

CAVELIER

ABOGADOS

WEB SITE: www.cavelier-abogados.com
E-MAIL: cavelier@colomsat.net.co

34

SUPERINDUSTRIA Y COMERCIO
Radicacion: 01016343 08882801
Fecha (RD): 2001-04-06 17:30:53
Tramite: 022 PATENTES D REGISTRO/ 329 COMPLETADO
Dependencia: 2020 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES
Folios: 36 (7) (1) 347-3611
(7) (1) 310-4995

Señora Jefe de la
DIVISION DE NUEVAS CREACIONES
SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
E. S. D.

Referencia : Expediente No. 01.016.343
Solicitante : AKZO NOBEL N.V.
Asunto : Solicitud de patente para:
"DERIVADOS DE CROMANO COMO COMPUESTOS
ESTROGENICOS, Y SU USO EN LA FABRICACIÓN DE
MEDICAMENTOS PARA TRATAMIENTOS RELACIONADOS
CON LOS RECEPTORES DE ESTROGENOS"

Fecha de solicitud : 1 de marzo de 2001

TRAMITE 002 EVENTO 001 ACTUACION 329

1. Yo, Emilio FERRERO, obrando como apoderado de la solicitante en el asunto de la referencia, atentamente, presento con este escrito la copia certificada de la solicitud de patente europea No. 00200713.6 del 1 de marzo de 2001, junto con la respectiva traducción de su carátula, descripción y reivindicaciones de la cual se reclama prioridad en esta solicitud de patente.

2. Ruego a la Señora Jefe se sirva aceptar este escrito con sus anexos, y se continúe con el trámite de la solicitud.

Bogotá, - 6 ABR. 2001
Señora Jefe,



EMILIO FERRERO
T.P.A. No. 31.929

COLO 11214-801-026-0
JJJC-ID-144

NIT. 860.041.367-3

38
35



**Europäisches
Patentamt**

**European
Patent Office**

**Office européen
des brevets**

Bescheinigung

Certificate

Attestation

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

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

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

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

00200713.6

Der Präsident des Europäischen Patentamts;
Im Auftrag

For the President of the European Patent Office

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

I.L.C. HATTEN-HECKMAN

**DEN HAAG, DEN
THE HAGUE, 07/03/01
LA HAYE, LE**

EPA/EPO/OEB Form 1014 - 02.91



**Europäisches
Patentamt**

**European
Patent Office**

**Office européen
des brevets**

39
36

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

**Anmeldung Nr.
Application no.
Demande n** **00200713 6**

**Anmeldetag.
Date of filing
Date de dépôt** **01/03/00**

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

**Bezeichnung der Erfindung
Title of the invention
Titre de l'invention
Chroman analogs as estrogenic compounds**

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

Staat State Pays	Tag Date Date	Alderszeichen File no Numéro de dépôt
---------------------------------	------------------------------	--

**Internationale Patentklassifikation
International Patent classification
Classification internationale des brevets.
C07D311/60, A61K31/35 A61P5/30**

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

**Bemerkungen
Remarks
Remarques**

CHROMAN ANALOGS AS ESTROGENIC COMPOUNDS

The invention is in the field of non-steroidal estrogenic compounds.

Estrogenic and anti-estrogenic compounds have a generally recognised

- 5 utility for estrogen-receptor related medical treatments, such as those for contraception and for treatment of menopausal complaints, osteoporosis, and estrogen dependent tumour control.

More precisely, the invention pertains to non-steroidal estrogenic

- 10 compounds with a phenylchroman or analogous skeleton. Compounds with a 4-phenylchroman skeleton and a phenyl ring at the 3 position with particular emphasis on the nature of the cis-trans configuration of the substituents at the 3 and 4 position (locants are according to the rules of Chemical Abstracts) are described in WO 98/18771 for estrogenic
- 15 therapies. Although there is a keen interest in compounds with affinity for the estrogen receptor, new compounds with a 4-benzyl-2-phenylchroman skeleton and affinity for the estrogen receptor cannot be learnt from this document.

The interest in new compounds with affinity for the estrogen receptor

- 20 stems from unsatisfactory results with known estrogenic compounds for osteoporose treatment and treatment of other postmenopausal complaints and from the discovery of two distinct types of receptors, denoted ER α and ER β (see Mosselman et al., FEBS Letters 392 (1996) 49-53 as well as EP -A- 0 798 378). Since these receptors have a different
- 25 distribution in human tissue, the finding of compounds which possess a selective affinity for either of the two is an important technical progress, making it possible to provide a more selective treatment in estrogen-receptor related medical treatments, such as those for contraception and for treatment of menopausal complaints, osteoporosis, and estrogen
- 30 dependent tumour control, with a lower burden of estrogen-related side-effects.

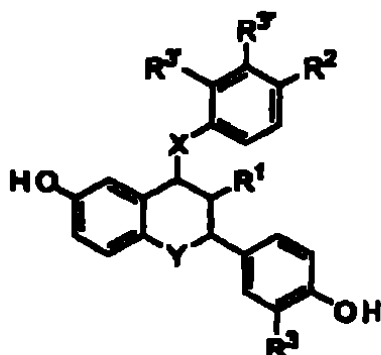
The present invention is based on the finding that compounds with a 4-benzyl-, a 4-phenyloxy-, a 4-phenylthio-, or a 4-phenylcarbonyl-2-

- 35 phenylchroman skeleton with hydroxyl substitutions at specific locations, as well as tetrahydronaphtalene and thiochromane analogues thereof, possess surprisingly high estrogen receptor affinity. Moreover, the

-2-

present invention pertains to such compounds as compounds with selective affinity for the estrogen β -receptors (ER β).

More specifically, the invention provides non-steroidal compounds having the formula 1



formula 1

wherein

10 X is -O-, -CH₂-, -CO-, or -S-;

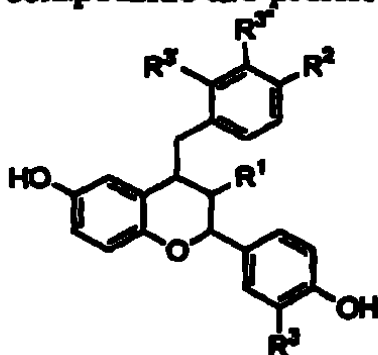
Y is -O-, -S- or -CH₂;

R¹ is (1C-4C)alkyl, (2C-4C) alkenyl or (2C-4C)alkynyl;

R² is H, OH, alkyl, Hal, CF₃, aryl, alkoxy, dialkylaminoalkyleneoxy or together with R^{3'} is an aromatic ring;

15 R³, R^{3'} and R^{3''} are independently H, Hal, alkyl, alkenyl or alkynyl; and prodrugs and substitution variants thereof.

In view of better efficacy or selectivity for the ER β -receptor those compounds are preferred which have the formula 2



20 formula 2

wherein

R¹ is (1C-4C)alkyl, (2C-4C) alkenyl or (2C-4C)alkynyl, and independently

R¹ has a cis-orientation in relation to the exocyclic phenyl group at the 2-position of the skeleton;

41
38

-3-

R^2 is Hal, CF_3 or alkyloxy;

R^3 , $R^{3'}$ and $R^{3''}$ are independently H, Hal, alkyl, alkenyl or alkynyl; and prodrugs and substitution variants thereof.

- 5 More preferred compounds which are more effective and more selective agonists for the $ER\beta$ -estrogen receptors are compounds having formula 2, wherein R^1 is (1C-4C)alkyl, R^1 , the exocyclic phenyl group at the 2-position and the exocyclic substituent at the 4-position of the chroman skeleton all have a cis-orientation; $R^{3'}$ is H or halogen, R^2 and $R^{3''}$ are H,
10 R^3 is H or CH_3 ; and prodrugs thereof.

- A prodrug is defined as being a compound which converts in the body of a recipient to a compound as defined by the formulas 1 or 2 or a substitution variant thereof. Notably, the hydroxy groups at the 6
15 position and the 4-phenyl position of the skeletons of formula 1 and 2 can for example be substituted by alkyl*oxy, alkenyl*oxy, acyl*oxy, aroyloxy, alk*oxycarbonyloxy, sulfonyl groups or phosphate groups, whereby the carbon chain length of the groups denoted with an asterisk (*) is not considered to be sharply delimited, while aroyl generally will
20 comprise a phenyl, pyridinyl or pyrimidyl, which groups can have substitutions customary in the art, such as alkyl*oxy, hydroxy, halogen, nitro, cyano, and (mono-, or dialkyl*-)amino. The length of the alkyl, alkenyl and acyl groups is selected depending on the desired properties of the prodrugs, whereby the longer chained prodrugs with for example
25 lauryl or caproyl chains are more suitable for sustained release and depot preparations. It is known that such substituents spontaneously hydrolyse or are enzymatically hydrolysed to the free hydroxyl substituents on the skeleton of the compound. Such prodrugs will have biological activity comparable to the compounds to which they are
30 converted in the body of the recipients. The active compound to which a prodrug is converted is called the parent compound. The onset of action and duration of action as well as the distribution in the body of a prodrug may differ from such properties of the parent compound. For other types of prodrugs it should be realised that the hydroxyl groups in compounds
35 according to the formulas 1 or 2 can be placed in position by the metabolic system of the recipient. The hydroxyl groups are essential for affinity for the estrogen receptors. Thus, compounds as defined by the

-4-

formulas 1 or 2 and substitution variants thereof, but lacking one or both hydroxyl groups are also made available as compounds according to this invention, and to which compounds is referred as prodrugs.

