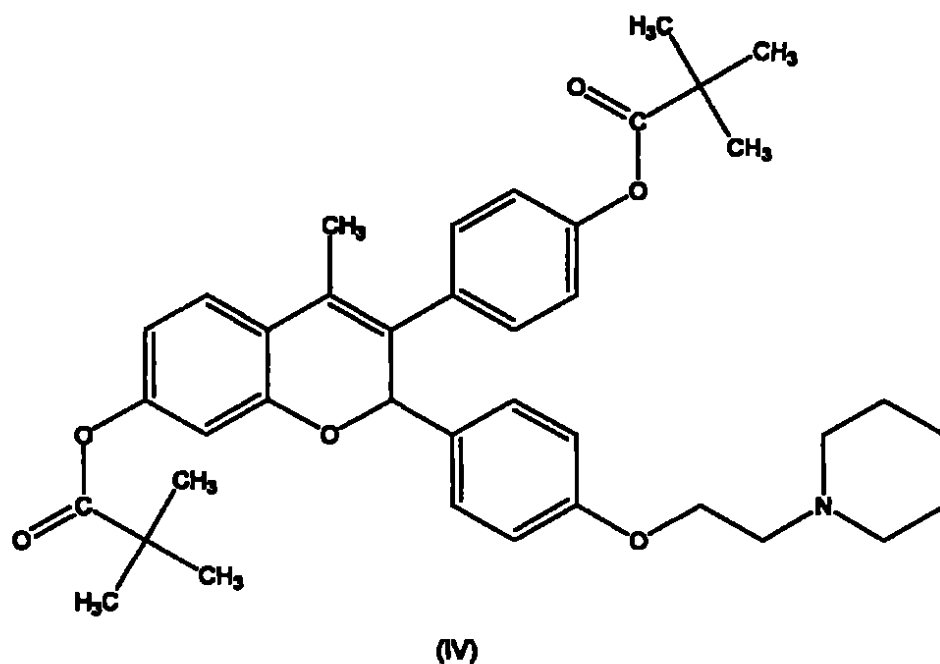
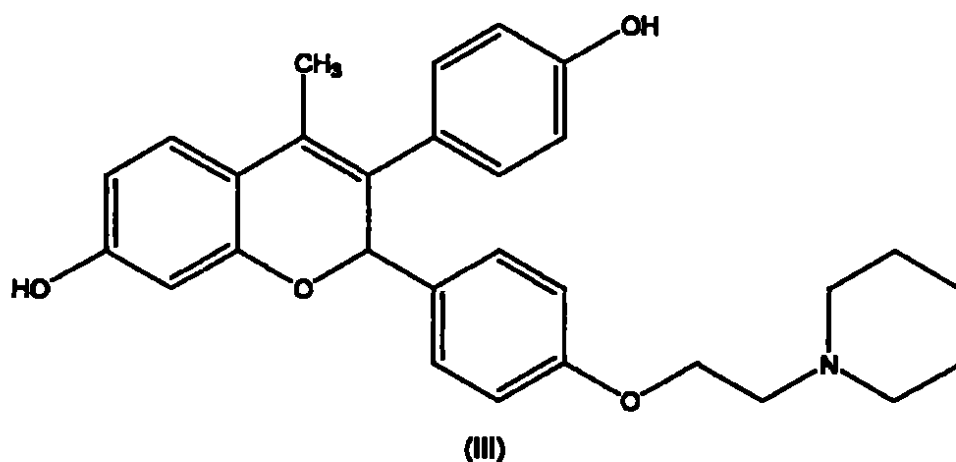
Otros agonistas/antagonistas de estrógenos preferidos son el tamoxifeno: (etanamina, 2-[-4(1,2-difenil-1-butenil)fenoxi]-N,N-dimetil, (Z)-2-, 2-hidroxi-1,2,3-propanotricarboxilato (1:1)) y otros compuestos descritos en la patente de los Estados Unidos 4.536.516; 4-hidroxitamoxifeno (es decir, tamoxifeno en el que el resto 2-fenilo tiene un grupo hidroxilo en la posición 4) y otros compuestos descritos en la patente de los Estados Unidos

-41-

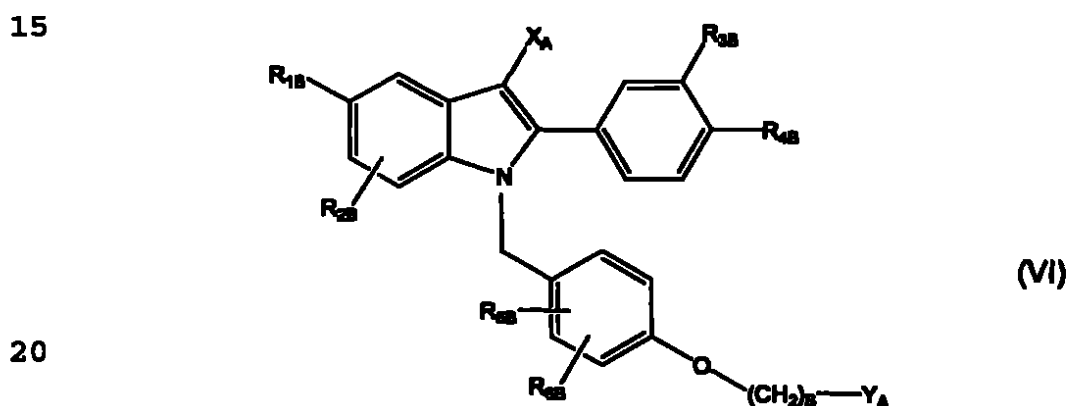
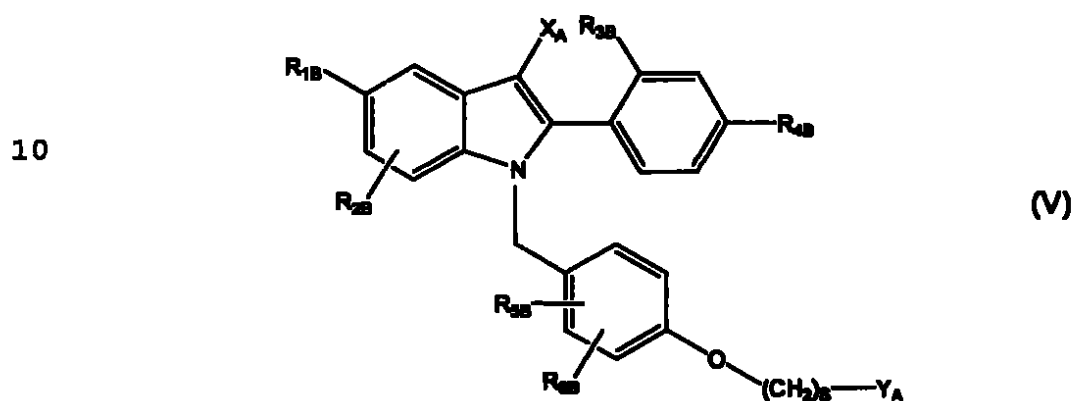
4.623.660; raloxifeno: (metanona, [6-hidroxi-2-(4-hidroxifenil)benzo[b]tien-3-il] [4-[2-(1-piperidinil)etoxi]-fenil]-, clorhidrato y otros compuestos descritos en las patentes de los Estados Unidos 4.418.068, 5.393.763, 5.457.117, 5,478.847 y 5.641.790; toremifeno: (etanamina, 2-[4-(4-cloro-1,2-difenil-1-butenil)fenoxi]-N,N-dimetil-, (Z)-, 2-hidroxi-1,2,3-propanotricarboxilato (1:1) y otros compuestos descritos en las patentes de los Estados Unidos 4.696.949 y 4.996.225; centcromano: 1-[2-[[4-(metoxi-2,2-dimetil-3-fenil-croman-4-il)-fenoxi]-etil]-pirrolidina y otros compuestos descritos en la patente de los Estados Unidos 3.822.287; idoxifeno: pirrolidinona 1-[4-[[1-(4-yodofenil)-2-fenil-1-butenil]fenoxi]-etil] y otros compuestos descritos en la patente de los Estados Unidos 4.839.155; 6-(4-hidroxi-fenil)-5-[4-(2-piperidin-1-il-etoxi)-bencil]-naftalen-2-ol y otros compuestos descritos en la patente de los Estados Unidos 5.484.795; y {4-[2-(2-azabicyclo[2.2.1]hept-2-il)-etoxi]-fenil}-[6-hidroxi-2-(4-hidroxi-fenil)-benzo[b]tiofen-3-il]-metanona y otros compuestos descritos en la solicitud internacional publicada WO 95/10513. Otros compuestos preferidos incluyen GW 5638 y GW 7604. La síntesis de estos compuestos se describe en Willson et al., J. Med. Chem., 1994;37:1550-1552.

Otros agonistas/antagonistas de estrógenos preferidos incluyen EM-652 (como se muestra en la fórmula denominada en

la presente memoria fórmula (III) y EM-800 (como se muestra en la fórmula denominada en la presente memoria fórmula (IV)). La síntesis de EM-652 y EM-800 y la actividad de diversos enantiómeros se describe en Gauthier et al., J. Med. Chem., 1997, 40:2117-2122.



Otros agonistas/antagonistas de estrógenos preferidos incluyen TSE 424 y otros compuestos descritos en las patentes de los Estados Unidos 5.998.402, 5.985.910, 5.780.497 y 5.880.137 y en la solicitud de patente europea EP 0802183 A1
 5 que incluye los compuestos descritos por las fórmulas denominadas en la presente memoria fórmulas V y VI, a continuación:



en las que;

R_{1B} se selecciona de H, OH o ésteres C_1-C_{12} (cadena lineal o ramificada) o alquiléteres C_1-C_{12} (cadena lineal o
 25 ramificada o cíclica) de los mismos, o halógenos; o éteres

C₁-C₄ halogenados que incluyen éter trifluorometílico y éter triclorometílico.

R_{2B}, R_{3B}, R_{4B}, R_{5B} y R_{6B} se seleccionan independientemente de H, OH o ésteres C₁-C₁₂ (cadena lineal o ramificada) o
5 alquiléteres C₁-C₁₂ (cadena lineal o ramificada o cíclica) de los mismos, halógenos, o éteres C₁-C₄ halogenados que incluyen éter trifluorometílico y éter triclorometílico, ciano, alquilo C₁-C₆ (cadena lineal o ramificada) o trifluorometilo;

X_A se selecciona de H, alquilo C₁-C₆, ciano, nitro,
10 trifluorometilo y halógeno,

s es 2 ó 3;

Y_A se selecciona de:

a) el resto:



en el que R_{7B} y R_{8B} se seleccionan independientemente del grupo de H, alquilo C₁-C₆ o fenilo opcionalmente sustituido con CN, alquilo C₁-C₆ (cadena lineal o ramificada), alcoxi C₁-
20 C₆ (cadena lineal o ramificada), halógeno, -OH, -CF₃ o -OCF₃;

b) un heterociclo saturado, insaturado o parcialmente insaturado de cinco miembros que contiene hasta dos heteroátomos seleccionados del grupo formado por -O-, -NH-, -N(alquilo C₁-C₄)-, -N= y -S(O_u-, siendo u un número
25 entero de 0 a 2, opcionalmente sustituido con de 1 a 3

sustituyentes seleccionados independientemente del grupo formado por hidrógeno, hidroxilo, halo, alquilo C₁-C₄, trihalometilo, alcoxi C₁-C₄, trihalometoxi, aciloxi C₁-C₄, alquil(C₁-C₄), alquil(C₁-C₄)sulfinilo, alquil(C₁-C₄)sulfonilo, 5 hidroxialquilo (C₁-C₄), -CO₂H, -CN, -CONHR_{1B}, -NH₂, (alquil C₁-C₄)amino, di(alquil C₁-C₄)amino, -NHSO₂R_{1B}, -NHCOR_{1B}, -NO₂ y fenilo opcionalmente sustituido con de 1 a 3 grupos alquilo (C₁-C₄);

c) un heterociclo saturado, insaturado o parcialmente 10 insaturado de seis miembros que contiene hasta dos heteroátomos seleccionados del grupo formado por -O-, -NH-, -N(alquilo C₁-C₄)-, -N= y -S(O)_u-, siendo u un número entero de 0 a 2, opcionalmente sustituido con de 1 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente del grupo 15 formado por hidrógeno, hidroxilo, halo, alquilo C₁-C₄, trihalometilo, alcoxi C₁-C₄, trihalometoxi, aciloxi C₁-C₄, alquil(C₁-C₄)tio, alquil(C₁-C₄)sulfinilo, alquil(C₁-C₄)sulfonilo, hidroxialquilo (C₁-C₄), -CO₂H, -CN, -CONHR₁, -NH₂, alquil(C₁-C₄)amino, dialquil(C₁-C₄)amino, -NHSO₂R_{1B}, -NHCOR_{1B}, - 20 NO₂ y fenilo opcionalmente sustituido con de 1 a 3 grupos alquilo (C₁-C₄);

d) un heterociclo saturado, insaturado o parcialmente insaturado de siete miembros que contiene hasta dos heteroátomos seleccionados del grupo formado por -O-, 25 -NH-, -N(alquilo C₁-C₄)-, -N= y -S(O)_u-, siendo u un número

- entero de 0 a 2, opcionalmente sustituido con de 1 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente del grupo formado por hidrógeno, hidroxilo, halo, alquilo C_1-C_4 , trihalometilo, alcoxi C_1-C_4 , trihalometoxi, aciloxi C_1-C_4 ,
5 alquil(C_1-C_4)tio, alquil(C_1-C_4)sulfinilo, alquil(C_1-C_4)sulfonilo, hidroxialquilo C_1-C_4 , $-CO_2H$, $-CN$, $-CONHR_{1B}$, $-NH_2$, (alquil C_1-C_4)amino, di(alquil C_1-C_4)amino, $-NHSO_2R_{1B}$, $-NHCOR_{1B}$, $-NO_2$ y fenilo opcionalmente sustituido con de 1 a 3 grupos alquilo (C_1-C_4); o
- 10 e) un heterociclo bicíclico que contiene de 6 a 12 átomos de carbono con los anillos unidos mediante un puente o condensados y que contiene hasta dos heteroátomos seleccionados del grupo formado por $-O-$, $-NH-$, $-N(\text{alquilo } C_1-C_4)-$ y $-S(O)_u-$, siendo u un número entero de 0 a 2,
15 opcionalmente sustituido con de 1 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente del grupo formado por hidrógeno, hidroxilo, halo, alquilo C_1-C_4 , trihalometilo, alcoxi C_1-C_4 , trihalometoxi, aciloxi C_1-C_4 , alquil(C_1-C_4)tio, alquil(C_1-C_4)sulfinilo, alquil(C_1-C_4)sulfonilo, hidroxialquilo
20 (C_1-C_4), $-CO_2H-$, $-CN-$, $-CONHR_{1B}-$, $-NH_2$, $-N=$, (alquil C_1-C_4)amino, di(alquil C_1-C_4)amino, $-NHSO_2R_{1B}$, $-NHCOR_{1B}$, $-NO_2$ y fenilo opcionalmente sustituido con de 1 a 3 grupos alquilo (C_1-C_4);
y los isómeros ópticos y geométricos de los mismos; y las sales de adición de ácidos, los N-óxidos, los ésteres, las
25 sales de amonio cuaternarias y los profármacos de los mismos

no tóxicos y farmacéuticamente aceptables.

