

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
DIRECCIÓN DE NUEVAS CREACIONES

2020
Bogotá, D.C.,

Abogado
J. IAN RAISBECK

ASUNTO	Radicación	08 127 741
	Trámite	11
	Evento	379
	Actuación	519
	Oficio	<u>10246</u>
	Folios	25

Patente de Invención	☒	Patente de Modelo de Utilidad
Vía Nacional		
Vía PCT (Fase Nacional)	☒	Capítulo I ☐ Capítulo II ☒
No. Solicitud Internacional	PCT/EP2007/004805	
Fecha de Presentación Internacional	31/Mayo/2007	

Como resultado del Examen de Fondo realizado, con fundamento en el Artículo 45 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, se comunica:

1. Documentos estudiados

Descripción:	Folios 35 a 57	01/Diciembre/2008
Reivindicaciones:	Folios 58 a 61	01/Diciembre/2008
	Folios 69 a 72	01/Diciembre/2008
Dibujos:	Folios 63 a 68	01/Diciembre/2008
Prioridad:	US 60 810 127	02/Junio/2006
	EP 06090095.8	02/Junio/2006

2. Análisis de la Prioridad

Se acepta la reivindicación de prioridad porque esta solicitud fue presentada dentro del plazo establecido (Art. 9 D 486) y su contenido técnico corresponde con el de la prioridad reivindicada.

3. Objeto de la invención

Título de la solicitud: "Formas cristalinas de 11β(4-acetilfenil)-20,20,21,21,21-pentafluoro-17-hidroxi-19-nor-17α-pregna-4,9,-dien-3-ona".

El problema planteado en esta solicitud consiste en la necesidad de suministrar formas sólidas del compuesto 11β(4-acetilfenil)-20,20,21,21,21-pentafluoro-17-hidroxi-19-nor-17α-pregna-4,9,-dien-3-ona que tengan mayor estabilidad de

almacenamiento que las formas amorfas conocidas.

Para resolver este problema técnico la solicitud en estudio proporciona la forma polimórfica I del compuesto 11β(4-acetilfenil)-20,20,21,21,21-pentafluoro-17-hidroxi-19-nor-17α-pregna-4,9,-dien-3-ona, caracterizada porque su difractograma de rayos X en polvo presenta líneas en d = 21,4 Å, y la forma polimórfica II del mismo compuesto caracterizada porque su difractograma de rayos X en polvo presenta líneas en d = 5,1 Å.

El objeto de la presente Solicitud se relaciona con la Clasificación Internacional de Patentes (CIP): A61K31/567, A61P5/36, C07J1/00

4. De la Solicitud de Patente

Reivindicaciones (Art 30 D 486, Art 22 PCT)

Las reivindicaciones 1 y 4 no son claras porque no caracterizan apropiadamente los polimorfos reivindicados, debido a que no presentan por lo menos los 20 picos correspondientes a las intensidades de los haces difractados o a los espacios interplanares d_{hkl} según los índices de Miller (hkl) medidos de acuerdo con el ángulo de difracción de Bragg 2θ en el intervalo más representativo comprendido entre 5° hasta 90°.

Las reivindicaciones 8, 9, 14, 17 y 21 no definen la invención porque emplean los términos "contenido de solvente residual menor que", "valor de X_{50.3} menor que", "no produce ningún solvato", o, "durante su preparación se elimina gran parte de la impurezas", que son resultados a alcanzar; no definen la invención porque reivindicación incluiría no sólo la solución propuesta por el solicitante, sino todas las alternativas presentes o futuras que lleguen a ese resultado. Se sugiere reemplazarlo por las características esenciales, estructurales o funcionales, que contribuyen a la obtención de ese efecto.

Las reivindicaciones 11 y 12 no son claras porque indican el uso que puede darse al compuesto reivindicado, lo cual no es una característica técnica que defina la invención o aporte algo adicional al compuesto ya reclamado. Se sugiere eliminar estas reivindicaciones del alcance del pliego reivindicatorio.

5. Determinación del Estado de la Técnica

El estado de la técnica se determinó con base en la fecha de presentación de la solicitud de prioridad 02 de junio de 2006 y se encontraron los siguientes documentos que anticipan el objeto de esta solicitud:

Item	Documento	Título	Fecha de Publicación*
D1	Artículo ¹	Synthesis and biological activity of a novel, highly potent progesterone receptor antagonist	12/Julio/2000
D2	Libro ²	Farmacia Remington	1995

¹ Fuhrmann, U., et al; Synthesis and biological activity of a novel, highly potent progesterone receptor antagonist; J. Med. Chem. 2000, 43, pg. 5010-5016.
² A. R. Gennaro. "Remington Farmacia". 19 ed. Ed. Médica Panamericana. 1995 (fl 126-136).

D1 (folios 119-125), divulga (pg. 5014, compuesto 2, ZK 230211) el compuesto 11β(4-acetilfenil)-20,20,21,21,21-pentafluoro-17-hidroxi-19-nor-17α-pregna-4,9,-dien-3-ona

D2 (Folios 126 a 136) enseña el estudio del polimorfismo como una tarea rutinaria dentro del campo farmacéutico en la preformulación de preparados farmacéuticos y que la variedad de formas cristalinas de un compuesto permiten variar propiedades como la solubilidad, estabilidad, velocidad de disolución entre otras.