- 5 A substitution variant is defined as being a compound which comprises in its molecular structure the structure as defined by formula 1 or 2. The skilled person inspecting the group of compounds defined by these formulas will immediately understand that modification by a substituent to the skeleton can yield a compound with similar biological activity as
10 the compound without this particular substituent. For example, a lower alkyl substituent on the aromatic ring will usually not change the biological activity drastically. Such a variety of substituent groups from which a substituent can be selected, is for example represented by the list halogen, (cyclo)alkyl*, alkenyl*, alkynyl*, acyl*, aryl, aroyl, O-alkyl*,
15 O-alkenyl*, O-alkynyl*, S-alkyl*, S-alkenyl* and S-alkynyl*, whereby the carbon chain length of the groups denoted with an asterisk (*) is not considered to be sharply delimited, but for substitution variants will generally be in the range of from 1 to 4 carbon atoms for the aliphatic and alicyclic groups, while aryl generally will be phenyl, pyridinyl or
20 pyrimidinyl, which groups can have further substitutions customary in the art, such as alkyl*oxy, hydroxy, halogen, nitro, cyano, and (mono-, or dialkyl*-)amino. It is common practise in the art to test such substitution variants for the expected biological activity so that it is a routine skill to obtain useful substitution variants of compounds as defined by the
25 formulas 1 and 2.

- Other terms used in this description have the following meaning:
alkyl is a branched or unbranched alkyl group, for example methyl, ethyl, propyl, isopropyl, butyl, sec-butyl, tert-butyl, hexyl, octyl, capryl, or
30 lauryl;
alkenyl is a branched or unbranched alkenyl group, such as ethenyl, 2-butenyl, etc.;
alkynyl is a branched or unbranched alkynyl group, such as ethynyl and propynyl.
35 Hal and halogen refers to fluorine, chlorine, bromine and iodine

42
39

-5-

The prefixes (1C-4C), (2C-4C) etc. have the usual meaning to restrict the meaning of the indicated group to those with 1 to 4, 2 to 4 etc. carbon atoms.

- 5 The compounds of this invention contain at least three centres of chirality and can exist as enantiomers and diastereomers. The present invention includes the aforementioned enantiomers and diastereomers within its scope and each of the individual (R) and (S) enantiomers and their salts, substantially free, i.e. associated with less than 5%, preferably less than 10 2%, in particular less than 1% of the other enantiomer and mixtures of such enantiomers in any proportions including racemic mixtures containing substantially equal amounts of the two enantiomers.

- 15 The estrogen-receptor affinity profile of the compounds according to the present invention, makes them suitable as improved estrogens or anti-estrogens, in the sense that they can be used for estrogen-receptor related medical treatments, such as those for contraception or for treatment or prevention of benign prostate hypertrophy, cardiovascular disorders, menopausal complaints, osteoporosis, estrogen dependent 20 tumour control or central nervous system disorders such as depression or Alzheimer's disease. The preferred compounds of the invention, which have selective affinity for the ER β receptor, are particularly suitable for estrogen-receptor related medical treatments under diminished estrogen-related side-effects. This is most desirable when these compounds are 25 used in the treatment of osteoporosis, cardiovascular disorders and central nervous system disorders such as depression or Alzheimer's disease.

- 30 The compounds of the invention can be produced by various methods known in the art of organic chemistry in general.

More specifically the routes of synthesis as illustrated in the schemes of the examples can be used.

- 35 4-Benzyl chromanes can be prepared as DL mixtures from reaction of the appropriate chromenylium salts with a substituted or nonsubstituted

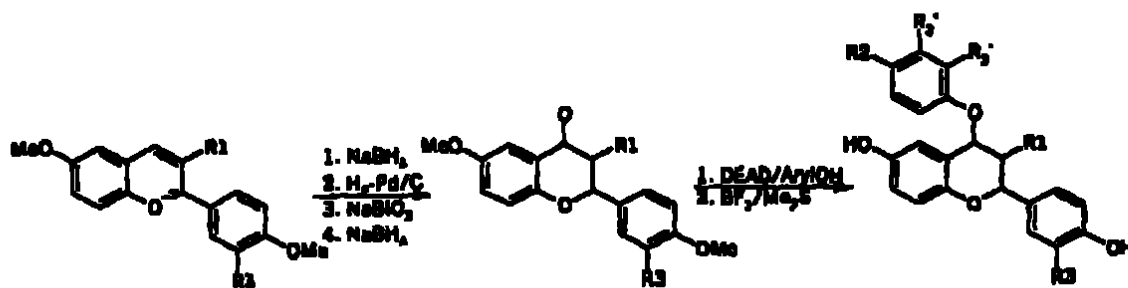
-6-

benzylmagnesium chloride, followed by hydrogenation of the resulting 2,3-chromenes.

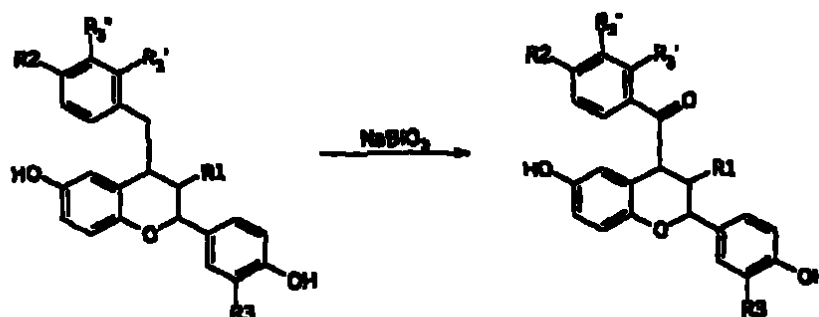
The chromenylium salts can be derived from reaction of 4-benzyloxy, 4-methoxy or 4-hydroxy-2-hydroxy-benzaldehyde and an appropriate alkyl-phenylketone in the presence of trifluoromethanesulphonic acid. The alkyl-phenylketones were either commercially available or can be prepared according to the method performed in example 1.

The preparation of 4-phenyloxy-chromans, 4-benzoyl-chromans, 1-benzyl-, 1-phenyloxy- and 1-benzoyl-3-phenyl-tetralones can be done according to the schemes 1-3, respectively. Abbreviations in the schemes are: DEAD is diethyl azodicarboxylate, Me is methyl and PPA is pyrophosphoric acid.

15 Scheme 1. Preparation of 4-phenyloxy-chromanes

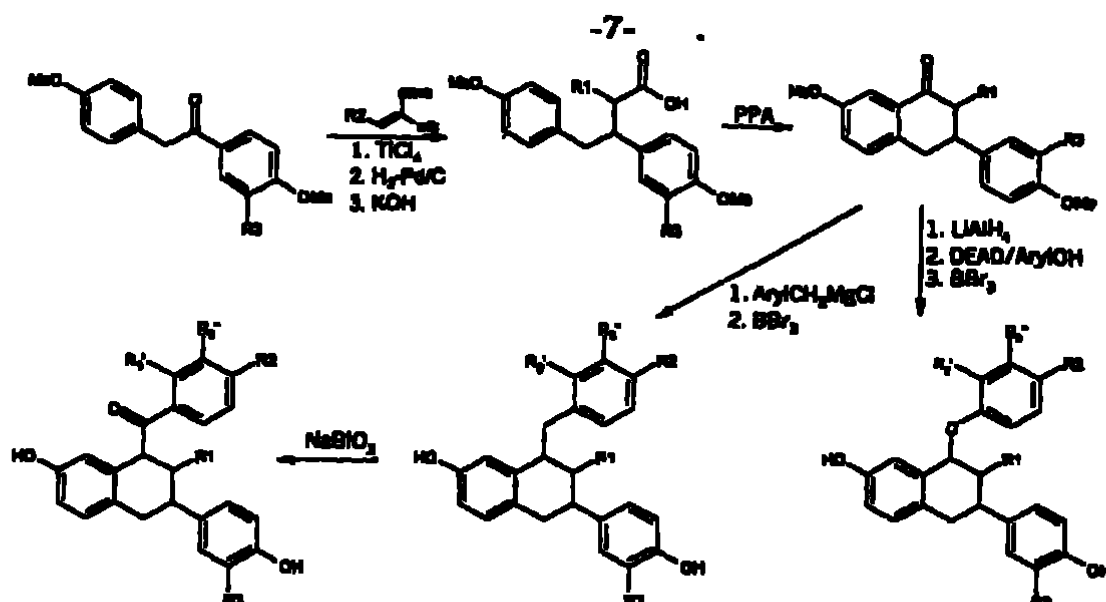


Scheme 2. Preparation of 4-benzoyl-chromanes



20

Scheme 4. Preparation of 1-benzyl-, 1-phenyloxy- and 1-benzoyl-3-phenyl-tetralones



- 5 Ester prodrugs can be made by esterification of compounds with free hydroxyl groups by reaction with appropriate acyl chlorides in pyridine.

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

25

-8-

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

5 Furthermore, the invention relates to the use of the non-steroidal compound according to the invention for the manufacture of a medicament for estrogen-receptor related treatments and treatment of estrogen-receptor related disorders such as peri- and/or post-menopausal complaints. Thus the invention also pertains to the medical
10 indications of peri- and/or post-menopausal (climacteric) complaints and osteoporosis, i.e. a method of treatment in the field of hormone replacement therapy (HRT), comprising the administration to a patient, being a woman, of a compound as described herein before (in a suitable pharmaceutical dosage form).