Los compuestos más preferidos de esta invención son los que tienen las estructuras generales V o VI anteriores, en las que:

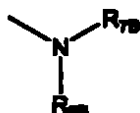
5 R^{1B} se selecciona de H, OH o los ésteres C_1-C_{12} o alquiléteres de los mismos, y halógeno;

R_{2B} , R_{3B} , R_{4B} , R_{5B} y R_{6B} se seleccionan independientemente de H, OH o ésteres C_1-C_{12} o alquiléteres C_1-C_{12} de los mismos, halógeno, ciano, alquilo C_1-C_6 o trihalometilo, 10 preferiblemente trifluorometilo, con la condición de que cuando R_{1B} es H, R_{2B} no es OH;

X_A se selecciona de H, alquilo C_1-C_6 , ciano, nitro, trifluorometilo y halógeno;

Y_A es el resto:

15



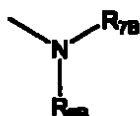
R_{7B} y R_{8B} se seleccionan independientemente de H, alquilo C_1-C_6 , o se combinan como $-(CH_2)_w-$, siendo w un número entero 20 de 2 a 6, de manera que forman un anillo, estando el anillo opcionalmente sustituido con hasta tres sustituyentes seleccionados del grupo de hidrógeno, hidroxilo, halo, alquilo C_1-C_4 , trihalometilo, alcoxi C_1-C_4 , trihalometoxi, alquil(C_1-C_4)tio, alquil(C_1-C_4)sulfinilo, alquil(C_1- 25 C_4)sulfonilo, hidroxialquilo C_1-C_4 , $-CO_2H$, $-CN$, $-CONH$ (alquilo

-48-

C₁-C₄), -NH₂, (alquil C₁-C₄)amino, di(alquil C₁-C₄)amino, -
 NHSO₂(alquilo C₁-C₄), -CO(alquilo C₁-C₄) y -NO₂; y los isómeros
 ópticos y geométricos de los mismos, y las sales de adición
 de ácidos, los N-óxidos, los ésteres, las sales de amonio
 5 cuaternarias y los profármacos de los mismos no tóxicos y
 farmacéuticamente aceptables.

Los anillos formados por una concatenación de R_{7B} y R_{8B},
 citados antes, pueden incluir, aunque no están limitados a
 ellos, anillos de aziridina, azetidina, pirrolidina,
 10 piperidina, hexametilenamina o heptametilenamina.

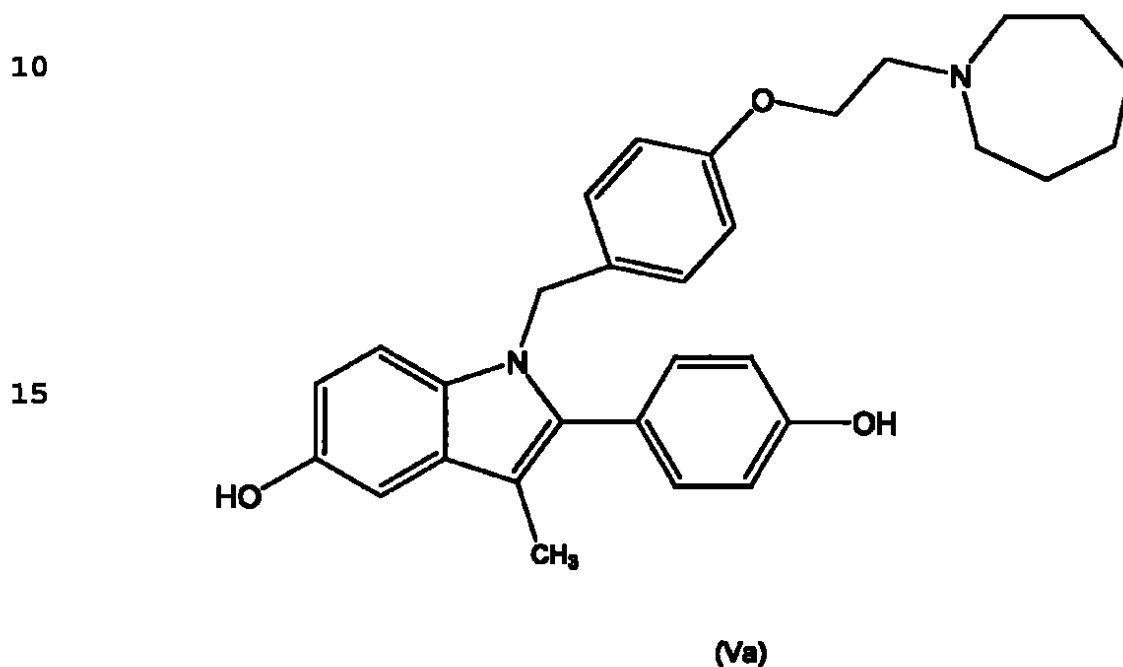
Los compuestos más preferidos de las fórmulas
 estructurales V y VI anteriores son aquellos en los que R_{1B}
 es OH; R_{2B} a R_{6B} son como se han definido antes; X_A se
 selecciona del grupo de Cl, NO₂, CN, CF₃ o CH₃; Y_A es el resto
 15



y R_{7B} y R_{8B} se concatenan conjuntamente como -(CH₂)_t-, siendo
 t un número entero de 4 a 6, para formar un anillo
 20 opcionalmente sustituido con hasta tres sustituyentes
 seleccionados del grupo de hidrógeno, hidroxilo, halo,
 alquilo C₁-C₄, trihalometilo, alcoxi C₁-C₄, trihalometoxi,
 alquil(C₁-C₄)tio, alquil(C₁-C₄)sulfinilo, alquil(C₁-
 C₄)sulfonilo, hidroxialquilo C₁-C₄, -CO₂H, -CN, -CONH(alquilo
 25 C₁-C₄), -NH₂, (alquil C₁-C₄)amino, di(alquil C₁-C₄)amino, -

NHSO₂(alquilo C₁-C₄), -NHCO(alquilo C₁-C₄) y -NO₂; y los isómeros ópticos y geométricos de los mismos, y las sales de adición de ácidos, los N-óxidos, los ésteres, las sales de amonio cuaternarias y los profármacos de los mismos no
5 tóxicos y farmacéuticamente aceptables.

Otro compuesto preferido es TSE-424, que se describe por la fórmula denominada en la presente memoria fórmula (Va) siguiente:



20

El químico medio experto reconocerá que ciertos compuestos de esta invención contendrán uno o más átomos que pueden estar en una configuración estereoquímica, tautomérica o geométrica particular, dando lugar a estereoisómeros,
25 tautómeros e isómeros conformacionales. Tales isómeros y las

mezclas de los mismos se incluyen todos en esta invención. También se incluyen los hidratos de los compuestos de esta invención.

También es parte de la presente invención administrar
5 más de un agonista/antagonista de estrógenos. Además, se puede administrar un agonista/antagonista de estrógenos o combinaciones de agonistas/antagonistas de estrógenos combinados con otros compuestos terapéuticamente activos, en particular, con compuestos que se usan para tratar artritis
10 reumatoide, cáncer de colon, heridas en tejidos o cataratas. Los diferentes compuestos se pueden administrar en la misma forma de dosificación o en diferentes formas de dosificación a la vez o en diferentes momentos.

El químico medio experto reconocerá que ciertos
15 compuestos de esta invención contendrán uno o más átomos que pueden estar en una configuración estereoquímica, tautomérica o geométrica particular, dando lugar a estereoisómeros, tautómeros e isómeros conformacionales. Tales isómeros y las mezclas de los mismos se incluyen todos en esta invención.
20 También se incluyen los hidratos de los compuestos de esta invención.

La presente invención también incluye compuestos marcados con isótopos, que son idénticos a los descritos en la Fórmula I, salvo por el hecho de que uno o más átomos
25 están reemplazados por un átomo que tiene una masa atómica

o número másico diferentes de la masa atómica o número másico encontrados normalmente en la naturaleza. Ejemplos de isótopos que pueden incorporarse en los compuestos de la invención incluyen isótopos de hidrógeno, carbono, nitrógeno, 5 oxígeno, fósforo, azufre, flúor y cloro, como ^2H , ^3H , ^{13}C , ^{14}C , ^{15}N , ^{18}O , ^{17}O , ^{31}P , ^{32}P , ^{33}S , ^{18}F y ^{36}Cl , respectivamente. Los compuestos de la presente invención, sus profármacos y las sales farmacéuticamente aceptables de dichos compuestos o de dichos profármacos que contienen los isótopos mencionados 10 anteriormente y/u otros isótopos de otros átomos, están dentro del alcance de esta invención. Ciertos compuestos marcados con isótopos de la presente invención, por ejemplo, aquellos en los que se han incorporado isótopos radiactivos como ^3H y ^{14}C , son útiles en ensayos de distribución de 15 fármacos y/o tejidos sustratos. Los isótopos tritio, es decir, ^3H , y de carbono 14, es decir, ^{14}C , son particularmente preferidos por su facilidad de preparación y de detección. Además, la sustitución con isótopos más pesados como el deuterio, es decir, ^2H , puede proporcionar ciertas ventajas 20 terapéuticas originadas por la mayor estabilidad metabólica, por ejemplo, una mayor semivida *in vivo* o la necesidad de dosificaciones menores y, por tanto, pueden ser preferidos en algunas circunstancias. Por lo general, los compuestos marcados con isótopos de Fórmula I de esta invención y sus 25 profármacos se pueden preparar llevando a cabo los

procedimientos descritos y/o ejemplificados en la patente de los Estados Unidos 5.552.412 y sustituyendo un reactivo no marcado por un reactivo marcado con isótopos fácilmente disponible.

5 Los químicos farmacéuticos reconocerán fácilmente que los compuestos fisiológicamente activos que tienen grupos hidroxilo accesibles se administran frecuentemente en forma de ésteres farmacéuticamente aceptables. La bibliografía relativa a dichos compuestos, como el estradiol, proporciona
10 un gran número de ejemplos de dichos ésteres. Los compuestos de esta invención no son una excepción a este respecto, y pueden administrarse eficazmente en forma de un éster, formado sobre los grupos hidroxilo, como un experto en química farmacéutica esperaría. Se cree que tales ésteres se
15 escinden metabólicamente en el cuerpo, dando lugar al compuesto con un grupo hidroxilo libre. Es posible, como se sabe desde hace mucho tiempo en química farmacéutica, ajustar la velocidad o la duración de la acción del compuesto mediante la elección apropiada de los grupos éster.

20 Se prefieren ciertos grupos éster como constituyentes de los compuestos de esta invención. Los compuestos de fórmula I ó IA pueden contener grupos ésteres en diversas posiciones, como se ha definido anteriormente en la presente memoria, estando representados estos grupos por $-COOR^9$, R^9 es
25 alquilo C_1-C_{14} , cloroalquilo C_1-C_3 , fluoroalquilo C_1-C_3 ,

cicloalquilo C₃-C₇, fenilo o fenilo mono- o di-sustituido con alquilo C₁-C₄, alcoxi C₁-C₄, hidroxilo, nitro, cloro, fluoro o tri(cloro o fluoro)metilo.

Las sales de adición de ácidos farmacéuticamente
5 aceptables de los compuestos de esta invención pueden formarse a partir del compuesto mismo, o de cualquiera de sus ésteres, e incluyen las sales farmacéuticamente aceptables que se utilizan a menudo en química farmacéutica. Por ejemplo, las sales pueden formarse con ácidos orgánicos o
10 inorgánicos como ácido clorhídrico, bromhídrico, yodhídrico, ácidos sulfónicos incluyendo agentes como ácido naftalenosulfónico, metanosulfónico y toluenosulfónico, ácido sulfúrico, ácido nítrico, ácido fosfórico, ácido tartárico, ácido piro-sulfúrico, ácido metafosfórico, ácido succínico,
15 ácido fórmico, ácido ftálico, ácido láctico y ácidos similares, lo más preferible con ácido clorhídrico, ácido cítrico, ácido benzoico, ácido maleico, ácido acético y ácido propiónico.

Los compuestos de esta invención, como se ha discutido
20 antes, se pueden administrar en forma de sales de adición de ácidos. Las sales se forman convenientemente, como es habitual en química orgánica, haciendo reaccionar el compuesto de esta invención con un ácido adecuado, como los descritos antes. Las sales se forman rápidamente con altos
25 rendimientos a temperaturas moderadas, y se preparan a menudo

aislando simplemente el compuesto en un baño ácido adecuado como etapa final de la síntesis. El ácido que forma la sal se disuelve en un disolvente orgánico apropiado, o disolvente orgánico acuoso, como un alcohol, cetona o éster. Por otro
5 lado, si se desea el compuesto de esta invención en forma de base libre, se aísla en una etapa de lavado básico final, según la práctica habitual. Una técnica preferida para preparar clorhidratos es disolver la base libre en un disolvente adecuado y secar la disolución de forma cuidadosa,
10 tal como con tamices moleculares, antes de burbujear cloruro de hidrógeno gaseoso a su través. Una sal preferida de (-)-cis-6-fenil-5-[4-(2-pirrolidin-1-il-etoxi)-fenil]-5,6,7,8-tetrahidro-naftalen-2-ol es la sal D-(-)-tartrato.