6. Examen de Patentabilidad (Art 14 D486)

Nivel Inventivo (Art18 D486)

La reivindicación 1 consiste en la forma polimórfica I del compuesto 11β(4-acetilfenil)-20,20,21,21,21-pentafluoro-17-hidroxi-19-nor-17α-pregna-4,9,-dien-3-ona, caracterizada porque sus difractograma de rayos X en polvo presenta líneas en d = 21,4 Å.

La reivindicación 4 consiste en la forma polimórfica II del compuesto 11β(4-acetilfenil)-20,20,21,21,21-pentafluoro-17-hidroxi-19-nor-17α-pregna-4,9,-dien-3-ona, caracterizada porque sus difractogramas de rayos X en polvo presenta líneas en d = 5,1 Å.

Comparación de las características técnicas **esenciales**, con las del Estado de la Técnica:

Características esenciales	D1	D2
Forma polimórfica I de 11β(4-acetilfenil)-20,20,21,21,21-pentafluoro-17-hidroxi-19-nor-17α-pregna-4,9,-dien-3-ona	Compuesto 11β(4-acetilfenil)-20,20,21,21,21-pentafluoro-17-hidroxi-19-nor-17α-pregna-4,9,-dien-3-ona como sólido	Enseña que el fenómeno de polimorfismo (formas cristalinas) es la capacidad de cualquier elemento o compuesto para cristalizar en más de un sistema cristalino y es un trabajo habitual en el campo de preformulación farmacéutico.
Forma polimórfica II de 11β(4-acetilfenil)-20,20,21,21,21-pentafluoro-17-hidroxi-19-nor-17α-pregna-4,9,-dien-3-ona		
Forma polimórfica I: patrón de difracción de rayos X en polvo presenta líneas en d = 21,4 Å.	No se menciona	Enseña que la caracterización de formas cristalinas para un mismo compuesto por medio del patrón de difracción de rayos X es un método convencional
Forma polimórfica II: patrón de difracción de rayos X en polvo presenta líneas en d = 5,1 Å.		

Aproximación método problema-solución para polimorfos (formas cristalinas)

1. Determinación del estado de la técnica más cercano:

El documento D1 (folios 119-125) se considera el estado de la técnica cercano a la invención definida en la reivindicación 1 porque divulgan el compuesto 11β(4-acetilfenil)-20,20,21,21,21-pentafluoro-17-hidroxi-19-nor-17α-pregna-4,9,-dien-3-ona (fl 123, pg. 5014, compuesto 2, ZK 230211).

2. Determinación de las diferencias técnicas de la invención con respecto al estado del estado de la técnica más cercano:

La diferencia entre la invención definida en las reivindicaciones 1 y 4 y el compuesto del documento D1, consiste en que revelan de manera específica las formas polimórficas I y II, caracterizadas por sus difractogramas de rayos X.

3. Determinación del efecto técnico obtenido por las diferencias técnicas de la invención con respecto al estado de la técnica más cercano:

Según la descripción de la solicitud efecto técnico que logra la diferencia es proporcionar diferentes formas cristalinas de 11 β (4-acetilfenil)-20,20,21,21,21-pentafluoro-17-hidroxi-19-nor-17 α -pregna-4,9,-dien-3-ona con distintas propiedades fisicoquímicas tales como estabilidad.

4. Establecimiento del problema técnico objetivo a solucionar con base en el estado de la técnica más cercano:

El problema técnico objetivo que pretende resolver esta invención se puede formular como la necesidad de obtener diferentes formas cristalinas del compuesto 11 β (4-acetilfenil)-20,20,21,21,21-pentafluoro-17-hidroxi-19-nor-17 α -pregna-4,9,-dien-3-ona con distintas propiedades fisicoquímicas tales como estabilidad.

5. Comprobación de la solución al problema técnico objetivo de la solicitud:

Aunque el solicitante presenta en la tabla 2 (fl 44), datos de comparación de estabilidad a corto plazo del compuesto de D1 forma amorfa y el polimorfo I de la invención, estos no responden a un estudio de estabilidad que pueda ser reproducido por la persona del oficio versada en la materia, ni corresponde a estudios de estabilidad de aceptación común en el sector farmacéutico. Tampoco presenta datos correspondientes a la estabilidad del polimorfo II que indiquen que este puede tener un efecto técnico superior respecto del compuesto del estado de la técnica cercano.

Por lo anterior, esta evidencia técnica no permite comprobar la solución al problema técnico objetivo planteado en la solicitud porque no se realiza una comparación técnica que pueda ser reproducido por la persona del oficio versada en la materia, y que corresponda a estudios de estabilidad de aceptación común en el sector farmacéutico.

Por lo tanto se puede concluir que no existe un efecto técnico probado, porque no se demuestra las ventajas relacionadas con la estabilidad de las nuevas formas cristalinas del compuesto 11 β (4-acetilfenil)-20,20,21,21,21-pentafluoro-17-hidroxi-19-nor-17 α -pregna-4,9,-dien-3-ona reclamadas en la actual solicitud, con respecto a la forma sólida del mismo compuesto divulgada en D1.