15

Further, the invention relates to the use of the non-steroidal compound according to the invention in the manufacture of a medicament having contraceptive activity. Thus the invention also pertains to the medical indication of contraception, i.e. a method of contraception comprising the
20 administration to a subject, being a woman or a female animal, of a progestogen and an estrogen as is customary in the field, wherein the estrogen is a compound as described herein before (in a suitable pharmaceutical dosage form).

25 Finally the invention relates to the use of the non-steroidal compound for the manufacture of a medicament having selective estrogenic activity, such a medicament being generally suitable in the area of HRT.

The dosage amounts of the present compounds will be of the normal
30 order for estradiol derivatives, e.g. of the order of 0.01 to 10 mg per administration.

The invention is further illustrated hereinafter with reference to some unlimitative examples and the corresponding formula schemes referred
35 to.

-9-

EXAMPLES

In the examples the compounds are identified with numbers, for example 1a, 1b, 2b etc.. These numbers refer to the definitions of the compounds in the schemes. In the schemes the following abbreviations are used: Bn = benzyl, But = butyl, Et = ethyl, Me = methyl, Pr = propyl, Piv = pivaloyl.

Example 1. Preparation of 4-Hydroxy-, 4-Benzyloxy- and 4-Methoxy-2-acyl-benzene

10

The appropriate phenol was dissolved in dichloromethane (3ml/mmol). The solution was cooled in an ice-bath under a nitrogen atmosphere. To this solution anhydrous aluminium chloride (2 eq) was added in small portions. Then a solution of alkanoylchloride (1 eq) in dichloromethane (1 ml/mmol) was added dropwise. The reaction mixture was stirred overnight (approx. 18 hours) at ambient temperature.

15

The reaction mixture was carefully poured into ice-water. The precipitated product was extracted with ethyl acetate. The organic layer was extracted twice with 2N sodium hydroxide solution. The combined aqueous layers were washed twice with diethyl ether. The aqueous layer was acidified while stirring with concentrated hydrochloric acid to pH 5. The precipitated product was extracted with diethyl ether. The organic layer was dried over anhydrous magnesiumsulphate and the solvent was evaporated. The 4-hydroxy-2-acyl-benzenes were obtained in 30-70% yields.

20

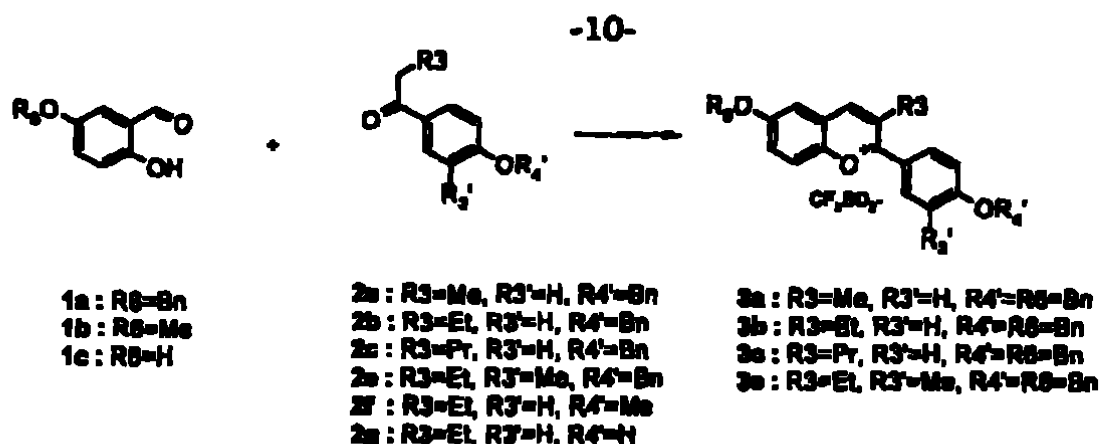
25

Benylation or methylation was achieved by reaction of the 4-hydroxy-2-acyl-benzenes with benzyl bromide (1.2 eq) or methyl iodide (4 eq) in acetone (5-10 ml/mmol) in the presence of potassium carbonate (2 eq). The reaction mixture was refluxed for 1-3 hour. The reaction mixture was cooled to room temperature and ethyl acetate and water were added. The organic layer was washed once with 10 ml of 2N sodiumhydroxide solution, dried on magnesium sulphate and concentrated

30

Example 2. Preparation of chromenylium salts 3 according to Scheme 4:

35

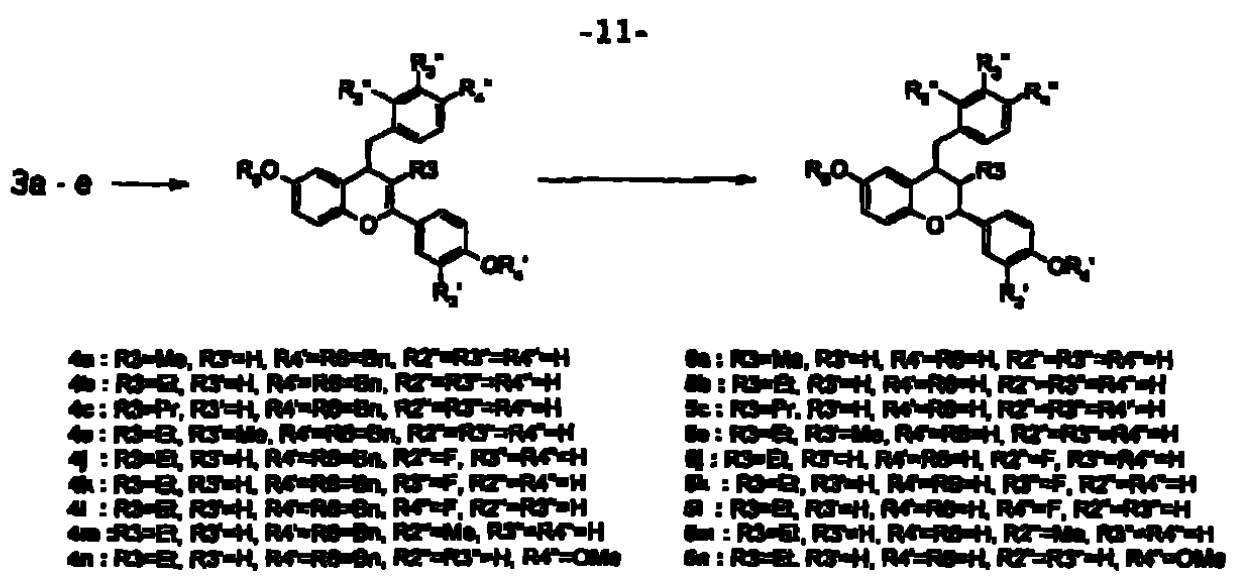


- 5 The 4-benzoyloxy- [T. Kappe et al., Arch. Pharmas. ; 308, 339-346 (1975)], 4-hydroxy -, or 4-methoxy-2-hydroxy-benzaldehyde 1a-c (1 mmole) and the appropriate ketone 2a-g (1 mmole) were dissolved in 5 ml of diethyl ether. The solution was cooled in an ice-bath. Trifluoromethanesulfonic acid (2 mmole) was added dropwise and the reaction mixture was stirred overnight (appr. 18 hours) at ambient temperature.
- 10 The precipitated red/brown products 3a-e were collected by filtration, thoroughly washed with 20 ml of diethyl ether and dried in vacuo. The yields varied between 50-80%. (see table below).

Product	Yield (% of theory)
3a	73
3b	70
3c	54
3e	52

Example 3 Preparation of 4-benzyl-chromanes 5a-5l according to Scheme 5:

42



5 The chromenylium salt 3a-1 was suspended in 10 ml of dry diethyl ether (10 ml/mmol). The suspension was cooled in an Ethanol/CO₂-bath to -78 °C. Benzylmagnesiumchloride (2M solution in tetrahydrofuran, 3 eq) was added with the use of a syringe. The solution was stirred for 0.5 hour at -78 °C. The reaction mixture was taken up in ethyl acetate and extracted with saturated ammoniumchloride-solution. The organic layer was washed twice with water and once with saturated sodiumchloride solution, dried over anhydrous magnesiumsulphate and the solvent was evaporated. The residue was purified by either recrystallization from ethanol or by column chromatography (heptane/ethyl acetate) to give pure 4a-n in 32-90% of the theoretical yield (see table below).

Product	Yield (% of theory)	R _f -value
4a	87	0.65 (Toluene/diethyl ether 1:1)
4b	75	0.61 (Heptane/ethyl acetate 7:3)
4c	82	0.67 (Heptane/ethyl acetate 7:3)
4e	32	0.63 (Heptane/ethyl acetate 7:3)
4j	60	0.62 (Heptane/ethyl acetate 7:3)
4k	72	0.64 (Heptane/ethyl acetate 7:3)
4l	76	0.66 (Heptane/ethyl acetate 7:3)
4m	47	0.73 (Heptane/ethyl acetate 7:3)
4n	57	0.61 (Heptane/ethyl acetate 7:3)

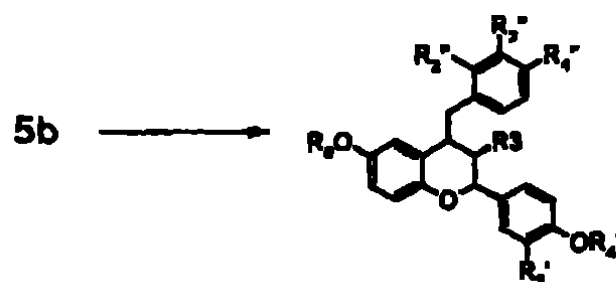
-12-

1 mmole of the substituted 4-benzylflavan 4a-n was dissolved in 35 ml of ethyl acetate. To this solution 1 mg of palladium on carbon (10% w/w) per mg 4 was added and hydrogen was passed through the reaction mixture for 2 hours while stirring. The catalyst was removed by filtration and washed with 10 ml of ethyl acetate and the filtrate was concentrated under reduced pressure.