La dosis de un compuesto de esta invención que se
15 administra a un sujeto es más bien variable y está sujeta al criterio del médico encargado. Se apreciará que puede ser necesario ajustar la dosis de un compuesto cuando éste se administre en forma de sal, como laurato, teniendo el resto que forma la sal un peso molecular apreciable.

20 Las siguientes cantidades de dosificación y otras cantidades de dosificación establecidas en cualquier otra parte de esta memoria descriptiva y en las reivindicaciones adjuntas, se dan para un sujeto humano medio con un peso de aproximadamente 65 kg a aproximadamente 70 kg. El experto
25 será capaz de determinar fácilmente la cantidad de

dosificación requerida para un sujeto cuyo peso se encuentre fuera del intervalo de 65 a 70 kg, basándose en el historial médico del sujeto y en la presencia de enfermedades, por ejemplo diabetes, en el sujeto. Todas las dosis establecidas
5 en la presente memoria, y en las reivindicaciones adjuntas, son dosis diarias de la forma base libre de los agonistas/antagonistas de estrógenos. El cálculo de la cantidad de dosificación para otras formas distintas de la base libre como sales o hidratos se determina fácilmente
10 realizando una simple proporción relativa a los pesos moleculares de las especies implicadas.

El intervalo general de administración eficaz de los agonistas/antagonistas de estrógenos varía de aproximadamente 0,001 mg/día a aproximadamente 10 mg/día. Un intervalo
15 preferido varía de aproximadamente 0,010 mg/día a 5 mg/día. Por supuesto, a menudo es práctico administrar la dosis diaria del compuesto en porciones, a diversas horas del día. Sin embargo, en cualquier caso dado, la cantidad de compuesto administrado dependerá de factores tales como, la solubilidad
20 del componente activo, la formulación utilizada y la vía de administración.

La vía de administración de los compuestos de esta invención no es crítica. Los compuestos son conocidos por su absorción en el tracto digestivo y por ello se prefiere
25 normalmente administrar un compuesto oralmente por razones

-56-

de conveniencia. Sin embargo, los compuestos pueden administrarse de forma igualmente eficaz percutáneamente, o como supositorios para absorción en el recto, si se desea en un caso determinado. Pueden utilizarse todos los tipos
5 habituales de composiciones, incluyendo comprimidos, comprimidos masticables, cápsulas, soluciones, soluciones parenterales, trociscos, supositorios y suspensiones. Las composiciones se formulan para contener una dosis diaria, o una fracción conveniente de un dosis diaria, en una
10 dosificación unitaria que puede ser un sólo comprimido o cápsula o un volumen conveniente de líquido.

En general, todas las composiciones se preparan conforme a procedimientos usuales en la química farmacéutica y por aquellos procedimientos descritos y/o ejemplificados en la
15 patente de los Estados Unidos 5.552.412.

Las cápsulas se preparan por mezcla del compuesto o compuestos con un diluyente adecuado y llenando las cápsulas con la cantidad apropiada de la mezcla. Los diluyentes habituales incluyen sustancias inertes en polvo como almidón
20 de muchos tipos diferentes, celulosa en polvo, especialmente celulosa cristalina y microcristalina, azúcares como fructosa, manitol y sacarosa, harinas de cereales y polvos comestibles similares.

Los comprimidos se preparan por compresión directa, por
25 granulación húmeda, o por granulación en seco. Sus

formulaciones incorporan habitualmente además del compuesto diluyentes, ligantes, lubricantes y disgregantes. Los diluyentes típicos incluyen, por ejemplo, varios tipos de almidón, lactosa, manitol, caolín, fosfato o sulfato de calcio, sales inorgánicas como cloruro de sodio y azúcar en polvo. Los derivados de celulosa en polvo son también útiles. Los ligantes de comprimidos típicos son sustancias como almidón, gelatina y azúcares como lactosa, fructosa, glucosa y similares. Las gomas naturales y sintéticas son también convenientes, incluyendo goma arábiga, alginatos, metilcelulosa, polivinilpirrolidona y similares. También pueden servir como ligantes el polietilenglicol, la etilcelulosa y ceras.

Puede ser necesario un lubricante en una formulación de comprimidos para evitar que el comprimido y los punzones se adhieran al troquel. El lubricante se elige de sólidos deslizantes como talco, estearato de magnesio y calcio, ácido esteárico y aceites vegetales hidrogenados.

Los disgregantes de comprimidos son sustancias que se hinchan cuando se humedecen, rompiendo el comprimido y liberando el compuesto. Incluyen almidones, arcillas, celulosas, alginas y gomas, más particularmente pueden utilizarse por ejemplo almidones de maíz y patata, metilcelulosa, agar, betonita, celulosa de madera, esponja natural en polvo, resinas de intercambio catiónico, ácido

algínico, goma guar, pulpa de cítricos y carboximetilcelulosa, así como laurilsulfato sódico.

Los comprimidos están recubiertos a menudo con azúcar como aromatizante y agente de revestimiento o con agentes
5 protectores que forman una película para modificar las propiedades de disolución del comprimido. Los compuestos pueden formularse también como comprimidos masticables utilizando grandes cantidades de sustancias de sabor agradable como manitol en la formulación, como está ahora
10 bien establecido en la técnica.

Cuando se desea administrar un compuesto en forma de supositorio, pueden utilizarse las bases típicas. La manteca de cacao es una base de supositorio tradicional que puede modificarse por adición de ceras para aumentar ligeramente
15 su punto de fusión. Se usan extensamente las bases de supositorio miscibles en agua que comprenden, particularmente, polietilenglicoles de diversos pesos moleculares.

El efecto de los compuestos puede retardarse o
20 prolongarse mediante una formulación apropiada. Por ejemplo, se puede preparar un gránulo de disolución lenta del compuesto e incorporarlo en un comprimido o cápsula. La técnica puede mejorarse preparando gránulos de varias velocidades de disolución diferentes y llenando las cápsulas
25 con una mezcla de gránulos. Los comprimidos o cápsulas pueden

recubrirse con una película que resista la disolución durante un período predecible de tiempo. Incluso las preparaciones parenterales pueden hacerse de larga acción disolviendo o suspendiendo el compuesto en vehículos oleosos o emulsionados
5 que les permite dispersarse lentamente en el suero.

El término "profármaco" se refiere a compuestos que se transforman in vivo proporcionando el compuesto de la presente invención. La transformación puede ocurrir por diversos mecanismos, como por medio de hidrólisis en sangre.
10 Una buena descripción del uso de profármacos se proporciona en T. Higuchi and W. Stella, "Pro-drugs as Novel Delivery Systems", Vol. 14 de la *A.C.S. Symposium Series*, y en *Bioreversible Carriers in Drug Design*, ed. Edward B. Roche, American Pharmaceutical Association and Pergamon Press, 1987.

15 Por ejemplo, si un compuesto de la presente invención contiene un grupo funcional ácido carboxílico, un profármaco puede comprender un éster formado por la sustitución del átomo de hidrógeno del grupo ácido por un grupo como alquilo (C_1-C_8), alcanoiloxi (C_2-C_{12})metilo, 1-(alcanoiloxi)etilo de 4
20 a 9 átomos de carbono, 1-metil-1-(alcanoiloxi)etilo de 5 a 10 átomos de carbono, alcoxicarboniloximetilo de 3 a 6 átomos de carbono, 1-(alcoxicarboniloxi)etilo de 4 a 7 átomos de carbono, 1-metil-1-(alcoxicarboniloxi)etilo de 5 a 8 átomos de carbono, N-(alcoxicarbonil)aminometilo de 3 a 9 átomos de
25 carbono, 1-(N-(alcoxicarbonil)amino)etilo de 4 a 10 átomos

de carbono, 3-ftalidilo, 4-crotonolactonilo, gamma-butirolacton-4-ilo, di-N,N-(alquil C₁-C₂)amino(alquilo C₂-C₃) (como β -dimetilaminoetilo), carbamoilalquilo (C₁-C₂), N,N-di(alquil(C₁-C₂)carbamoilalquilo (C₁-C₂) y piperidino-,
5 pirrolidino- o morfolinoalquilo (C₂-C₃).

De forma similar, si un compuesto de la presente invención comprende un grupo funcional alcohol, puede formarse un profármaco reemplazando el átomo de hidrógeno del grupo alcohol por un grupo como alcanoiloxi(C₁-C₆)metilo, 1-
10 (alcanoiloxi C₁-C₆)etilo, 1-metil-1-(alcanoiloxi C₁-C₆)etilo, (alcoxi C₁-C₆)carboniloximetilo, N-(alcoxi C₁-C₆)carbonilaminometilo, succinóilo, alcanóilo (C₁-C₆), α -aminoalcanóilo (C₁-C₄), arilacilo y α -aminoacilo o α -aminoacil- α -aminoacilo, seleccionándose cada grupo α -
15 aminoacilo independientemente de los L-aminoácidos de origen natural, P(O)(OH)₂, -P(O)(O(alquilo C₁-C₆))₂ o glicosilo (el radical resultante de la eliminación de un grupo hidroxilo de la forma hemiacetal de un carbohidrato).

Si un compuesto de la presente invención comprende un
20 grupo funcional amino, se puede formar un profármaco reemplazando un átomo de hidrógeno del grupo amino por un grupo como R^X-carbonilo, R^XO-carbonilo, NR^XR^X-carbonilo, siendo cada uno de R^X y R^X independientemente alquilo C₁-C₁₀, cicloalquilo C₃-C₇, bencilo o R^X-carbonilo es un α -aminoacilo
25 natural o α -aminoacilo natural- α -aminoacilo natural, -

-61-

C(OH)C(O)OY^x, (siendo Y^x H, alquilo C₁-C₆ o bencilo), -
C(OY^{x0})Y^{x1}, siendo Y^{x0} alquilo C₁-C₄ y siendo Y^{x1} alquilo C₁-C₆,
carboxialquilo C₁-C₆, aminoalquilo C₁-C₄ o mono-N- o di-N,N-
(alquil C₁-C₆)aminoalquilo, -C(Y^{x2})Y^{x3}, siendo Y^{x2} H o metilo e
5 Y^{x3} mono-N-o di-N,N-(alquil C₁-C₆)amino, morfolino, piperidin-
1-ilo o pirrolidin-1-ilo.

Tal y como se usa en la presente memoria, el término
"cantidad eficaz" significa una cantidad de compuesto de los
procedimientos de la presente invención que puede tratar los
10 síntomas de las afecciones patológicas descritos. La dosis
específica de un compuesto administrado conforme a esta
invención se determinará, por supuesto, por las
circunstancias particulares que rodeen cada caso, incluyendo,
por ejemplo, el compuesto administrado, la vía de
15 administración, el estado del paciente y la gravedad de la
afección patológica que se trate.

Ventajosamente, la presente invención proporciona
también estuches para uso por un consumidor para reducir la
morbilidad cardiovascular y el riesgo de mortalidad en
20 sujetos de ambos sexos o la morbilidad y/o el riesgo de
mortalidad en mujeres postmenopáusicas debido a los efectos
combinados de la enfermedad cardiovascular, el cáncer de mama
y la osteoporosis. Los estuches comprenden a) una composición
farmacéutica que comprende un agonista/antagonista de
25 estrógeno y un excipiente, vehículo o diluyente

farmacéuticamente aceptable; y b) instrucciones que describen un procedimiento de uso de la composición farmacéutica para reducir la morbilidad cardiovascular y el riesgo de mortalidad en sujetos de ambos sexos o la morbilidad y/o el riesgo de mortalidad en mujeres postmenopáusicas debido a los efectos combinados de la enfermedad cardiovascular, el cáncer de mama y la osteoporosis. Las instrucciones pueden indicar también que el estuche es para reducir la morbilidad cardiovascular y el riesgo de mortalidad en sujetos de ambos sexos o la morbilidad y/o el riesgo de mortalidad en mujeres postmenopáusicas debido a los efectos combinados de la enfermedad cardiovascular, el cáncer de mama y la osteoporosis, reduciendo al mismo tiempo la posibilidad concomitante de efectos adversos asociados a la administración de estrógenos.

"Estuche", tal y como se utiliza en la presente solicitud, incluye un envase para contener las composiciones separadas tal como un frasco dividido o un envase de lámina metálica dividido. El envase puede estar en cualquier configuración o forma como las conocidas en la técnica que se fabrican con un material farmacéuticamente aceptable, por ejemplo una caja de papel o cartón, un frasco o un tarro de plástico o vidrio, una bolsa que puede cerrarse herméticamente repetidas veces (por ejemplo para mantener un "recambio" de comprimidos para colocar en un envase

diferente), o un envase blíster con dosis individuales que se extraen presionando el envase según una programación terapéutica. El envase utilizado puede depender de la forma de dosificación exacta implicada, por ejemplo una caja de
5 cartón convencional no sería generalmente adecuada para mantener una suspensión líquida. Es factible que puedan utilizarse más de un envase juntos en un único paquete para comercializar una forma de dosificación simple. Por ejemplo, los comprimidos pueden estar contenidos en un frasco que está
10 a su vez contenido en una caja.

Un ejemplo de dicho estuche es el denominado envase blíster. Los envases blíster son bien conocidos en la industria del envasado y se usan ampliamente para envasar formas de dosificación unitarias farmacéuticas (comprimidos,
15 cápsulas y similares). Los envases blíster están formados por lo general por una lámina de material relativamente rígido cubierta con una delgada hoja de un material plástico, preferiblemente transparente. Durante el procedimiento de envasado, se conforman unos alveolos en la hoja delgada de
20 plástico. Los alveolos tienen el tamaño y la forma de los comprimidos o cápsulas a envasar o pueden tener el tamaño y forma necesario para alojar varios comprimidos y/o cápsulas. A continuación, se colocan en los alveolos los comprimidos o cápsulas y se sella la lámina de material relativamente
25 rígido a la hoja delgada de plástico por la cara de la hoja

opuesta a la dirección en que se han conformado los alveolos. Como resultado, los comprimidos o cápsulas quedan, individual o colectivamente, según se desee, herméticamente cerrados en los alveolos entre la hoja delgada de plástico y la lámina.

5 Con preferencia, la resistencia de la lámina es tal que los comprimidos o cápsulas se pueden extraer del envase blíster aplicando una presión manual sobre los alveolos, mediante la cual se practica una abertura en la lámina en la posición donde se encuentra el alveolo. El comprimido o cápsula pueden

10 extraerse entonces a través de dicha abertura.

Puede ser deseable proporcionar un recordatorio escrito en el estuche, siendo el recordatorio escrito del tipo que contiene información y/o instrucciones para el médico, farmacéutico o paciente, por ejemplo, en forma de números

15 próximos a los comprimidos o cápsulas, de forma que los números correspondan a los días de la pauta de administración en la que deben ingerirse los comprimidos o cápsulas especificados o una tarjeta que contenga la misma información. Otro ejemplo de dicho recordatorio es un

20 calendario impreso en la tarjeta, por ejemplo, tal como sigue" Primera semana, Lunes, Martes...", y así sucesivamente. "Segunda semana, Lunes, Martes...", y así sucesivamente". Serán evidentes otras variaciones de recordatorio. Una "dosis diaria" puede ser un único

25 comprimido o cápsula o varios comprimidos o cápsulas que se

247 ~~2~~
2

-65-

deben tomar en un día dado. Cuando el estuche contenga composiciones separadas, una dosis diaria de una o más composiciones del estuche puede consistir en un comprimido o cápsula, mientras que una dosis diaria de otra o más composiciones puede consistir en varios comprimidos o cápsulas.

Otra realización preferida de un estuche es un dispensador diseñado para dispensar las dosis diarias en cada momento en el orden de su uso deseado. Con preferencia, el dispensador está dotado de un recordatorio, para facilitar el cumplimiento de la pauta de dosificación. Un ejemplo de dicho recordatorio es un contador mecánico que indique el número de dosis diarias que se han dispensado. Otro ejemplo de dicho recordatorio es una memoria de microprocesador que funcione a pilas acoplada a una pantalla de cristal líquido, o una señal de recuerdo audible que, por ejemplo, muestre la fecha en que se ha tomado la última dosis y/o recuerde cuando debe tomarse la dosis siguiente.

Basándose en la lectura de la presente descripción y reivindicaciones, resultarán evidentes para los expertos en la técnica ciertas modificaciones de las composiciones y procedimientos descritos en la presente. Se pretende que las reivindicaciones adjuntas a la presente memoria incluyan estas modificaciones.

Todas las referencias y patentes citadas en la presente

248 ~~8/11~~
C

-66-

se incorporan como referencia.

EJEMPLOS

Ejemplo 1: Unión del receptor de estrógenos

Se midió la afinidad de unión de estrógenos y
5 agonista/antagonista de estrógenos mediante el siguiente
protocolo:

Clonación de cDNA de ER α humano: Se clonó la región de
codificación de ER α humano por RT-PCR de mRNA de células de
cáncer de mama humanas utilizando Expand™ High Fidelity PCR
10 System según las instrucciones del fabricante (Boehringer-
Mannheim, Indianápolis, IN). Se clonaron los productos de PCR
en pCR2.1 TA Cloning Kit (Invitrogen, Carlsbad, CA) y se
secuenciaron. Se subclonó cada región de codificación de
receptor en el vector de expresión de mamíferos pcDNA3
15 (Invitrogen, Carlsbad, CA).

Expresión en células de mamífero: Se sobreexpresaron
proteínas receptoras en células 293T. Estas células,
derivadas de células HEK293 (ATCC, Manassas, VA), se han
modificado genéticamente para expresar de forma estable el
20 antígeno T mayor y poder por lo tanto replicar plásmidos que
contienen un origen de replicación SV40 a números elevados
de copias. Las células 293T se transfectaron con hER α -pcDNA3
o hER β -pcDNA3 utilizando lipofectamina como describe el
fabricante (Gibco/BRL, Bethesda, MD). Se recogieron las
25 células en suero salino tamponado con fosfato (PBS) con EDTA

249 ~~249~~
2

-67-

0,5 mM 48 horas después de la transfección. Se lavaron los sedimentos celulares una vez con PBS/EDTA. Se prepararon lisados de células enteras por homogeneización en tampón TEG (Tris 50 mM, pH 7,4, EDTA 1,5 mM, NaCl 50 mM, glicerol al 10%, DTT 5 mM, aprotinina 5 µg/ml, leupeptina 10 µg/ml, Pefabloc 0,1 mg/ml), utilizando un homogeneizador Dounce. Se centrifugaron los extractos a 100.000 x g durante 2 horas a 4°C y se recogieron los sobrenadantes. Se determinaron las concentraciones de proteína total utilizando un reactivo BioRad (BioRad, Hercules, CA).

Ensayo de unión competitiva: Se midió la capacidad de diversos compuestos para inhibir la unión de [³H]-estradiol mediante un ensayo de unión competitiva utilizando carbón recubierto con dextrano como se ha descrito (Leake R.E., Habib F., 1987 Steroid Hormone receptors: assay and characterization en: B. Green y R.E. Leake (eds). Steroid Hormones, a Practical Approach. IRL Press Ltd, Oxford, 67-92). Los extractos de células 293T que expresaban hERα o hERβ se incubaron en presencia de concentraciones crecientes del compuesto a ensayar y una concentración fija de [³H]-estradiol (141 µCi/mmol, New England Nuclear, Boston, MA) en TrisHCl 50 mM, pH 7,4, EDTA 1,5 mM, NaCl 50 mM, glicerol al 10%, DTT 5 mM, β-lactoglobulina 0,5 mg/ml en un volumen final de 0,2 ml. Se disolvieron todos los compuestos a ensayar en dimetilsulfóxido. La concentración final del receptor fue 50

250 

-68-

PM con [^3H]-estradiol 0,5 nM. Después de 16 horas a 4°C, se añadió el carbón recubierto con dextrano (20 μl). Después de 15 minutos a temperatura ambiente, se eliminó el carbón por centrifugación y se midió el ligando radiactivo presente en
5 el sobrenadante por recuento de centelleo. Todos los reactivos se obtuvieron de Sigma (St. Louis. MO) a menos que se indique otra cosa.

Se midieron la afinidad de unión del (-)-cis-6-fenil-5-[4-(2-pirrolidin-1-iletoxi)fenil]-5,6,7,8-tetrahidronaftalen-
10 2-ol (PPTN) y del 17 β -estradiol utilizando receptor de estrógeno humano (ER) recombinante. La figura 1 muestra los resultados del experimento de unión en el que se encontró que la unión de PPTN era similar a la de 17 β -estradiol.

Ejemplo 2: Inhibición in vitro del crecimiento de células
15 tumorales de mama humanas.

Se ensayaron los efectos antiproliferativos in vitro del (-)-cis-6-fenil-5-[4-(2-pirrolidin-1-iletoxi)fenil]-5,6,7,8-tetrahidronaftalen-2-ol (PPTN) utilizando dos tipos de líneas celulares humanas de cáncer de mama: en primer lugar, células
20 MCF-7, que contenían ER, así como receptores de progesterona (PgR), y en segundo lugar, células MDA-MB-231, que carecían de ER y PgR y posibilitaban la determinación de un efecto que es independiente del mecanismo ER. El efecto de PPTN sobre el crecimiento de estas diferentes líneas celulares se
25 determinó por incubación de las células a diversas

251 / 2

-69-

concentraciones de compuesto durante 6 días.

Se determinaron entonces los efectos antiproliferativos por recuento directo de células. El PPTN inhibió el crecimiento de la línea celular MCF-7 ER positiva. La IC₅₀ para la inhibición del crecimiento era aproximadamente de 3 a 5 x 10⁻¹¹ M. En las líneas celulares MDA-MB-231 ER negativas, el compuesto no inhibió la proliferación celular. Estos resultados indican que la inhibición del crecimiento era específica de ER y no debida a la citotoxicidad, ya que el compuesto no tenía un efecto medible sobre la línea celular ER negativa.

Ejemplo 3: Efecto del (-)-cis-6-fenil-5-[4-(2-pirrolidin-1-iletoxi)fenil]-5,6,7,8-tetrahidronaftalen-2-ol (PPTN) en el Modelo de Rata Ovariectomizada: Un Modelo de Osteoporosis Postmenopáusica.

En mujeres, la deficiencia de estrógenos durante la menopausia da como resultado un mayor recambio óseo que conduce a una pérdida ósea. La ovariectomía en ratas produce una deficiencia de estrógenos y una recambio óseo aumentada que conduce a una pérdida ósea trabecular similar a la observada en mujeres postmenopáusicas (Kalu, D.N., Bone and Mineral 1991, 15:175, Frost, H.M., Jee, W.S.S., Bone and Mineral 1992, 18:227, Wronski, T.J., Yen, C-F, Cells Materials 1991, (supl. 1):69). Las ratas OVX son pues un modelo apropiado para evaluar los compuestos para la

252 ~~2~~

prevención y tratamiento de la osteoporosis postmenopáusica. La capacidad del PPTN de inhibir la pérdida ósea por deficiencia de estrógenos fue evaluada en ratas OVX de 5 meses de edad, ya que la ovariectomía produce pérdidas óseas 5 significativas en las vértebras lumbares, tibia proximal y metáfisis femoral distal (Ke, H.Z., et al., Endocrin 1995, 136:2435, Chen, H.K., et al., J. Bone Miner. Res. 1995, 10:1256).

Se trataron ratas hembra OVX de cinco meses de edad con 10 PPTN en dosis orales de 0,733, 7,33, 73,3 y 733 $\mu\text{g/kg/día}$, o con 17α -etinilestradiol (EE) a 30 $\mu\text{g/kg/día}$ (10 ratas por subgrupo) diariamente durante 4 semanas. El tratamiento oral empezó 1 día después de la cirugía. Un grupo de ratas ovariectomizadas de forma simulada tratadas con vehículo 15 (n=10) y ratas OVX tratadas con vehículo (n=10) sirvieron como controles. Se inyectó calceína a 10 mg/kg subcutáneamente a todas las ratas 12 y 2 días antes de la autopsia como marcador óseo fluorocrómico para medir los parámetros histomorfométricos dinámicos óseos. Se 20 determinaron los efectos del PPTN sobre los siguientes objetivos: (a) osteocalcina en suero, un marcador bioquímico de la recambio óseo, (b) densidad mineral ósea de las vértebras lumbares y metáfisis femoral distal, (c) histomorfometría ósea del quinto cuerpo vertebral lumbar y 25 metáfisis tibial proximal.

Se determinó la concentración de osteocalcina por radioinmunoensayo. Cuatro semanas después de la cirugía, la concentración de osteocalcina aumentó significativamente en un 85% de los controles OVX tratados con vehículo, comparado con los controles simulados tratados con vehículo. Este aumento se previno completamente por tratamiento con PPTN a dosis $\geq 7,33 \mu\text{g/kg/día}$, o por tratamiento con EE. Por lo tanto, $7,33 \mu\text{g/kg/día}$ tanto de PPTN como de EE previnieron el aumento de la concentración de osteocalcina inducida por deficiencia de estrógenos en rata. Estos datos sugieren que el PPTN inhibe la recambio óseo inducida por deficiencia de estrógenos.

Se extrajeron de la primera a la sexta vértebras lumbares de cada rata durante la autopsia. Estas se exploraron ex vivo utilizando absorciometría de rayos X de doble energía. Se analizaron las imágenes de barrido y se determinaron el área ósea, el contenido mineral óseo (BMC) y la densidad mineral ósea (BMD) de las vértebras lumbares (WLV) y de LV1 a LV6. Las áreas óseas de WLV y de LV1 a LV6 no difirieron entre los grupos. Los cambios del BMC fueron similares a los observados para la BMD. Además, los cambios de la BMD de las WLV fueron idénticos a los observados en cada una de las seis vértebras. Por lo tanto, sólo se comunican los cambios en las vértebras lumbares completas.

Después de la ovariectomía con tratamiento con vehículo,

se encontró una reducción significativa de la BMD de las vértebras lumbares 4 semanas después de la ovariectomía. El PPTN a todos los niveles de dosis y el EE previnieron totalmente la reducción de la BMD vertebral lumbar. Además, la BMD en ratas OVX tratadas con 73,3 $\mu\text{g/kg/día}$ de PPTN aumentó significativamente comparada con los controles simulados y OVX. Estos datos indican que PPTN a dosis tan bajas como 0,733 $\mu\text{g/kg/día}$ prevenía completamente la pérdida ósea vertebral lumbar inducida por deficiencia de estrógenos.

10 Para comprender el mecanismo celular de los efectos de protección ósea del PPTN en los tejidos, se utilizaron procedimientos histomorfométricos para determinar los efectos de PPTN sobre hueso esponjoso del quinto cuerpo vertebral lumbar en ratas OVX. La ovariectomía produjo reducciones

15 significativas del volumen óseo trabecular (área ósea trabecular dividida entre el área de espacio de la médula, expresado en porcentaje) y del número trabecular, y un aumento significativo de la separación trabecular del quinto cuerpo vertebral lumbar. Estos cambios inducidos por la

20 ovariectomía fueron completamente prevenidos por el tratamiento con todas las dosis de PPTN y EE. Además, el número trabecular aumentó significativamente en ratas OVX tratadas con EE o con PPTN a 73,3 o 733 $\mu\text{g/kg/día}$ comparado con los controles simulados. Estos datos revelaron que el

25 PPTN es un agente de protección ósea en ratas deficientes en

255
25

-73-

estrógenos. La DE_{50} de PPTN en la prevención de la masa y estructura ósea esponjosa vertebral lumbar en ratas OVX era menor de 0,733 $\mu\text{g/kg/día}$.

Se encontró un aumento significativo del porcentaje de superficie erosionada (+59%), un índice de resorción ósea osteoclástica, en ratas OVX tratadas con vehículo en comparación con los controles simulados tratados con vehículo. De manera similar al EE, el PPTN a todos los niveles de dosis redujo significativamente el porcentaje de superficie erosionada en ratas OVX en comparación con los controles simulados. Por lo tanto, el PPTN previno la pérdida ósea en ratas OVX por inhibición de la resorción ósea asociada a la deficiencia de estrógenos.