The crude product was purified by column chromatography (toluene/diethyl ether) to give pure 5a-n in 32-98% of the theoretical yield (see table below).

Product	Yield (% of theory)	R _f -value
5a	56	0.52 (Toluene/diethyl ether 1:1)
5b	98	0.44 (Toluene/diethyl ether 1:1)
5c	52	0.56 (Toluene/diethyl ether 1:1)
5e	47	0.48 (Toluene/diethyl ether 1:1)
5j	85	0.37 (Toluene/diethyl ether 1:1)
5k	72	0.49 (Toluene/diethyl ether 1:1)
5l	76	0.39 (Toluene/diethyl ether 1:1)
5m		
5n	52	0.57 (Toluene/diethyl ether 1:1)

Example 4. Preparation of acyl esters 6a and 6b according to Scheme 6



6a : R₃=Et, R₃'=H, R₄'=R₆=Bu, R₂'=R₃'=R₄'=H
 6b : R₃=Et, R₃'=H, R₄'=R₆=Ph, R₂'=R₃'=R₄'=H
 6c : R₃=Et, R₃'=H, R₄'=R₆=Me, R₂'=R₃'=R₄'=H

15

5b was dissolved in dry pyridine (5ml/mmmole). To this solution n-butyryl chloride or trimethylacetyl chloride (2.2-2.5 eq) was added dropwise. The

46
43

-13-

reaction mixture was stirred for 2 hours at ambient temperature. The reaction mixture was taken up in ethyl acetate and extracted with water. The organic layer was washed 2 times with saturated sodium chloride solution and dried over anhydrous magnesiumsulphate. The solvent was evaporated and the crude product was purified by chromatography on silica gel (toluene/diethyl ether) to give the pure product 6a and 6b, respectively, in 60-70% yield.

R_f = 0.89 (toluene/diethyl ether 7:3).

10 Preparation of 6c.

1.66 mmole of 5b was dissolved in 10 ml of dimethylformamide. 3.66 mmole (2.2 eq.) of sodiumhydride (60% w/w in mineral oil) was added to the solution. 9.99 mmole (6 eq.) of methyl iodide was added dropwise to the solution while stirring. The reaction mixture was stirred for 2 hours at ambient temperature. The reaction mixture was poured into 20 ml of water. The product was extracted with 50 ml of dichloromethane. The organic layer was washed twice with 15 ml of water and dried over anhydrous magnesiumsulphate. The solvent was evaporated and the crude product was purified by column chromatography (toluene/ethyl acetate) to give the pure product 6c in 53% yield.

R_f = 0.92 (toluene/diethyl ether 7:3).

Example 5

The compounds of Examples I and II, as well as several other compounds (synthesised in unconventional manner) are tested for their estrogen receptor affinity, both as an agonist and as an antagonist.

Determination of competitive binding to cytoplasmic human estrogen receptor α or β from recombinant CHO cells is used to estimate the relative affinity (potency ratio) of a test compound for estrogen receptors present in the cytosol of recombinant Chinese hamster ovary (CHO) cells, stably transfected with the human estrogen receptor α (hER α) or β receptor (hER β), as compared with estradiol (E₂).

-14-

The estrogenic and antiestrogenic activity of compounds is determined in an in vitro bioassay with recombinant Chinese hamster ovary (CHO) cells stably co-transfected with the human estrogen receptor α (hER α) or β receptor (hER β), the rat oxytocin promoter (RO) and the luciferase reporter gene (LUC). The estrogenic activity (potency ratio) of a test compound to stimulate the transactivation of the enzyme luciferase mediated via the estrogen receptors hER α or hER β is compared with the standard estrogen estradiol. The antiestrogenic activity (potency ratio) of a test compound to inhibit the transactivation of the enzyme luciferase mediated via the estrogen receptors hER α or hER β by the estrogen estradiol is compared with the standard ICI 164,384 (= (7 α ,17 β)-N-butyl-3,17-dihydroxy-N-methylestra-1,3,5(10)-triene-7-undecanamide).

Results

Compound	Potency Transactivation	β/α ratio
5a	++	+++
5b	+++	+++
5c	++	+++
5e	+	+++
5j	+++	+++
5k	++	+++
5l	++	+++
5m	+	++
5n	+	++
6a	+++	+++
6b	+	+

15

Potency:(% relative to 17 β -estradiol)

+ between 0.1-4%

++ between 4-10%

20

+++ >10%

 β/α ratio:

+ between 3.5-10

++ between 10-30

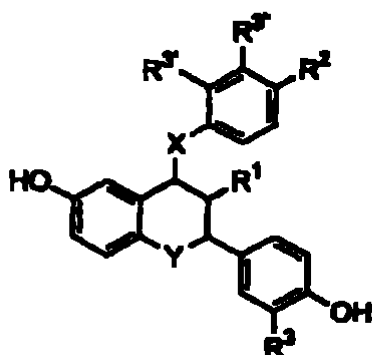
+++ >30

44

-15-

Claims:

1. A compound having the formula 1



5

formula 1

wherein:

X is -O-, -CH₂-, -CO-, or -S-;Y is -O-, -S- or -CH₂-;10 R¹ is (1C-4C)alkyl, (2C-4C) alkenyl or (2C-4C)alkynyl;R² is H, OH, alkyl, Hal, CF₃, aryl, alkyloxy, dialkylaminoalkyleneoxy or together with R^{3'} is an aromatic ring;R³, R^{3'} and R^{3''} are independently H, Hal, alkyl, alkenyl or alkynyl; or a prodrug or substitution variant thereof.

15

2. A compound according to claim 1, characterised in that

X is -CH₂-;

Y is -O-

R¹ is (1C-4C)alkyl, (2C-4C) alkenyl or (2C-4C)alkynyl, and20 independently R¹ has a cis-orientation in relation to the exocyclic phenyl group at the 2-position of the skeleton;R² is Hal, CF₃ or alkyloxy;R³, R^{3'} and R^{3''} are independently H, Hal, alkyl, alkenyl or alkynyl; or a prodrug or substitution variant thereof.

25

3. A compound according to claim 2 characterised in that R¹ is (1C-4C)alkyl, R¹, the exocyclic phenyl group at the 2-position and theexocyclic substituent at the 4-position of the chroman skeleton all have a cis-orientation; R³ is H or CH₃; R^{3'} is H or halogen, R^{3''} and R^{3'''} are H, or a prodrug thereof.

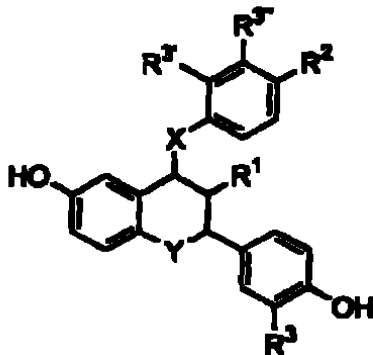
30

-16-

4. A compound according to any one of claim 1- 3 for use as a medicine
5. The use of a compound according to any one of claims 1-4 for the
5 manufacture of a medicine for use in estrogen-receptor related
treatments.
6. A pharmaceutical composition comprising a compound according to
any one of claim 1 - 3.

ABSTRACT

The invention provides a novel class of non-steroidal compounds having the formula



5

wherein X is -O-, -CH₂-, -CO-, or -S-; Y is -O-, -S- or -CH₂-; R¹ is (1C-4C)alkyl, (2C-4C) alkenyl or (2C-4C)alkynyl; R² is H, OH, alkyl, Hal, CF₃, aryl, alkyloxy, dialkylaminoalkyleneoxy or together with R^{3'} is an aromatic ring; R³, R^{3'} and R^{3''} are independently H, Hal, alkyl, alkenyl or alkynyl; and prodrugs and substitution variants thereof, which

10

compounds are useful for estrogen-receptor related treatments in view of a desirable profile of activity for estrogen α and estrogen β receptors.

~~50~~
46

TRADUCCION: Se traduce la carátula descripción y las reivindicaciones anexas a una copia de la solicitud de patente europea Nº00200713.6, escrita en inglés para el invento denominado: ANÁLOGOS DE CROMANO COMO COMPUESTOS ESTROGENICOS.

A N E X O S
OFICINA DE PATENTES EUROPEA

Certificado

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

Solicitud de patente Nº. 00200713.6

Por el Presidente de la Oficina de Patentes Europea
(Firmado Ilegible)

LL.C. HATTEN-HECKMAN

La Haya, 07/03/01

47 ~~51~~

OFICINA DE PATENTES EUROPEA

Página 2 del certificado

Solicitud Nº 00200713.6

Fecha de presentación 01/03/00

Solicitante(s)

**Akzo Nobel N.V.
6824 BM Arnhem
Holanda**

Título del invento: ANÁLOGOS DE CROMANO COMO COMPUESTOS ESTROGENICOS.