La ovariectomía dio como resultado un aumento significativo de la tasa de formación de hueso (BFR, cantidad de formación de hueso por unidad de superficie ósea), un índice del recambio óseo, mientras que el EE y el PPTN a todos los niveles de dosis inhibieron este aumento.

La tasa de recambio óseo aumentó significativamente en ratas OVX tratadas con vehículo en comparación con los controles simulados tratados con vehículo. La tasa de recambio óseo en ratas OVX tratadas con PPTN o EE no difería de los controles simulados, indicando que el PPTN a todos los niveles de dosis y el EE prevenían completamente el aumento de la recambio óseo asociada a la deficiencia de estrógenos.

En resumen, el PPTN prevenía la pérdida ósea vertebral lumbar por inhibición de la resorción ósea y de la renovación ósea asociada a la deficiencia de estrógenos de una manera no distinguible del estrógeno. La DE_{50} de PPTN en la
5 conservación de hueso trabecular en este modelo era menor de $0,733 \mu\text{g/kg/día}$.

Utilizando absorciometría de rayos X de doble energía, se exploró el fémur derecho de cada rata ex vivo. Se determinaron la densidad mineral ósea (BMD) de las metáfisis
10 femorales distales (los 0,5 cm del extremo distal del fémur) y el fémur proximal (los primeros 0,5 cm del extremo proximal del fémur, que contiene la cabeza, el cuello y el trocánter mayor).

Cuatro semanas después de la ovariectomía en ratas
15 tratadas con vehículo, la BMD de las metáfisis femorales distales y fémures proximales se redujo significativamente. el EE previno la reducción de la BMD en las metáfisis femorales distales, pero no tuvo efecto en la BMD femoral proximal. En ratas OVX tratadas con PPTN a $0,733$ o $7,33$
20 $\mu\text{g/kg/día}$, la BMD de las metáfisis femorales distales y el fémur proximal no difería de los controles OVX. Sin embargo, el PPTN a $73,3$ y $733 \mu\text{g/kg/día}$ prevenía completamente la reducción de la BMD de las metáfisis femorales distales y del fémur proximal en ratas OVX.

25 Para determinar el efecto del PPTN sobre las metáfisis

257 

-75-

de huesos largos, se realizaron análisis histomorfométricos en la tibia proximal. El volumen óseo trabecular se redujo significativamente en controles OVX tratados con vehículo en comparación con los controles simulados. El PPTN a dosis $\geq$ 7,33 $\mu\text{g/kg/día}$ tenía un efecto sobre el volumen óseo trabecular significativamente mayor en comparación con los controles OVX. A 0,733 $\mu\text{g/kg/día}$, el PPTN no tuvo un efecto significativo sobre el volumen óseo trabecular. La DE_{50} de PPTN en la conservación de la masa ósea trabecular tibial proximal en ratas OVX estaba entre 0,733 y 7,33 $\mu\text{g/kg/día}$.

Se encontraron aumentos significativos de los índices de resorción ósea osteoclástica (número de osteoclastos por milímetro de superficie de hueso y porcentaje de superficie de osteoclasto) en ratas OVX tratadas con vehículo en comparación con los controles simulados tratados con vehículo. De manera similar al EE, el PPTN a niveles de dosis de 7,33, 73,7 y 733 $\mu\text{g/kg/día}$ redujo significativamente el número de osteoclastos por milímetro de superficie ósea y porcentaje de superficie de osteoclasto, comparado con los controles simulados y OVX. Además, el porcentaje de superficie de osteoclasto se redujo significativamente en ratas OVX tratadas con PPTN a 0,733 $\mu\text{g/kg/día}$ comparado con los controles OVX.

La ovariectomía aumentó significativamente la tasa de recambio óseo en hueso trabecular tibial proximal en

comparación con los controles simulados tratados con vehículo. La tasa de recambio óseo en ratas OVX tratadas con PPTN o EE no difería de la de los controles simulados, con la excepción del PPTN a una dosis de 0,733 $\mu\text{g/kg/día}$,
5 indicando que el PPTN a dosis de 7,33 a 733 $\mu\text{g/kg/día}$ prevenía el aumento en recambio óseo asociado a la deficiencia de estrógenos y la mantenía a los niveles del control simulado.

En resumen, el PPTN tenía efectos similares en la
10 conservación de la densidad mineral ósea y del volumen óseo trabecular tanto en tibia proximal como en vértebras lumbares. La discrepancia entre vértebras lumbares y tibia proximal en la respuesta a la administración de el PPTN se encontró sólo a 0,733 $\mu\text{g/kg/día}$, lo que indicaba que PPTN a
15 0,733 $\mu\text{g/kg/día}$ prevenía completamente la pérdida ósea en vértebras lumbares y no conseguía hacerlo en tibia proximal. Por lo tanto, la DE_{50} de PPTN en la conservación de masa ósea esponjosa y en la inhibición de la resorción ósea era menor de 0,733 $\mu\text{g/kg/día}$ en vértebras lumbares y entre 0,733 y 73,3
20 $\mu\text{g/kg/día}$ en tibia proximal.

Ejemplo 4: Formación de Óxido Nítrico por Células Endoteliales Cultivadas

Se valora la formación de NO determinando el GMP cíclico intracelular en células endoteliales cultivadas, mientras que
25 la liberación de NO de estas células se mide por el efecto

estimulador del NO sobre la actividad de la guanilil ciclasa soluble (Lückhoff, et al., Br J Pharmacol, 95:189, 1988; Wiemer, et al., Hypertension, 18:558, 1991; Linz, et al., J Mol Cell Cardiol, 24:909, 1992).

5 Se obtiene aorta bovina y porcina y se aíslan las células endoteliales por digestión con dispasa. Las células se siembran en placas de 6 o de 24 pocillos y se desarrollan hasta la confluencia. Se suplementa medio Eagle modificado de Dulbecco/medio F-12 de Ham que contenía suero de ternero fetal al 20% con penicilina (10 U/ml), estreptomicina (10
10 mg/ml), L-glutamato (1 mM/l), glutatión (5 mg/ml) y ácido L-(+)-ascórbico (5 mg/ml).

Se usan cultivos primarios de células endoteliales. Después de retirar el medio de cultivo por aspiración, se
15 lava la monocapa dos veces con 2 ml de solución HEPES-Tyrode (37°C). Seguidamente, las células se preincuban durante 15 minutos a 37°C con 3-isobutil-1-metil-xantina (IBMX) (10^{-4} M). Después de este tiempo, se añaden los compuestos o disolventes. Después de períodos de tiempo predeterminados,
20 se retira rápidamente el medio de incubación. Las células se extraen inmediatamente con 0,6 ml de ácido tricloroacético al 6% y se despegan por raspado con una espátula de goma. La suspensión celular se somete a ultrasonidos durante 10 segundos antes de centrifugarla durante 5 minutos a 4.000 g.
25 Los líquidos sobrenadantes se extraen con cuatro volúmenes

260 22

de éter dietílico acuoso saturado y las muestras se congelan (-20°C) hasta su análisis. El contenido en proteínas de la muestra se mide según Lowry et al., (J Biol Chem, 193:265, 1951). El GMP cíclico se puede determinar en las muestras acetiladas por diversos métodos (Heath et al., Which Cyclic GMP Assay?, en Moncada, S., et al., (eds) The Biology of Nitric Oxide: 2 Enzymology, Biochemistry and Immunology. Portland Press, Londres, página 98, 1992), por ejemplo, usando un radioinmunoensayo disponible de forma comercial (New England Nuclear). El contenido de GMP cíclico se expresa como picomoles de GMP por miligramo de proteína.

La liberación de NO de las células endoteliales se ensaya en base al efecto estimulador del NO sobre la actividad de la guanilil ciclase soluble (purificada a partir de pulmón bovino) (Gerzer, et al., Eur J Biochem 116:479, 1981). La actividad de la enzima se determina en términos de la formación de [³²P]GMP cíclico a partir de α[³²P]GMP. Las reacciones se llevan a cabo en una mezcla de reacción que contiene trietanolamina 30 mM, HCl (pH 7,4), glutatión reducido 1 mM, MgCl₂ 4 mM, cGMP 1 mM y 0,1 mg/ml de g-globulina bovina (volumen total de 0,18 ml) a 37°C en presencia de α[³²P]GMP (0,03 mM; 0,2 mCi) y guanilil ciclase soluble (4 mg). Se traspasan rápidamente muestras de diez mililitros a la mezcla de reacción. La formación enzimática de cGMP se deja proceder durante 60 segundos y luego se

interrumpe mediante la adición de 450 ml de acetato de cinc (120 mM) y 500 ml de carbonato sódico (120 mM). Se puede conseguir una inhibición total de la formación de cGMP mediante una incubación previa de las monocapas durante 30 minutos con el inhibidor estereoespecífico de la NO sintasa, N^G-nitro-L-arginina.

Se obtienen curvas de tiempo-respuesta y de dosis-respuesta después de la adición de agonistas/antagonistas de estrógenos de la presente invención. Los datos se expresan como valores medios + SEM de cGMP (pmol/mg de proteína) o como actividad de la guanilil ciclasa (nmol/mg/min).

Ejemplo 5: Morbilidad y Riesgo de Mortalidad en Enfermedad Cardiovascular Estable

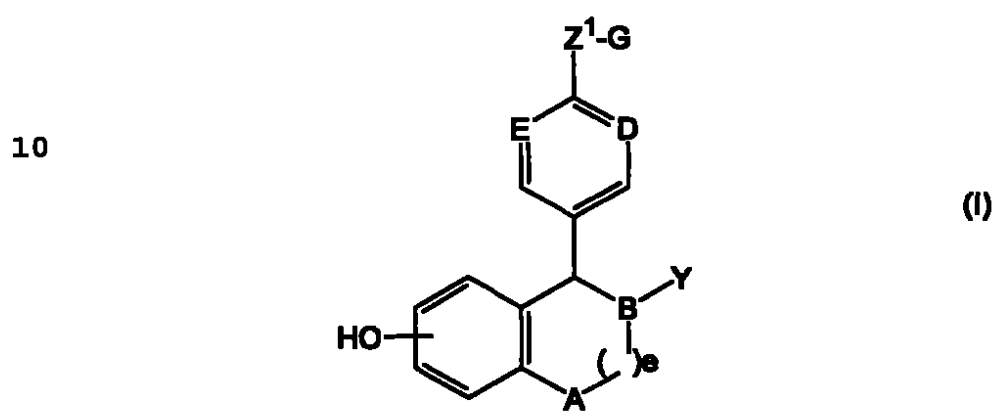
Se valoran los efectos de los agonistas/antagonistas de estrógenos para reducir la morbilidad y/o el riesgo de mortalidad cardiovascular en una población de riesgo utilizando medidas de electrocardiograma (ECG) como punto final. La presencia de isquemia de miocardio, evidenciada por el ECG, es un dato predictivo independiente no invasivo de episodios clínicos adversos en pacientes con enfermedad coronaria estable (CAD). La presencia de depresión en el segmento ST en el ECG de reposo predice una mayor morbilidad y mortalidad (Chaitman, B.R., et al., J Am Coll Cardiol 1995; 26:585; Stone, P.H., et al., Am J Cardiol 1997;80:1395). El desarrollo de depresión en el segmento ST inducida por

esfuerzo es el marcador no invasivo convencional de un mal pronóstico y sirve como guía clínica fundamental para identificar la necesidad de angiografía coronaria y revascularización de pacientes con CAD. Los episodios de
5 depresión del segmento ST durante las actividades de la vida diaria, identificadas por el control del ECG ambulatorio (Holter) proporciona una información de pronóstico adicional. En un estudio clínico al azar doble ciego, pacientes de riesgo recibieron un agonista/antagonista de estrógenos o
10 placebo. El ECG se controla de forma continua por un control Holter o mediante medidas del ECG diarias o periódicas. Una eliminación o reducción significativa de la depresión del segmento ST en los pacientes que reciben agonista/antagonista de estrógenos indica una reducción posible de la morbilidad
15 y/o el riesgo de mortalidad cardiovascular.

Habiendo descrito la invención como antecede, se declara como propiedad lo contenido en las siguientes

REIVINDICACIONES

1. Un procedimiento para reducir la morbilidad y/o el riesgo de mortalidad que comprende: administrar a un sujeto que lo necesite una cantidad eficaz de un compuesto de fórmula (I):



en la que

A se selecciona de CH₂ y NR;

B, D y E se seleccionan independientemente de CH y N;

Y es

20 (a) fenilo, opcionalmente sustituido con de 1 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente de R⁴;

(b) naftilo, opcionalmente sustituido con de 1 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente de R⁴;

25 (c) cicloalquilo C₃-C₈, opcionalmente sustituido con 1 a 2 sustituyentes seleccionados independientemente de R⁴;

264 267

(d) cicloalqueno C_3-C_8 , opcionalmente sustituido con 1 a 2 sustituyentes seleccionados independientemente de R^4 ;

(e) un heterociclo de cinco miembros que contiene hasta dos heteroátomos seleccionados del grupo formado por -O-, -NR²- y -S(O)_n-, opcionalmente sustituido con de 1 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente de R^4 ;

(f) un heterociclo de seis miembros que contiene hasta dos heteroátomos seleccionados del grupo formado por -O-, -NR²- y -S(O)_n-, opcionalmente sustituido con de 1 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente de R^4 ; o

(g) un sistema de anillo bicíclico que comprende un anillo heterocíclico de cinco o seis miembros condensado con un anillo de fenilo, conteniendo el citado anillo heterocíclico hasta dos heteroátomos seleccionados del grupo formado por -O-, -NR²- y -S(O)_n-, opcionalmente sustituido con de 1 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente de R^4 ;

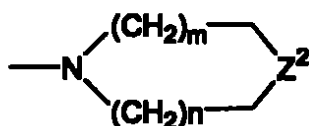
Z¹ es

- (a) $-(CH_2)_pW(CH_2)_q-$;
- (b) $-O(CH_2)_pCR^5R^6-$;
- (c) $-O(CH_2)_pW(CH_2)_q-$;
- (d) $-OCHR^2CHR^3-$; o
- (e) $-SCHR^2CHR^3-$;

G es

265 ~~2~~

(a) $-NR^7R^8$;



5

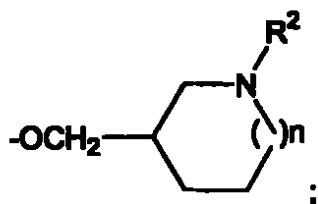
(b)

en la que n es 0, 1 ó 2; m es 1, 2 ó 3; Z^2 es $-NH-$, $-O-$, $-S-$ o $-CH_2-$; opcionalmente condensado sobre átomos de carbono adyacentes con uno o dos anillos de fenilo y, opcionalmente, sustituido de forma independiente en el carbono con uno a tres sustituyentes y, opcionalmente, de forma independiente en el nitrógeno con un sustituyente químicamente adecuado seleccionado de R^4 ; o

(c) una amina bicíclica que contiene de cinco a doce átomos de carbono, con los anillos unidos mediante un puente o condensados y opcionalmente sustituidos con de 1 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente de R^4 ; o

Z^1 y G combinados pueden ser

20



W es

(a) $-CH_2-$;

(b) $-CH=CH-$;

25

(c) $-O-$;

266 ~~272~~

(d) $-NR^2-$;

(e) $-S(O)_n-$;

5

(f) $\begin{array}{c} O \\ || \\ -C- \end{array}$;

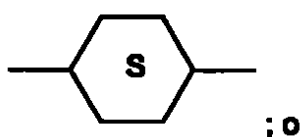
(g) $-CR^2(OH)-$;

(h) $-CONR^2-$;

(i) $-NR^2CO-$;

(j)

10



(k) $-C=C-$;

R es hidrógeno o alquilo C_1-C_6 ;

15

R^2 y R^3 son independientemente

(a) hidrógeno; o

(b) alquilo C_1-C_4 ;

R^4 es

20

(a) hidrógeno;

(b) halógeno;

(c) alquilo C_1-C_6 ;

(d) alcoxi C_1-C_4 ;

(e) aciloxi C_1-C_4 ;

(f) alquil(C_1-C_4)tio;

25

(g) alquil(C_1-C_4)sulfinilo;

(h) alquil(C_1-C_4)sulfonilo;

267 ~~267~~
267

-85-

- (i) hidroxialquilo C_1-C_4 ;
(j) arilalquilo C_1-C_4 ;
(k) $-CO_2H$;
(l) $-CN$;
5 (m) $-CONHOR$;
(n) $-SO_2NHR$;
(o) $-NH_2$;
(p) alquil (C_1-C_4) amino;
(q) dialquil (C_1-C_4) amino;
10 (r) $-NHSO_2R$;
(s) $-NO_2$;
(t) -arilo; o
(u) $-OH$;

R^5 y R^6 son independientemente alquilo C_1-C_8 o forman
15 conjuntamente un anillo carbocíclico C_3-C_{10} ;

R^7 y R^8 son independientemente

- (a) fenilo;
(b) un anillo carbocíclico C_3-C_{10} , saturado o
insaturado;
20 (c) un anillo heterocíclico C_3-C_{10} que contiene
hasta dos heteroátomos seleccionados de $-O-$, $-N-$ y $-S-$;
(d) H ;
(e) alquilo C_1-C_6 ; o
(f) forman un anillo de 3 a 8 miembros que contiene
25 nitrógeno con R^5 o R^6 ;

R^7 y R^8 en forma lineal o de anillo pueden estar opcionalmente sustituidos con hasta tres sustituyentes seleccionados independientemente de alquilo C_1-C_6 , halógeno, alcoxí, hidroxí y carboxí;

5 un anillo formado por R^7 y R^8 puede estar opcionalmente condensado con un anillo de fenilo;

e es 0, 1 ó 2;

m es 1, 2 ó 3;

n es 0, 1 ó 2;

10 p es 0, 1, 2 ó 3;

q es 0, 1, 2 ó 3;

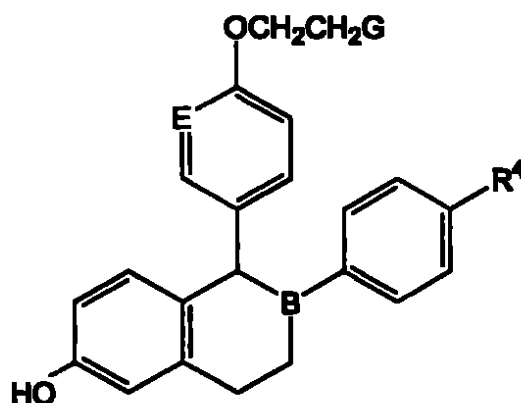
o uno de los isómeros ópticos y geométricos del mismo;

o una sal de adición de ácidos, N-óxido, éster, sal de amonio cuaternaria o un profármaco del mismo no tóxico y
15 farmacéuticamente aceptable.

2. Un procedimiento según la reivindicación 1, en el que el agonista/antagonista de estrógenos es un compuesto de fórmula (IA):

20

25



(IA)

en la que G es



5

R^4 es H, OH, F o Cl; y B y E se seleccionan independientemente de CH y N o uno de sus isómeros ópticos o geométricos; o una sal de adición de ácidos, N-óxido, éster, sal de amonio cuaternaria o un profármaco del mismo
 10 no tóxico y farmacéuticamente aceptable.

3. Un procedimiento según la reivindicación 1, en el que el agonista/antagonista de estrógenos es un miembro del grupo formado por:

cis-6-(4-fluorofenil)-5-[4-(2-piperidin-1-il-etoxi)-
 15 fenil]-5,6,7,8-tetrahidro-naftalen-2-ol;

(-)-cis-6-fenil-5-[4-(2-pirrolidin-1-il-etoxi)-fenil]-
 5,6,7,8-tetrahidro-naftalen-2-ol;

cis-6-fenil-5-[4-(2-pirrolidin-1-il-etoxi)-fenil]-
 5,6,7,8-tetrahidro-naftalen-2-ol;

20 cis-1-[6'-pirrolidinoetoxi-3'-piridil]-2-fenil-6-
 hidroxil-1,2,3,4-tetrahidronaftaleno;

1-(4'-pirrolidinoetoxifenil)-2-(4"-fluorofenil)-6-
 hidroxil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina;

cis-6-(4-hidroxifenil)-5-[4-(2-piperidin-1-il-etoxi)-
 25 fenil]-5,6,7,8-tetrahidronaftalen-2-ol; y

1-(4'-pirrolidinoletoxifenil)-2-fenil-6-hidroxi-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina e isómeros ópticos o geométricos de los mismos; y las sales de adición de ácidos, N-óxidos, ésteres, sales de amonio cuaternaria y profármacos de los
5 mismos no tóxicos y farmacéuticamente aceptables.

4. Un procedimiento según la reivindicación 1, en el que el compuesto es cis-6-(4-fluorofenil)-5-[4-(2-piperidin-1-il-etoxi)-fenil]-5,6,7,8-tetrahidro-naftalen-2-ol o uno de sus isómeros ópticos o geométricos; o una sal de adición de
10 ácidos, N-óxido, éster, sal de amonio cuaternaria o en profármaco del mismo no tóxico y farmacéuticamente aceptable.

5. Un procedimiento según la reivindicación 1, en el que el compuesto es (-)-cis-6-fenil-5-[4-(2-pirrolidin-1-il-etoxi)-fenil]-5,6,7,8-tetrahidro-naftalen-2-ol o uno de sus
15 isómeros ópticos o geométricos; o una sal de adición de ácidos, N-óxido, éster, sal de amonio cuaternaria o un profármaco del mismo no tóxico y farmacéuticamente aceptable.

6. Un procedimiento según la reivindicación 1, en el que el compuesto es cis-6-fenil-5-[4-(2-pirrolidin-1-il-etoxi)-fenil]-5,6,7,8-tetrahidro-naftalen-2-ol o uno de sus
20 isómeros ópticos o geométricos; o una sal de adición de ácidos, N-óxido, éster, sal de amonio cuaternaria o un profármaco del mismo no tóxico y farmacéuticamente aceptable.

7. Un procedimiento según la reivindicación 1, en el
25 que el compuesto es cis-1-[6'-pirrolidinoetoxi-3'-piridil]-2-

271 272

fenil-6-hidroxi-1,2,3,4-tetrahidronaftaleno o uno de sus isómeros ópticos o geométricos; o una sal de adición de ácidos, N-óxido, éster, sal de amonio cuaternaria o un profármaco del mismo no tóxico y farmacéuticamente aceptable.

5 8. Un procedimiento según la reivindicación 1, en el que el compuesto es 1-(4'-pirrolidinoetoxifenil)-2-(4"-fluorofenil)-6-hidroxi-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina o uno de sus isómeros ópticos o geométricos; o una sal de adición de ácidos, N-óxido, éster, sal de amonio cuaternaria y
10 profármaco del mismo no tóxico y farmacéuticamente aceptable.

9. Un procedimiento según la reivindicación 1, en el que el compuesto es cis-6-(4-hidroxifenil)-5-[4-(2-piperidin-1-il-etoxi)-fenil]-5,6,7,8-tetrahidronaftalen-2-ol o uno de sus isómeros ópticos o geométricos; o una sal de adición de
15 ácidos, N-óxido, éster, sal de amonio cuaternaria o un profármaco del mismo no tóxico y farmacéuticamente aceptable.

10. Un procedimiento según la reivindicación 1, en el que el compuesto es 1-(4'-pirrolidinoletoxifenil)-2-fenil-6-hidroxi-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina o uno de sus isómeros
20 ópticos o geométricos; o una sal de adición de ácidos, N-óxido, éster, sal de amonio cuaternaria o un profármaco del mismo no tóxico y farmacéuticamente aceptable.

11. Un procedimiento según la reivindicación 5, en el que el agonista/antagonista de estrógenos está en forma de
25 una sal D-tartrato.

272/22

12. Un procedimiento según la reivindicación 1, en el que el procedimiento es para la reducción de la morbilidad y/o el riesgo de mortalidad cardiovascular.

13. Un procedimiento según la reivindicación 1, en el que el procedimiento es para la reducción de la morbilidad y/o el riesgo de mortalidad en mujeres postmenopáusicas a través de los efectos combinados de reducciones de la enfermedad cardiovascular, el cáncer de mama y la osteoporosis.

14. Un estuche para usar por un consumidor para reducir la morbilidad y/o el riesgo de mortalidad cardiovascular en un sujeto y/o reducir la morbilidad y/o el riesgo de mortalidad en mujeres postmenopáusicas debido a los efectos combinados de enfermedad cardiovascular reducida, cáncer de mama reducido y osteoporosis reducida, comprendiendo dicho estuche:

a) una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I):

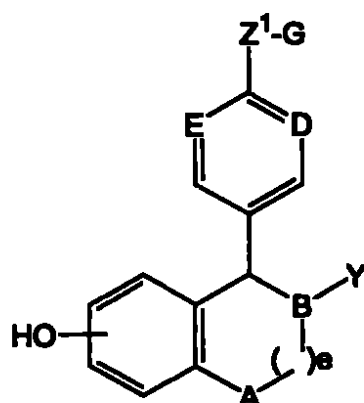
20

25

293 

-91-

5



(I)

en la que

10

A se selecciona de CH₂ y NR;

B, D y E se seleccionan independientemente de CH y N;

Y es

(a) fenilo, opcionalmente sustituido con de 1 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente de R⁴;

15

(b) naftilo, opcionalmente sustituido con de 1 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente de R⁴;

(c) cicloalquilo C₃-C₈, opcionalmente sustituido con 1 a 2 sustituyentes seleccionados independientemente de R⁴;

20

(d) cicloalquenilo C₃-C₈, opcionalmente sustituido con 1 a 2 sustituyentes seleccionados independientemente de R⁴;

(e) un heterociclo de cinco miembros que contiene hasta dos heteroátomos seleccionados del grupo formado por -O-, -NR²- y -S(O)_n-, opcionalmente sustituido con de 1 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente de R⁴;

25

(f) un heterociclo de seis miembros que contiene hasta dos heteroátomos seleccionados del grupo formado por -O-, -NR²- y -S(O)_n-, opcionalmente sustituido con de 1 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente de R⁴; o

5 (g) un sistema de anillo bicíclico que comprende un anillo heterocíclico de cinco o seis miembros condensado con un anillo de fenilo, conteniendo el citado anillo heterocíclico hasta dos heteroátomos seleccionados del grupo formado por -O-, -NR²- y -S(O)_n-, opcionalmente sustituido con
10 de 1 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente de R⁴;

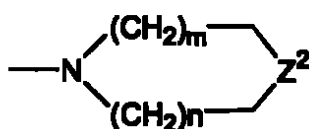
Z¹ es

- (a) - (CH₂)_pW(CH₂)_q-;
- (b) -O(CH₂)_pCR⁵R⁶-;
- 15 (c) -O(CH₂)_pW(CH₂)_q-;
- (d) -OCHR²CHR³-; o
- (e) -SCHR²CHR³-;

G es

- (a) -NR⁷R⁸;

20



(b)

en la que n es 0, 1 ó 2; m es 1, 2 ó 3; Z² es

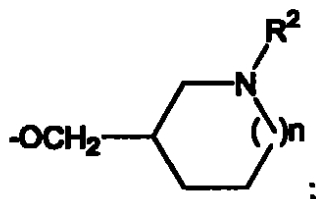
25 -NH-, -O-, -S- o -CH₂-; opcionalmente condensado sobre átomos

275 ~~275~~

de carbono adyacentes con uno o dos anillos de fenilo y, opcionalmente, sustituido de forma independiente en el carbono con uno a tres sustituyentes y, opcionalmente, de forma independiente en el nitrógeno con un sustituyente
5 químicamente adecuado seleccionado de R^4 ; o

(c) una amina bicíclica que contiene de cinco a doce átomos de carbono, con los anillos unidos mediante un puente o condensados y opcionalmente sustituidos con de 1 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente de R^4 ; o