Prioridades reivindicadas

País	Fecha	Archivo Nº
-------------	--------------	-------------------

Clasificación Internacional de Patente:

C07D311/60, A61K31/35, A61P5/30

Países contratantes designados en la fecha de presentación:

AT/BE/CH/CY/DE/DK/ES/FI/FR/GB/GR/IE/IT/LI/LU/MC/NL/PT/SE/TR

Observaciones:

ANALOGOS DE CROMANO COMO COMPUESTOS ESTROGENICOS

La invención pertenece al campo de los compuestos estrogénicos no esteroides. Los compuestos estrogénicos y antiestrogénicos tienen una utilidad generalmente reconocida para los tratamientos médicos relacionados con los receptores de estrógenos, tales como para la anticoncepción y para el tratamiento de las molestias menopáusicas, osteoporosis y control de tumores dependientes de estrógenos.

Más precisamente, la invención se refiere a compuestos estrogénicos no esteroides con un esqueleto de fenilcromano o análogo. Compuestos con un esqueleto de 4-fenilcromano y un anillo fenilo en la posición 3, con particular énfasis en la naturaleza de la configuración cis-trans de los sustituyentes en las posiciones 3 y 4 (los lugares son de acuerdo con las reglas de Chemical Abstracts), se describen en la patente WO 98/18771 para terapias estrogénicas. A pesar de que existe un gran interés por compuestos con afinidad por el receptor de estrógenos, nuevos compuestos con un esqueleto de 4-bencil-2-fenilcromano y afinidad por el receptor de estrógenos no pueden ser conocidos a partir de este documento.

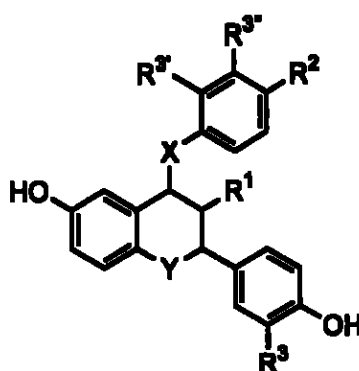
El interés por nuevos compuestos con afinidad por el receptor de estrógenos surge de los resultados insatisfactorios obtenidos con compuestos estrogénicos conocidos para el tratamiento de la osteoporosis y el tratamiento de otras molestias postmenopáusicas, y del descubrimiento de dos tipos diferentes de receptores, denominados ER α y ER β (véase Mosselman et al., FEBS Letters 392 (1996) 49-53 y también la patente europea EP-A-0 798

85
49

378). Debido a que estos receptores tienen diferente distribución en los tejidos humanos, el descubrimiento de compuestos que poseen una afinidad selectiva por uno de los dos es un avance técnico importante, haciendo posible proporcionar un tratamiento más selectivo en los tratamientos médicos relacionados con los receptores de estrógenos, tales como aquéllos para la anticoncepción y para el tratamiento de las molestias menopáusicas, osteoporosis y control de tumores dependientes de estrógenos, con una carga más baja de efectos secundarios relacionados con los estrógenos.

La presente invención se basa en el descubrimiento de que los compuestos con un esqueleto de un 4-bencil-, un 4-feniloxi, un 4-feniltio, o un 4-fenilcarbonil-2-fenilcromano con sustituciones de hidroxilo en sitios específicos, y también sus análogos tetrahidronaftaleno y tiocromano, poseen una afinidad sorprendentemente alta por los receptores de estrógenos. Además, la presente invención se refiere a estos compuestos como compuestos con afinidad selectiva por los β -receptores de estrógenos (ER β).

Más específicamente, la invención proporciona compuestos no esteroides que tienen la fórmula 1:



fórmula 1

donde

X es -O-, -CH₂-, -CO- ó -S-;

Y es -O-, -S- ó -CH₂-;

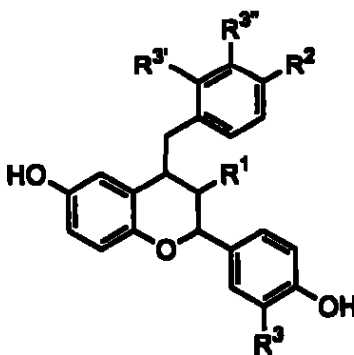
R¹ es (1C-4C)alquilo, (2C-4C)alquenilo o (2C-4C)alquinilo;

R² es H, OH, alquilo, Hal, CF₃, arilo, alquiloxi, dialquilaminoalquilenoxi o, junto con R^{3''}, es un anillo aromático;

R³, R^{3'} y R^{3''} son independientemente H, Hal, alquilo, alquenilo o alquinilo;

y profármacos y variantes de sustitución de los mismos.

En vista de la mejor eficacia o selectividad por el receptor ERβ, se prefieren aquellos compuestos que tienen la fórmula 2:



fórmula 2

donde

R¹ es (1C-4C)alquilo, (2C-4C)alquenilo o (2C-4C)alquinilo, e independientemente R¹ tiene una orientación cis en relación con el grupo fenilo exocíclico en la posición 2 del esqueleto;

R² es Hal, CF₃ o alquiloxi;

R³, R^{3'} y R^{3''} son independientemente H, Hal, alquilo, alquenilo o alquinilo;

y profármacos y variantes de sustitución de los mismos.

Los compuestos más preferidos que son agonistas más eficaces y más selectivos para los receptores de estrógenos ER β son compuestos que tienen la fórmula 2, donde R¹ es (1C-4C)-alquilo, R¹, el grupo fenilo exocíclico en la posición 2 y el sustituyente exocíclico en la posición 4 del esqueleto de cromano tienen todos una orientación cis; R^{3'} es H o halógeno, R² y R^{3''} son H; R³ es H ó CH₃, y profármacos de los mismos.

Un profármaco se define como un compuesto que se convierte, en el cuerpo de un sujeto receptor, en un compuesto como el definido por las fórmulas 1 ó 2 o una variante de sustitución del mismo. Notablemente, los grupos hidroxilo en la posición 6 y la posición 4-fenilo de los esqueletos de las fórmulas 1 y 2 pueden ser sustituidos, por ejemplo, por alquil*oxi, alquenil*oxi, acil*oxi, aroiloxi, alc*oxi-carboniloxi, grupos sulfonilo o grupos fosfato, donde la longitud de la cadena carbonada de los grupos indicados con un asterisco (*) no se considera que está claramente delimitada, en tanto que aroilo generalmente comprenderá un fenilo, piridinilo o pirimidilo, cuyos grupos pueden tener las sustituciones habituales en el arte, tales como alquil*oxi, hidroxil, halógeno, nitro, ciano y (mono-, o dialquil*-)amino. La longitud de los grupos alquilo, alquenilo y acilo se selecciona dependiendo de las propiedades deseadas de los profármacos, donde los profármacos de cadenas más largas, por ejemplo con cadenas de laurilo o caproílo, son más adecuados para los preparados de liberación sostenida y de depósito. Es sabido que estos sustituyentes se hidrolizan espontáneamente o son hidrolizados enzimáticamente a los sustituyentes con

hidroxilo libre en el esqueleto del compuesto. Estos profármacos tendrán una actividad biológica comparable a los compuestos en los cuales se convierten en el cuerpo de los sujetos receptores. El compuesto activo en el cual se convierte un profármaco se denomina compuesto madre. El inicio de la acción y la duración de la acción, y también la distribución en el cuerpo de un profármaco, pueden diferir de estas mismas propiedades en el compuesto madre. Para otros tipos de profármacos, debe hacerse notar que los grupos hidroxilo en los compuestos de acuerdo con las fórmulas 1 ó 2 pueden ser colocados en posición por el sistema metabólico del sujeto receptor. Los grupos hidroxilo son esenciales para la afinidad por los receptores de estrógenos. Así, los compuestos definidos por las fórmulas 1 ó 2 y variantes de sustitución de los mismos pero que carecen de uno o ambos grupos hidroxilo, también están disponibles como compuestos de acuerdo con esta invención, y estos compuestos se denominan profármacos.

Una variante de sustitución se define como un compuesto que comprende, en su estructura molecular, la estructura definida por las fórmulas 1 ó 2. Un experto en el arte, al inspeccionar el grupo de compuestos definidos por estas fórmulas, entenderá inmediatamente que la modificación por un sustituyente en el esqueleto puede dar un compuesto con una actividad biológica similar a la del compuesto sin este sustituyente particular. Por ejemplo, un sustituyente alquilo inferior en el anillo aromático habitualmente no cambiará drásticamente la actividad biológica. Esta variedad de grupos sustituyentes de los cuales puede seleccionarse un sustituyente está representada, por ejemplo, por la lista: halógeno, (ciclo)alquilo*, alquenilo*, alquinilo*, acilo*,

arilo, aroflo, O-alquilo*, O-alquenilo*, O-alquinilo*, S-alquilo*, S-alquenilo* y S-alquinilo*, donde la longitud de la cadena carbonada de los grupos indicados con un asterisco (*) no se considera que está claramente delimitada, pero para las variantes de sustitución generalmente estará en el rango de 1 a 4 átomos de carbono para los grupos alifáticos y alicíclicos, en tanto que arilo generalmente será fenilo, piridinilo o pirimidilo, cuyos grupos pueden tener otras sustituciones habituales en el arte, tales como alquil*oxi, hidroxí, halógeno, nitro, ciano y (mono-, o dialquil*-)amino. Es una práctica común en el arte ensayar estas variantes de sustitución en cuanto a la actividad biológica esperada, de manera que es una destreza rutinaria obtener variantes de sustitución útiles de los compuestos definidos por las fórmulas 1 y 2.

Otros términos usados en esta descripción tienen los siguientes significados:

alquilo es un grupo alquilo ramificado o no ramificado, por ejemplo metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, sec-butilo, ter-butilo, hexilo, octilo, caprilo o laurilo;

alquenilo es un grupo alquenilo ramificado o no ramificado, tal como etenilo, 2-butenilo, etc.;

alquinilo es un grupo alquinilo ramificado o no ramificado, tal como etinilo y propinilo.

Hal y halógeno se refieren a flúor, cloro, bromo y yodo.

Los prefijos (1C-4C), (2C-4C), etc. tienen el significado habitual para restringir el significado del grupo indicado a aquéllos con 1 a 4, 2 a 4, etc. átomos de carbono.

Los compuestos de esta invención contienen al menos tres centros de quiralidad y pueden existir como enantiómeros

y diastereómeros. La presente invención incluye dentro de su alcance los enantiómeros y diastereómeros mencionados y cada uno de los enantiómeros individuales (R) y (S) y sus sales, sustancialmente libres, o sea asociados con menos de 5%, de preferencia menos de 2%, en particular menos de 1% del otro enantiómero, y mezclas de estos enantiómeros en cualquier proporción, incluyendo mezclas racémicas que contienen cantidades sustancialmente iguales de los dos enantiómeros.

El perfil de afinidad por los receptores de estrógenos de los compuestos de acuerdo con la presente invención los hace adecuados como estrógenos o antiestrógenos mejorados, en el sentido de que pueden usarse para tratamientos médicos relacionados con los receptores de estrógenos, tales como en anticoncepción o para el tratamiento o prevención de la hipertrofia prostática benigna, trastornos cardiovasculares, molestias menopáusicas, osteoporosis, control de tumores dependientes de estrógenos, o trastornos del sistema nervioso central tales como depresión o enfermedad de Alzheimer. Los compuestos preferidos de la invención, que tienen afinidad selectiva por el receptor ER β , son particularmente adecuados para los tratamientos médicos relacionados con receptores de estrógenos con una disminución de los efectos secundarios relacionados con estrógenos. Esto es muy deseable cuando estos compuestos se usan en el tratamiento de osteoporosis, trastornos cardiovasculares y trastornos del sistema nervioso central tales como depresión o enfermedad de Alzheimer.

Los compuestos de la invención pueden ser producidos por diversos métodos conocidos en el arte de la química orgánica en general.

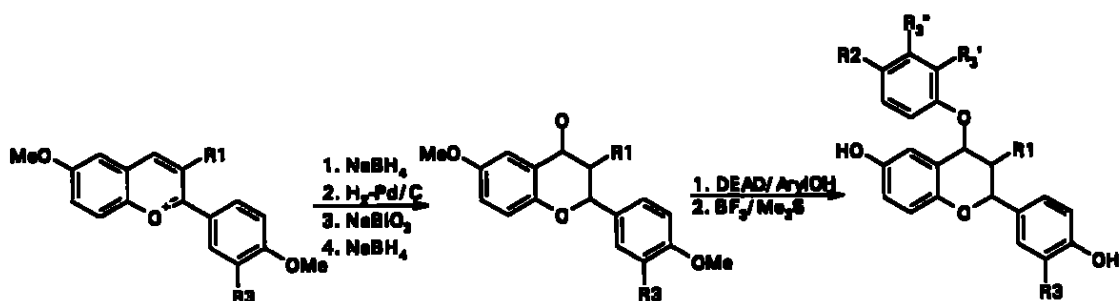
Más específicamente, pueden usarse las rutas de síntesis ilustradas en los esquemas de los ejemplos.

Los 4-bencil cromanos pueden prepararse como mezclas DL a partir de la reacción de las sales de cromenilio apropiadas con un cloruro de bencilmagnesio sustituido o no sustituido, seguido por la hidrogenación de los 2,3-cromenos resultantes.

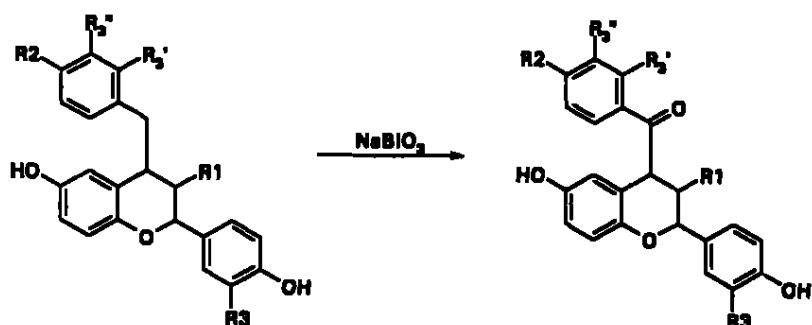
Las sales de cromenilio pueden ser derivadas de la reacción de 4-benciloxi, 4-metoxi o 4-hidroxil-2-hidroxibenzaldehído y una alquilfenilcetona apropiada, en presencia de ácido trifluorometanosulfónico. Las alquilfenilcetonas están disponibles en el comercio o bien pueden prepararse de acuerdo con el método efectuado en el Ejemplo 1.

La preparación de 4-feniloxi-cromanos, 4-benzofl-cromanos, 1-bencil-, 1-feniloxi- y 1-benzofl-3-feniltetralonas puede hacerse de acuerdo con los Esquemas 1-3, respectivamente. Las abreviaturas en los esquemas son: DEAD es azodicarboxilato de dietilo, Me es metilo y PPA es ácido pirofosfórico.

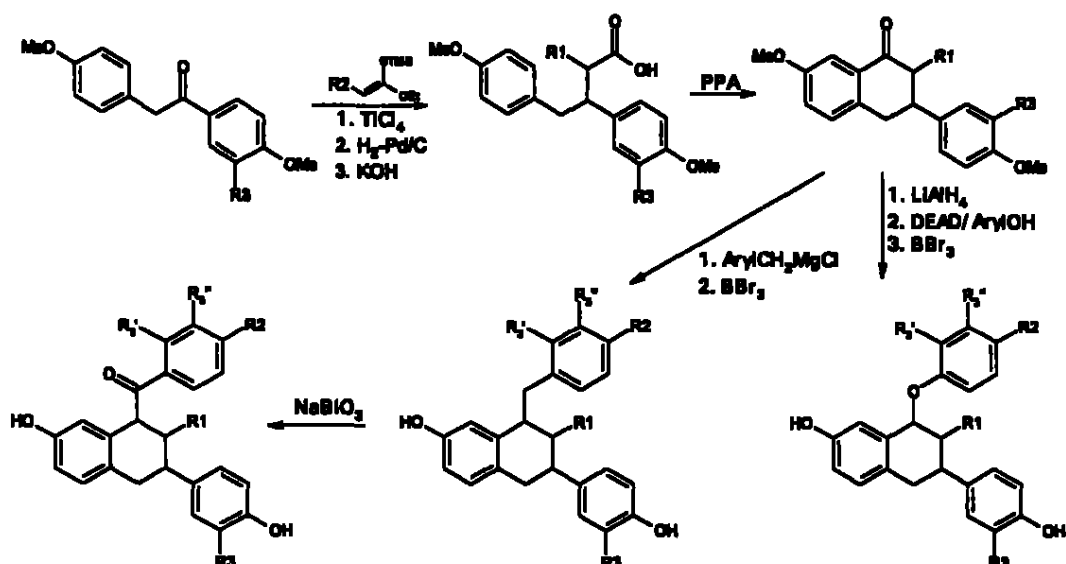
Esquema 1. Preparación de 4-feniloxi-cromanos



Esquema 2. Preparación de 4-benzofl-cromanos



Esquema 3. Preparación de 1-bencil-, 1-feniloxi- y 1-benzoil-3-fenil-tetralonas



Pueden prepararse profármacos ésteres por esterificación de compuestos con grupos hidroxilo libres, por reacción con acil cloruros apropiados en piridina.

La presente invención también se refiere a una composición farmacéutica que comprende el compuesto no esteroide de acuerdo con la invención, mezclado con un auxiliar farmacéuticamente aceptable, como se describe en la referencia estándar Gennaro y colaboradores, Remington's Pharmaceutical Sciences, (18a. Ed., Mack Publishing Company, 1990, véase especialmente Parte 8: Pharmaceutical Preparations and Their Manufacture). La mezcla de los

compuestos de acuerdo con la invención y el auxiliar farmacéuticamente aceptable puede ser comprimida a unidades de dosificación sólidas, tales como píldoras o tabletas, o puede ser procesada para formar cápsulas o supositorios. Por medio de líquidos farmacéuticamente adecuados, los compuestos también pueden ser aplicados como un preparado inyectable en la forma de una solución, suspensión, emulsión, o como un rocío, por ejemplo un rocío nasal. Para fabricar unidades de dosificación, por ejemplo tabletas, se contempla el uso de aditivos convencionales tales como rellenos, colorantes, aglutinantes poliméricos y similares. En general, puede usarse cualquier aditivo farmacéuticamente aceptable que no interfiera con la función de los compuestos activos. Los compuestos de la invención también pueden ser incluidos en un implante, un anillo vaginal, un parche, un gel, y cualquier otro preparado de liberación sostenida.

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

Además, la invención se refiere al uso del compuesto no esteroide de acuerdo con la invención para la fabricación de un medicamento para tratamientos relacionados con los receptores de estrógenos y el tratamiento de trastornos relacionados con los receptores de estrógenos tales como molestias peri- y/o postmenopáusicas. Así, la invención también se refiere a las indicaciones médicas de molestias peri- y/o postmenopáusicas (climatéricas) y osteoporosis, o sea un método de tratamiento en el campo de la terapia de sustitución de hormonas (HRT), que comprende la administración a un paciente, que es una mujer, de un

62
58

compuesto como el descrito anteriormente (en una forma de dosificación farmacéutica adecuada).