10 Z^1 y G combinados pueden ser



15 W es

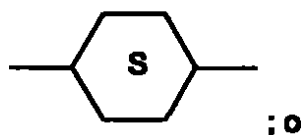
- (a) $-CH_2-$;
- (b) $-CH=CH-$;
- (c) $-O-$;
- (d) $-NR^2-$;
- (e) $-S(O)_n-$;
- (f) $\begin{array}{c} O \\ || \\ -C- \end{array}$;
- (g) $-CR^2(OH)-$;
- (h) $-CONR^2-$;
- (i) $-NR^2CO-$;

20

25

276 ~~277~~

(j)



5

(k) $-C\equiv C-$;

R es hidrógeno o alquilo C_1-C_6 ;

R^2 y R^3 son independientemente

(a) hidrógeno; o

(b) alquilo C_1-C_4 ;

10

R^4 es

(a) hidrógeno;

(b) halógeno;

(c) alquilo C_1-C_6 ;

(d) alcoxi C_1-C_4 ;

15

(e) aciloxi C_1-C_4 ;

(f) alquil(C_1-C_4)tio;

(g) alquil(C_1-C_4)sulfinilo;

(h) alquil(C_1-C_4)sulfonilo;

(i) hidroxialquilo C_1-C_4 ;

20

(j) arilalquilo C_1-C_4 ;

(k) $-CO_2H$;

(l) $-CN$;

(m) $-CONHOR$;

(n) $-SO_2NHR$;

25

(o) $-NH_2$;

277-472

-95-

- (p) alquil (C_1-C_4) amino;
- (q) dialquil (C_1-C_4) amino;
- (r) $-NHSO_2R$;
- (s) $-NO_2-$;
- 5 (t) -arilo; o
- (u) $-OH$;

R^5 y R^6 son independientemente alquilo C_1-C_6 o forman conjuntamente un anillo carbocíclico C_3-C_{10} ;

R^7 y R^8 son independientemente

- 10 (a) fenilo;
- (b) un anillo carbocíclico C_3-C_{10} , saturado o insaturado;
- (c) un anillo heterocíclico C_3-C_{10} que contiene hasta dos heteroátomos seleccionados de $-O-$, $-N-$ y $-S-$;
- 15 (d) H;
- (e) alquilo C_1-C_6 ; o
- (f) forman un anillo de 3 a 8 miembros que contiene nitrógeno con R^5 o R^6 ;

R^7 y R^8 en forma lineal o de anillo pueden estar
20 opcionalmente sustituidos con hasta tres sustituyentes seleccionados independientemente de alquilo C_1-C_6 , halógeno, alcoxi, hidroxí y carboxi;

un anillo formado por R^7 y R^8 puede estar opcionalmente condensado con un anillo de fenilo;

25 e es 0, 1 ó 2;

278 

m es 1, 2 ó 3;

n es 0, 1 ó 2;

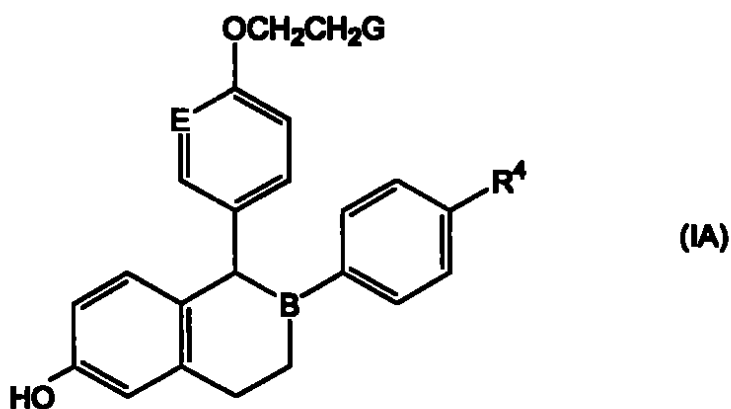
p es 0, 1, 2 ó 3;

q es 0, 1, 2 ó 3;

5 o uno de los isómeros ópticos y geométricos del mismo;
o una sal de adición de ácidos, N-óxido, éster, sal de amonio
cuaternaria y profármaco del mismo no tóxico y
farmacéuticamente aceptable y un vehículo, excipiente o
diluyente farmacéuticamente aceptable; y

10 b) instrucciones que describen un procedimiento de uso
de la composición farmacéutica para reducir el riesgo de
morbilidad y/o mortalidad.

15 15. Un estuche según la reivindicación 14, en el que
el agonista/antagonista de estrógenos es un compuesto de
fórmula (IA):



en la que G es

279 272



5 R^4 es H, OH, F o Cl; y B y E se seleccionan independientemente de CH y N o uno de sus isómeros ópticos o geométricos; o una sal de adición de ácidos, N-óxido, éster, sal de amonio cuaternaria o un profármaco del mismo no tóxico y farmacéuticamente aceptable.

10 16. Un estuche según la reivindicación 14, en el que el agonista/antagonista de estrógenos es un miembro del grupo formado por:

$\text{cis-6-(4-fluorofenil)-5-[4-(2-piperidin-1-il-etoxi)-fenil]-5,6,7,8-tetrahidro-naftalen-2-ol;}$

15 $(-)\text{-cis-6-fenil-5-[4-(2-pirrolidin-1-il-etoxi)-fenil]-5,6,7,8-tetrahidro-naftalen-2-ol;}$

$\text{cis-6-fenil-5-[4-(2-pirrolidin-1-il-etoxi)-fenil]-5,6,7,8-tetrahidro-naftalen-2-ol;}$

20 $\text{cis-1-[6'-pirrolidinoetoxi-3'-piridil]-2-fenil-6-hidroxi-1,2,3,4-tetrahidronaftaleno;}$

$1-(4'\text{-pirrolidinoetoxifenil})-2-(4''\text{-fluorofenil})-6-hidroxi-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina;$

$\text{cis-6-(4-hidroxifenil)-5-[4-(2-piperidin-1-il-etoxi)-fenil]-5,6,7,8-tetrahidronaftalen-2-ol;}$

25 $1-(4'\text{-pirrolidinoetoxifenil})-2-fenil-6-hidroxi-1,2,3,4-$

tetrahidroisoquinolina e isómeros ópticos o geométricos de los mismos; y las sales de adición de ácidos, N-óxidos, ésteres, sales de amonio cuaternaria y profármacos de los mismos no tóxicos y farmacéuticamente aceptables.

5 17. Un estuche según la reivindicación 14, en el que el compuesto es *cis*-6-(4-fluorofenil)-5-[4-(2-piperidin-1-il-etoxi)-fenil]-5,6,7,8-tetrahidro-naftalen-2-ol o uno de sus isómeros ópticos o geométricos; o una sal de adición de ácidos, N-óxido, éster, sal de amonio cuaternaria o en
10 profármaco del mismo no tóxico y farmacéuticamente aceptable.

18. Un estuche según la reivindicación 14, en el que el compuesto es (-)-*cis*-6-fenil-5-[4-(2-pirrolidin-1-il-etoxi)-fenil]-5,6,7,8-tetrahidro-naftalen-2-ol o uno de sus isómeros ópticos o geométricos; o una sal de adición de
15 ácidos, N-óxido, éster, sal de amonio cuaternaria o un profármaco del mismo no tóxico y farmacéuticamente aceptable.

19. Un estuche según la reivindicación 14, en el que el compuesto es *cis*-6-fenil-5-[4-(2-pirrolidin-1-il-etoxi)-fenil]-5,6,7,8-tetrahidro-naftalen-2-ol o uno de sus isómeros
20 ópticos o geométricos; o una sal de adición de ácidos, N-óxido, éster, sal de amonio cuaternaria o un profármacos del mismo no tóxico y farmacéuticamente aceptable.

20. Un estuche según la reivindicación 14, en el que el compuesto es *cis*-1-[6'-pirrolidinetoxi-3'-piridil]-2-fenil-6-hidroxi-1,2,3,4-tetrahidronaftaleno o uno de sus
25

281 287

isómeros ópticos o geométricos; o una sal de adición de ácidos, N-óxido, éster, sal de amonio cuaternaria o en profármaco del mismo no tóxico y farmacéuticamente aceptable.

21. Un estuche según la reivindicación 14, en el que
5 el compuesto es 1-(4'-pirrolidinoetoxifenil)-2-(4"-fluorofenil)-6-hidroxi-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina o uno de sus isómeros ópticos o geométricos; o una sal de adición de ácidos, N-óxido, éster, sal de amonio cuaternaria y profármaco del mismo no tóxico y farmacéuticamente aceptable.

10 22. Un estuche según la reivindicación 14, en el que el compuesto es cis-6-(4-hidroxifenil)-5-[4-(2-piperidin-1-il-etoxi)-fenil]-5,6,7,8-tetrahidronaftalen-2-ol o uno de sus isómeros ópticos o geométricos; o una sal de adición de ácidos, N-óxido, éster, sal de amonio cuaternaria y
15 profármacos del mismo no tóxico y farmacéuticamente aceptable.

23. Un estuche según la reivindicación 14, en el que el compuesto es 1-(4'-pirrolidinoetoxifenil)-2-fenil-6-hidroxi-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina o uno de sus isómeros
20 ópticos o geométricos; o una sal de adición de ácidos, N-óxido, éster, sal de amonio cuaternaria o un profármaco del mismo no tóxico y farmacéuticamente aceptable.

24. Un estuche según la reivindicación 18, en el que el agonista/antagonista de estrógenos está en forma de una
25 sal D-tartrato.

5



R^{1A} y R^{2A} pueden ser iguales o distintos con tal que,
15 cuando R^{1A} y R^{2A} son iguales, cada uno es un grupo metilo o
etilo y, cuando R^{1A} y R^{2A} son distintos, uno de ellos es un
grupo metilo o etilo y el otro es hidrógeno o un grupo
bencilo;

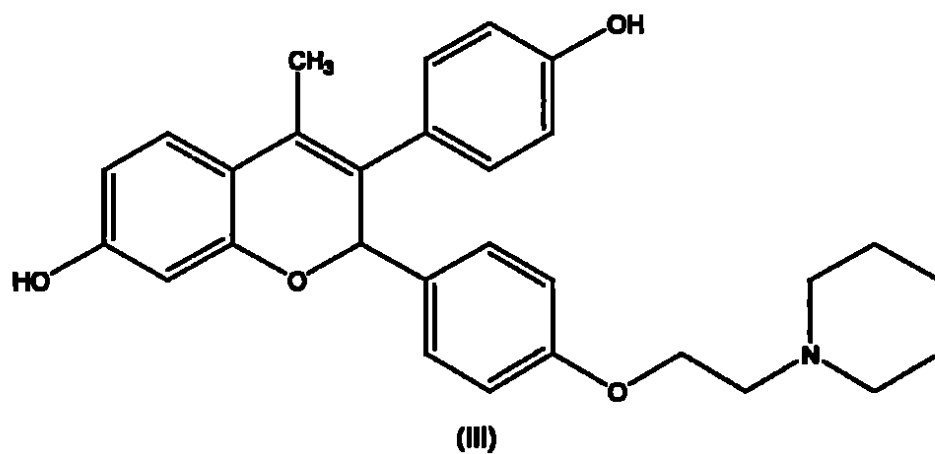
20

25

283 282

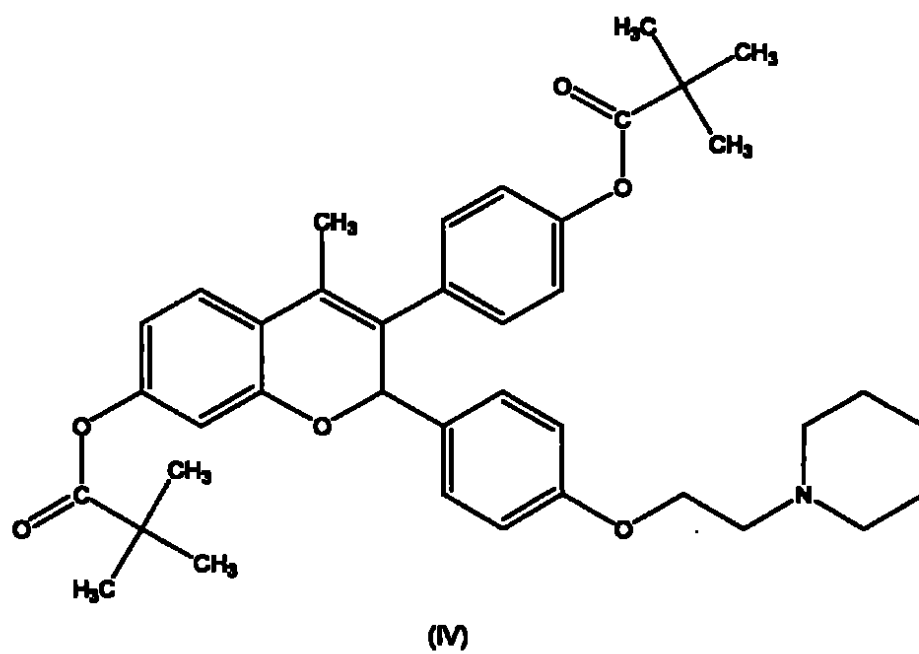
-101-

5



10

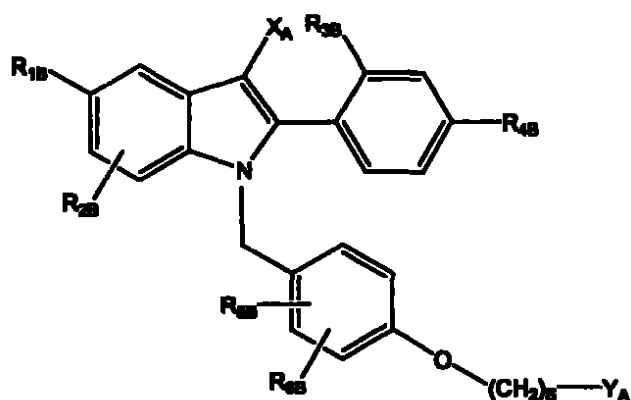
15



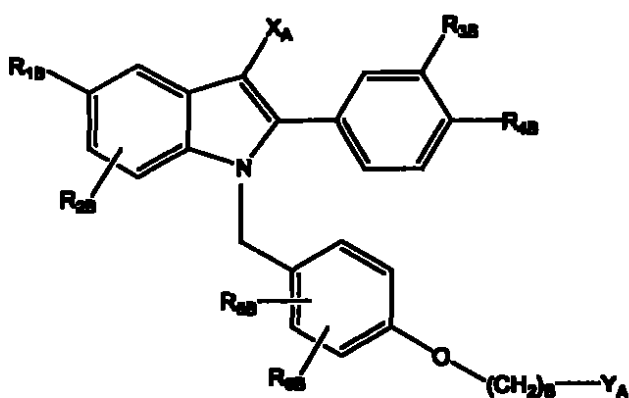
20

un compuesto de fórmula V o VI:

25



(V)



(VI)

en las que;

R_{1B} se selecciona de H, OH o ésteres C_1-C_{12} (cadena lineal o ramificada) o alquiléteres C_1-C_{12} (cadena lineal o ramificada o cíclica) de los mismos, o halógenos; o éteres C_1-C_4 halogenados que incluyen éter trifluorometílico y éter triclorometílico.

R_{2B} , R_{3B} , R_{4B} , R_{5B} y R_{6B} se seleccionan independientemente de H, OH o ésteres C_1-C_{12} (cadena lineal o ramificada) o alquiléteres C_1-C_{12} (cadena lineal o ramificada o cíclica) de los mismos, halógenos, o éteres C_1-C_4 halogenados que incluyen

285 

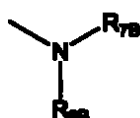
éter trifluorometílico y éter triclorometílico, ciano, alquilo C₁-C₆ (cadena lineal o ramificada) o trifluorometilo;

X_A se selecciona de H, alquilo C₁-C₆, ciano, nitro, trifluorometilo y halógeno,

5 s es 2 ó 3;

Y_A se selecciona de:

a) el resto:



10

en el que R_{7B} y R_{8B} se seleccionan independientemente del grupo de H, alquilo C₁-C₆ o fenilo opcionalmente sustituido con CN, alquilo C₁-C₆ (cadena lineal o ramificada), alcoxi C₁-C₆ (cadena lineal o ramificada), halógeno, -OH, -CF₃ o -OCF₃;

15 b) un heterociclo saturado, insaturado o parcialmente insaturado de cinco miembros que contiene hasta dos heteroátomos seleccionados del grupo formado por -O-,

-NH-, -N(alquilo C₁-C₄)-, -N= y -S(O)_u-, siendo u un número entero de 0 a 2, opcionalmente sustituido con de 1 a 3

20 sustituyentes seleccionados independientemente del grupo formado por hidrógeno, hidroxilo, halo, alquilo C₁-C₄, trihalometilo, alcoxi C₁-C₄, trihalometoxi, aciloxi C₁-C₄, alquil(C₁-C₄)tio, alquil(C₁-C₄)sulfinilo, alquil(C₁-C₄)sulfonilo, hidroxialquilo (C₁-C₄), -CO₂H, -CN, -CONHR_{1B}, -
25 NH₂, (alquil C₁-C₄)amino, di(alquil C₁-C₄)amino, -NHSO₂R_{1B}, -

NHCOR_{1B}, -NO₂ y fenilo opcionalmente sustituido con de 1 a 3 grupos alquilo (C₁-C₄);

c) un heterociclo saturado, insaturado o parcialmente insaturado de seis miembros que contiene hasta dos heteroátomos seleccionados del grupo formado por -O-,
5 -NH-, -N(alquilo C₁-C₄)-, -N= y -S(O)_u-, siendo u un número entero de 0 a 2, opcionalmente sustituido con de 1 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente del grupo formado por hidrógeno, hidroxilo, halo, alquilo C₁-C₄,
10 trihalometilo, alcoxi C₁-C₄, trihalometoxi, aciloxi C₁-C₄, alquil(C₁-C₄)tio, alquil(C₁-C₄)sulfinilo, alquil(C₁-C₄)sulfonilo, hidroxialquilo (C₁-C₄), -CO₂H, -CN, -CONHR₁, -NH₂, alquil(C₁-C₄)amino, dialquil(C₁-C₄)amino, -NHSO₂R_{1B}, -NHCOR_{1B}, -NO₂ y fenilo opcionalmente sustituido con de 1 a 3 grupos
15 alquilo (C₁-C₄);

d) un heterociclo saturado, insaturado o parcialmente insaturado de siete miembros que contiene hasta dos heteroátomos seleccionados del grupo formado por -O-,
-NH-, -N(alquilo C₁-C₄)-, -N= y -S(O)_u-, siendo u un número
20 entero de 0 a 2, opcionalmente sustituido con de 1 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente del grupo formado por hidrógeno, hidroxilo, halo, alquilo C₁-C₄, trihalometilo, alcoxi C₁-C₄, trihalometoxi, aciloxi C₁-C₄, alquil(C₁-C₄)tio, alquil(C₁-C₄)sulfinilo, alquil(C₁-
25 C₄)sulfonilo, hidroxialquilo C₁-C₄, -CO₂H, -CN, -CONHR_{1B}, -NH₂,

(alquil C₁-C₄)amino, di(alquil C₁-C₄)amino, -NHSO₂R_{1B}, -NHCOR_{1B}, -NO₂ y fenilo opcionalmente sustituido con de 1 a 3 grupos alquilo (C₁-C₄); o

e) un heterociclo bicíclico que contiene de 6 a 12
5 átomos de carbono con los anillos unidos mediante un puente o condensados y que contiene hasta dos heteroátomos seleccionados del grupo formado por -O-, -NH-, -N(alquilo C₁-C₄)- y -S(O)_u-, siendo u un número entero de 0 a 2, opcionalmente sustituido con de 1 a 3 sustituyentes
10 seleccionados independientemente del grupo formado por hidrógeno, hidroxilo, halo, alquilo C₁-C₄, trihalometilo, alcoxi C₁-C₄, trihalometoxi, aciloxi C₁-C₄, alquil(C₁-C₄)tio, alquil(C₁-C₄)sulfinilo, alquil(C₁-C₄)sulfonilo, hidroxialquilo (C₁-C₄), -CO₂H-, -CN-, -CONHR_{1B}-, -NH₂, -N=, (alquil C₁-C₄)amino,
15 di(alquil C₁-C₄)amino, -NHSO₂R_{1B}, -NHCOR_{1B}, -NO₂ y fenilo opcionalmente sustituido con de 1 a 3 grupos alquilo (C₁-C₄); o un compuesto de fórmula Va:

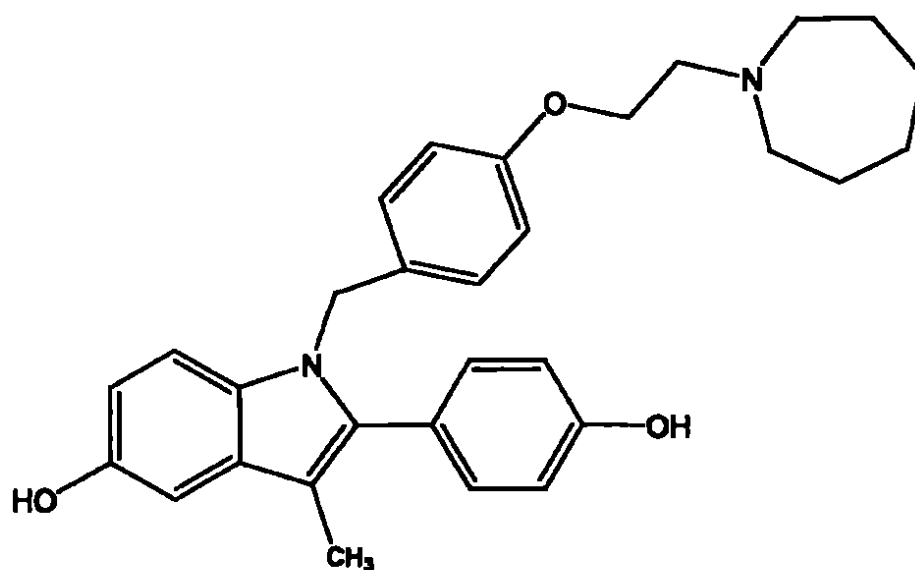
20

25

-106-

5

10



(Va)

o sus isómeros ópticos y geométricos; sus sales de adición
de ácidos, N-óxidos, ésteres, sales de amonio cuaternaria no
tóxicos y farmacéuticamente aceptables; o sus profármacos.

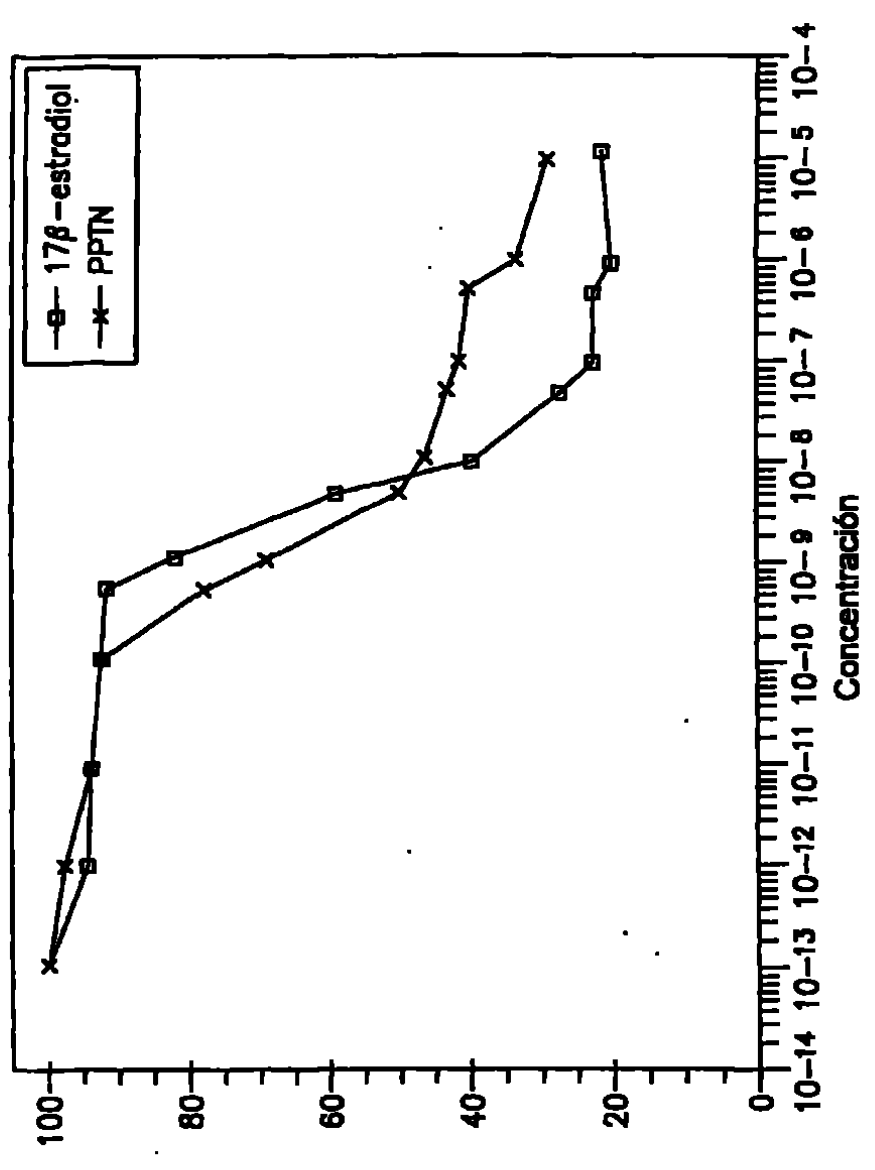
RESUMEN

Esta invención se refiere a procedimientos, composiciones farmacéuticas y estuches útiles para reducir la morbilidad cardiovascular y el riesgo de mortalidad en
5 hombres y en mujeres postmenopáusicas y la morbilidad y el riesgo de mortalidad en mujeres postmenopáusicas a partir de la reducción combinada del cáncer de mama, la osteoporosis y la enfermedad cardiovascular, mediante la administración de agonistas/antagonistas de estrógenos. Las composiciones
10 comprenden un agonista/antagonista de estrógenos y un vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable. Las composiciones y procedimientos de tratamiento son eficaces, reduciendo al mismo tiempo la posibilidad concomitante de efectos adversos asociados a la
15 administración de estrógenos.

290 290

1/1

FIGURA 1



Folios 291 y 292
Votados

En

Folio 293 extracto para
publicación: 08-11-2002

REQUISITOS MINIMOS PARA ADMISION A TRAMITE

PATENTE DE INVENCION [4]

MODELO DE UTILIDAD []

- Indicación de que se solicita la concesión de una patente []
- Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud []
- Descripción de la invención []
- Dibujos de ser estos pertinentes []
- Comprobante de Pago de las tasas establecidas []

COMPLETA [4]

INCOMPLETA []

DISEÑO INDUSTRIAL []

- Indicación de que se solicita el registro de Diseño Industrial []
- Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud. []
- Representación gráfica y fotográfica del Diseño Industrial o muestra del material que incorpora el diseño. []
- Comprobante de pago de las tasas establecidas. []

COMPLETA []

INCOMPLETA []

ESQUEMA DE TRAZADO []

- Indicación de que se solicita el registro de un Esquema de trazado. []
- Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud. []
- Representación gráfica del esquema de trazado []
- Comprobante de pago de las tasas establecidas. []

COMPLETA []

INCOMPLETA []

422
Firma Responsable

Fecha: _____

2020
Bogotá, D.C.

Doctor
CARLOS R. OLARTE
Apoderado sustituto

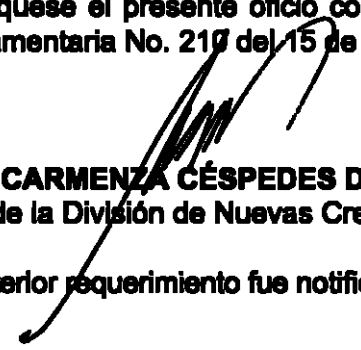
REFERENCIA:	Radicación No.	00-97928
	Trámite	002
	Evento	001
	Actuación	430
	Oficio No.	0807
	Folios	001

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).
- Debe indicarse tanto el nombre como el domicilio del inventor (Art. 27-e, D 486/00).

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

29 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@slc.gov.co
Bogotá, D.C., Colombia