Además, la invención se refiere al uso del compuesto no esteroide de acuerdo con la invención para la fabricación de un medicamento que tiene actividad anticonceptiva. Así, la invención también concierne a la indicación médica de la anticoncepción, o sea un método anticonceptivo que comprende la administración a un sujeto, que es una mujer o un animal hembra, de un progestágeno y un estrógeno como es habitual en este campo, donde el estrógeno es un compuesto como el descrito anteriormente (en una forma de dosificación farmacéutica adecuada).

Finalmente, la invención se refiere al uso del compuesto no esteroide para la fabricación de un medicamento que tiene actividad estrogénica selectiva, tal como un medicamento que es generalmente adecuado en el área de HRT.

Las cantidades de dosificación de los presentes compuestos serán del orden normal para los derivados del estradiol, por ejemplo del orden de 0,01 a 10 mg por administración.

La invención se ilustra más adelante con referencia a algunos ejemplos no limitantes y los esquemas de fórmulas correspondientes.

EJEMPLOS

En los ejemplos, los compuestos se identifican con números, por ejemplo 1a, 1b, 2b, etc. Estos números se refieren a las definiciones de los compuestos en los esquemas. En los esquemas, se usan las siguientes abreviaturas: Bn = bencilo, But = butilo, Et = etilo, Me = metilo, Pr = propilo, Piv = pivaloílo.

163
59

Ejemplo 1. Preparación de 4-hidrox-, 4-benciloxi- y 4-metoxi-2-acil-benceno.

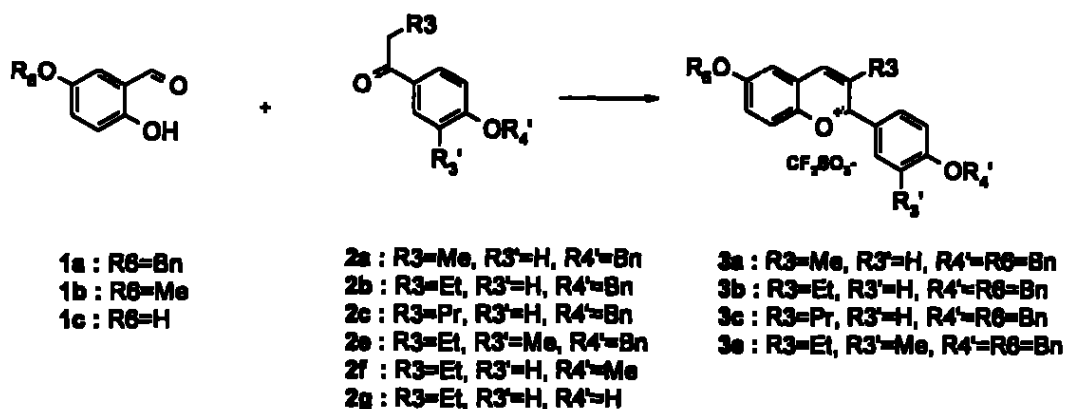
El fenol apropiado fue disuelto en diclorometano (3ml/mmol). La solución fue enfriada en un baño de hielo bajo una atmósfera de nitrógeno. A esta solución se agregó cloruro de aluminio anhidro (2 eq) en pequeñas porciones. Enseguida, se agregó gota a gota una solución de alcanolil cloruro (1 eq) en diclorometano (1 ml/mmol). La mezcla de reacción fue agitada durante la noche (aproximadamente 18 horas) a temperatura ambiente.

La mezcla de reacción fue vertida cuidadosamente en agua helada. El producto precipitado fue extraído con acetato de etilo. La capa orgánica fue extraída dos veces con solución de hidróxido de sodio 2N. Las capas acuosas combinadas fueron lavadas dos veces con éter dietílico. La capa acuosa fue acidificada agitando con ácido clorhídrico concentrado hasta pH 5. El producto precipitado fue extraído con éter dietílico. La capa orgánica fue secada sobre sulfato de magnesio anhidro y el solvente fue evaporado. Los 4-hidrox-2-acil-bencenos fueron obtenidos con rendimientos de 30-70%.

La bencilación o metilación se efectuó por reacción de los 4-hidrox-2-acil-bencenos con bromuro de bencilo (1,2 eq) o yoduro de metilo (4 eq) en acetona (5-10 ml/mmol), en presencia de carbonato de potasio (2 eq). La mezcla de reacción fue calentada a reflujo por 1-3 horas. La mezcla de reacción fue enfriada hasta temperatura ambiente, y se agregó acetato de etilo y agua. La capa orgánica fue lavada una vez con 10 ml de solución de hidróxido de sodio 2N, secada sobre sulfato de magnesio y concentrada.

64
60

Ejemplo 2. Preparación de sales de cromenilio 3 de acuerdo con el Esquema 4:



El 4-benciloxi- [T. Kappe et al., Arch. Pharmaz.; 308, 339-346 (1975)], 4-hidroxio, o 4-metoxi-2-hidroxio-benzaldehído 1a-c (1 mmol) y la cetona apropiada 2a-g (1 mmol) fueron disueltos en 5 ml de éter dietílico. La solución fue enfriada en un baño de hielo. Se agregó gota a gota ácido trifluorometanosulfónico (2 mmoles) y la mezcla de reacción fue agitada durante la noche (aproximadamente 18 horas) a temperatura ambiente.

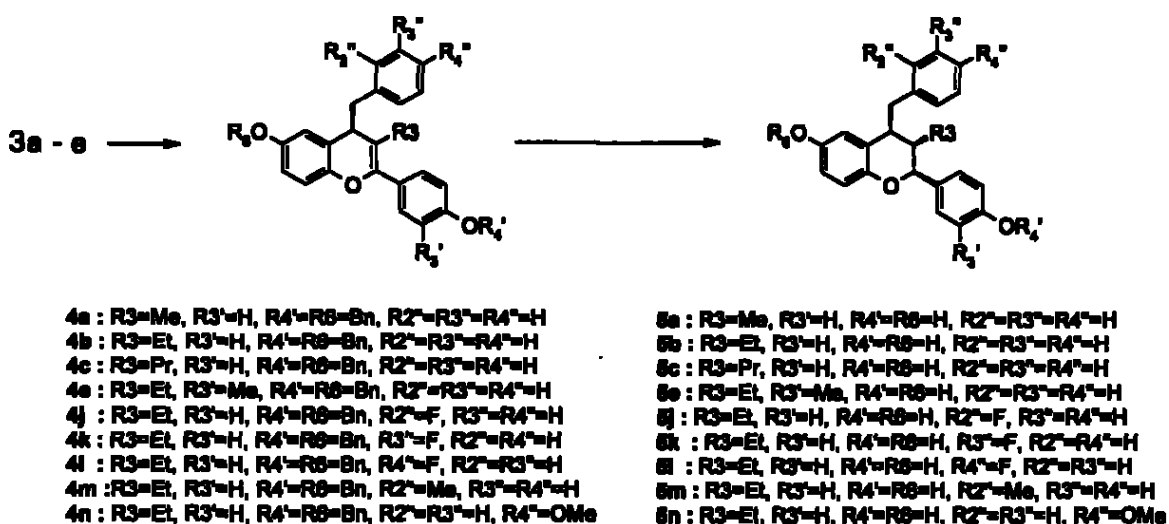
Los productos precipitados de color rojo/café 3a-e fueron recolectados por filtración, lavados acabadamente con 20 ml de éter dietílico y secados al vacío. Los rendimientos variaron entre 50-80% (véase la tabla que sigue).

Producto	Rendimiento (% de lo teórico)
3a	73
3b	70
3c	54

65
61

3e	52
----	----

Ejemplo 3: Preparación de 4-bencil-cromanos 5a-5l de acuerdo con el Esquema 5:



La sal de cromenilio 3a-1 fue suspendida en 10 ml de éter dietílico seco (10 ml/mmol). La suspensión fue enfriada en un baño de etanol/CO₂ hasta -78°C. Se agregó cloruro de bencilmagnesio (solución 2 M en tetrahidrofurano, 3 eq) usando una jeringa. La solución fue agitada por 0,5 hora a -78°C. La mezcla de reacción fue recogida en acetato de etilo y extraída con solución saturada de cloruro de amonio. La capa orgánica fue lavada dos veces con agua y una vez con solución saturada de cloruro de sodio y secada sobre sulfato de magnesio anhidro, y el solvente fue evaporado. El residuo fue purificado ya sea por recristalización en etanol o por cromatografía en columna (heptano/acetato de etilo),

para dar 4a-n puro en 32-90% del rendimiento teórico (véase la tabla que sigue).

Producto	Rendimiento (% de lo teórico)	Valor de R_f
4a	87	0,65 (Tolueno/éter dietílico 1:1)
4b	75	0,61 (Heptano/acetato de etilo 7:3)
4c	82	0,67 (Heptano/acetato de etilo 7:3)
4e	32	0,63 (Heptano/acetato de etilo 7:3)
4j	60	0,62 (Heptano/acetato de etilo 7:3)
4k	72	0,64 (Heptano/acetato de etilo 7:3)
4l	76	0,66 (Heptano/acetato de etilo 7:3)
4m	47	0,73 (Heptano/acetato de etilo 7:3)
4n	57	0,61 (Heptano/acetato de etilo 7:3)

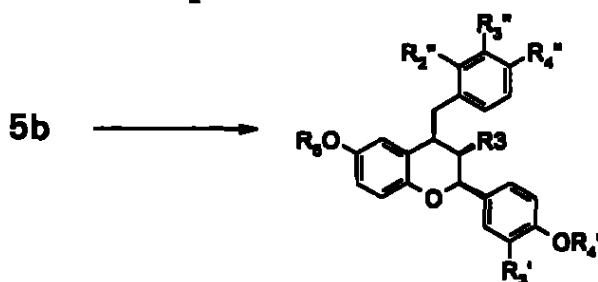
1 mmol del 4-bencil-flavano sustituido 4a-n fue disuelto en 35 ml de acetato de etilo. A esta solución se agregó 1 mg de paladio en carbón (10% p/p) por cada 4 mg, y se hizo pasar hidrógeno a través de la mezcla de reacción durante 2 horas con agitación. El catalizador fue retirado por filtración y lavado con 10 ml de acetato de etilo, y el filtrado fue concentrado bajo presión reducida.

El producto crudo fue purificado por cromatografía en columna (tolueno/éter dietílico), para dar 5a-n puro en 32-98% del rendimiento teórico (véase la tabla que sigue).

63

Producto	Rendimiento (% de lo teórico)	Valor de R_f
5a	56	0,52 (Tolueno/éter dietílico1:1)
5b	98	0,44 (Tolueno/éter dietílico1:1)
5c	52	0,56 (Tolueno/éter dietílico1:1)
5e	47	0,48 (Tolueno/éter dietílico1:1)
5j	85	0,37 (Tolueno/éter dietílico1:1)
5k	72	0,49 Tolueno/éter dietílico1:1)
5l	76	0,38 (Tolueno/éter dietílico1:1)
5m		
5n	52	0,57 (Tolueno/éter dietílico1:1)

Ejemplo 4. Preparación de acil ésteres 6a y 6b de acuerdo con el Esquema 6.



6a : R3=Et, R3'=H, R4'=R6=But, R2'=R3'=R4'=H
 6b : R3=Et, R3'=H, R4'=R6=Plv, R2'=R3'=R4'=H
 6c : R3=Et, R3'=H, R4'=R6=Me, R2'=R3'=R4'=H

5b fue disuelto en piridina seca (5ml/mmol). A esta solución se agregó gota a gota n-butilril cloruro o trimetilacetil cloruro (2,2-2,5 eq). La mezcla de reacción fue agitada por 2 horas a temperatura ambiente. La mezcla de reacción fue recogida en acetato de etilo y extraída con agua. La capa orgánica fue lavada 2 veces con solución saturada de cloruro de sodio y secada sobre sulfato de magnesio anhidro. El solvente fue evaporado y el producto

64

crudo fue purificado por cromatografía en sílica gel (tolueno/éter dietílico) para dar los productos puros 6a y 6b, respectivamente, con un 60-70% de rendimiento.

$R_f = 0,89$ (tolueno/éter dietílico 7:3).

Preparación de 6c.

1,66 mmol de 5b fue disuelto en 10 ml de dimetilformamida. 3,66 mmoles (2,2 eq) de hidruro de sodio (60% p/p en aceite mineral) fueron agregados a la solución. 9,99 mmoles (6 eq) de yoduro de metilo fueron agregados gota a gota a la solución, con agitación. La mezcla de reacción fue agitada por 2 horas a temperatura ambiente. La mezcla de reacción fue vertida en 20 ml de agua. El producto fue extraído con 50 ml de diclorometano. La capa orgánica fue lavada dos veces con 15 ml de agua y secada sobre sulfato de magnesio anhidro. El solvente fue evaporado y el producto crudo fue purificado por cromatografía en columna (tolueno/acetato de etilo) para dar el producto puro 6c con un 53% de rendimiento.

$R_f = 0,92$ (tolueno/éter dietílico 7:3).

Ejemplo 5

Los compuestos de los Ejemplos 1 y 2, y también varios otros compuestos (sintetizados de manera no convencional), son analizados en cuanto a su afinidad con los receptores de estrógenos, como agonistas y también como antagonistas.

La determinación de la unión competitiva al receptor de estrógenos α ó β citoplasmático humano a partir de células CHO recombinantes, se usa para estimar la afinidad relativa (razón de potencia) de un compuesto de prueba por

65

los receptores de estrógenos presentes en el citosol de células recombinantes de ovario de hámster chino (CHO), transfectadas en forma estable con el receptor de estrógenos humano α (hER α) ó β (hER β), en comparación con estradiol (E₂).

La actividad estrogénica y antiestrogénica de los compuestos se determina en un bioensayo in vitro con células recombinantes de ovario de hámster chino (CHO), co-transfectadas en forma estable con el receptor de estrógenos humano α (hER α) ó β (hER β), el promotor de oxitocina de rata (RO) y el gen reportero de luciferasa (LUC). La actividad estrogénica (razón de potencia) de un compuesto de prueba para estimular la transactivación de la enzima luciferasa mediada por los receptores de estrógenos hER α ó hER β , se compara con el estrógeno estándar estradiol. La actividad antiestrogénica (razón de potencia) de un compuesto de prueba para inhibir la transactivación de la enzima luciferasa mediada por los receptores de estrógenos hER α ó hER β por el estrógeno estradiol, se compara con el estándar ICI 164.384 (= (7 α ,17 β)-N-butil-3,17-dihidroxi-N-metilestra-1,3,5(10)-trieno-7-undecanamida).

Resultados

Compuesto	Potencia de transactivación	Razón β/α
5a	++	+++
5b	+++	+++
5c	++	+++
5e	+	+++
5j	+++	+++
5k	++	+++
5l	++	+++
5m	+	++
5n	+	++
8a	+++	+++
8b	+	+

Potencia (% relativa a 17β -estradiol): razón β/α :

+ entre 0,1-4%

++ entre 4-10%

+++ >10%

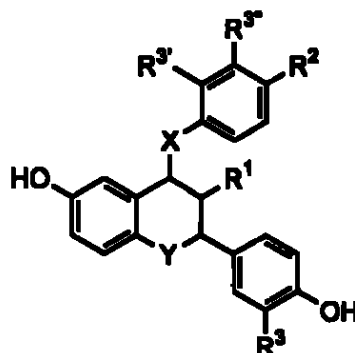
+ entre 3,5-10

++ entre 10-30

+++ >30

X
6.7REIVINDICACIONES

1. Un compuesto que tiene la fórmula 1:



Fórmula 1

donde

X es -O-, -CH₂-, -CO- ó -S-;

Y es -O-, -S- ó -CH₂-;

R¹ es (1C-4C)alquilo, (2C-4C)alquenilo o (2C-4C)alquinilo;

R² es H, OH, alquilo, Hal, CF₃, arilo, alquiloxi, dialquilaminoalquilenoxi o, junto con R^{3''}, es un anillo aromático;

R³, R^{3'} y R^{3''} son independientemente H, Hal, alquilo, alquenilo o alquinilo;

o un profármaco o variante de sustitución del mismo.

2. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizado porque

X es -CH₂-;

Y es -O-;

R¹ es (1C-4C)alquilo, (2C-4C)alquenilo o (2C-4C)alquinilo, e independientemente R¹ tiene una orientación cis en relación con el grupo fenilo exocíclico en la posición 2 del esqueleto;

R² es Hal, CF₃ o alquiloxi;

77
68

R^3 , $R^{3'}$ y $R^{3''}$ son independientemente H, Hal, alquilo, alquenilo o alquinilo;
o un profármaco o variante de sustitución del mismo.

3. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 2, caracterizado porque R^1 es (1C-4C)alquilo, R^1 , el grupo fenilo exocíclico en la posición 2 y el sustituyente exocíclico en la posición 4 del esqueleto de cromano tienen todos una orientación cis; R^3 es H ó CH_3 , $R^{3'}$ es H o halógeno, R^2 y $R^{3''}$ son H, o un profármaco del mismo.

4. Un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-3 para el uso como un medicamento.

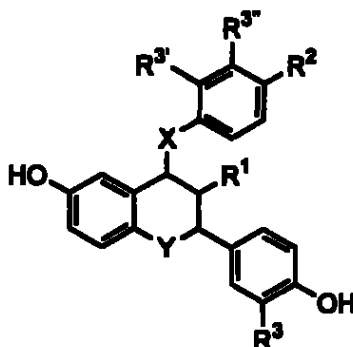
5. El uso de un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-4 para la fabricación de un medicamento para el uso en tratamientos relacionados con los receptores de estrógenos.

6. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-3.

802.572pr

RESUMEN

La invención proporciona una nueva clase de compuestos no esteroides que tienen la fórmula:



donde

X es -O-, -CH₂-, -CO- ó -S-; Y es -O-, -S- ó -CH₂-; R¹ es (1C-4C)alquilo, (2C-4C)alquenilo o (2C-4C)alquinilo; R² es H, OH, alquilo, Hal, CF₃, arilo, alquilo, dialquilaminoalquilenoxi o, junto con R^{3''}, es un anillo aromático; R³, R^{3'} y R^{3''} son independientemente H, Hal, alquilo, alquenilo o alquinilo; y profármacos y variantes de sustitución de los mismos, cuyos compuestos son útiles para tratamientos relacionados con los receptores de estrógenos, en vista de un perfil deseable de actividad para receptores de estrógenos α y β.

C. BASIC