6. Evaluar si habría sido obvio solucionar el problema técnico objetivo por la invención reivindicada:

De tal manera que la solución al problema técnico planteado por la invención reclamada se considera obvia porque la anterioridad D2, ya divulga que las diferentes formas cristalinas para un mismo compuesto difieren en sus propiedades fisicoquímicas tales como la solubilidad, estabilidad, velocidad de disolución, higroscopicidad, biodisponibilidad entre otras, y es además una práctica habitual en estudios de preformulación dentro de los cuales se incluyen rigurosos trabajos para determinar su presencia en los medicamentos con el fin de evitar su inestabilidad o falta de efectividad. Dentro de estos estudios, se investiga habitualmente (i) la cantidad de polimorfos que existen, (ii) el grado relativo de estabilidad de los diversos polimorfos, (iii) las gamas de estabilidad térmica de cada polimorfo, (iv) solubilidades, (v) método de preparación de cada forma, (vi) efecto de la micronización o tableteado e interacción con los componentes de la formulación (fl

micronización o tableado e interacción con los componentes de la formulación (fl 129, página 1913 ambas columnas), y una vez establecido que el compuesto (en este caso aplicable al compuesto 11 β (4-acetilfenil)-20,20,21,21,21-pentafluoro-17-hidroxi-19-nor-17 α -pregna-4,9,-dien-3-ona presenta polimorfismo, existen procedimientos con los cuales el preformulador puede preparar las diversas formas en cantidades más grandes para su evaluación adicional y adecuarlas para incorporar en las formas posológicas (fl 131, página 1915 columna de la izquierda).

También es conocido en el campo técnico que los polimorfos son diferentes arreglos estructurales dentro de un cristal de una misma molécula o sustancia, por lo tanto una persona del oficio normalmente versada en la materia, conociendo que en D1 ya se divulga una forma sólida de 11 β (4-acetilfenil)-20,20,21,21,21-pentafluoro-17-hidroxi-19-nor-17 α -pregna-4,9,-dien-3-ona, y que en D2 se conoce que el fenómeno de polimorfismo se da ampliamente en los medicamentos de uso farmacéutico, esta persona se encontraría motivada a utilizar métodos como los revelados en D2 para identificar las formas polimórficas de la molécula en cuestión, que además pueden ser analizadas por métodos de cristalografía conocidos (ver folios 131 a 133). De tal manera, no es posible concluir que la identificación de las formas polimórficas I y II reclamadas en la actual solicitud envuelvan actividad inventiva, como quiera que la molécula misma ya era conocida con anterioridad; es decir, la identificación de las formas cristalinas reclamadas y caracterizadas mediante la técnica de DRX, no representa un avance técnico real y tampoco un salto cualitativo a la regla técnica porque el efecto asociado no fue demostrado en la descripción de la solicitud, comoquiera que no se encontró alguna prueba o ensayo que permitiera determinar las ventajas reales de las formas polimórficas I y II de 11 β (4-acetilfenil)-20,20,21,21,21-pentafluoro-17-hidroxi-19-nor-17 α -pregna-4,9,-dien-3-ona con respecto a la forma sólida del mismo compuesto conocida con anterioridad³ que permita probar, un efecto realmente inesperado asociado con la estabilidad.

En consecuencia, una persona del oficio normalmente versada en la materia, encontraría la sugerencia o motivación suficiente aplicando los métodos y conocimientos que se tiene sobre el polimorfismo revelados en D2, a la forma sólida de la 11 β (4-acetilfenil)-20,20,21,21,21-pentafluoro-17-hidroxi-19-nor-17 α -pregna-4,9,-dien-3-ona divulgada en D1, con el fin de determinar la existencia de las formas cristalinas I y II de la 11 β (4-acetilfenil)-20,20,21,21,21-pentafluoro-17-hidroxi-19-nor-17 α -pregna-4,9,-dien-3-ona tal como las reivindicadas.

De acuerdo con lo expuesto, las reivindicaciones 1 y 4 y sus dependientes 2 - 3 y 5 - 13 no cumplen con el requisito de nivel inventivo (Art. 18).

La reivindicación 14 consiste en un procedimiento para preparar la forma polimórfica I de 11 β (4-acetilfenil)-20,20,21,21,21-pentafluoro-17-hidroxi-19-nor-17 α -pregna-4,9,-dien-3-ona caracterizado porque comprende una cristalización con desplazamiento a partir de un solvente orgánico con un antisolvente.

La reivindicación 17 consiste en un procedimiento para preparar la forma polimórfica I de 11 β (4-acetilfenil)-20,20,21,21,21-pentafluoro-17-hidroxi-19-nor-17 α -pregna-4,9,-dien-3-ona caracterizado porque comprende la remoción por agitación de un solvato orgánico.

³ http://www.chemicalbook.com.ChemicalProductProperty_EN_CB3855432.htm

El documento D1 se considera el estado de la técnica cercano a la invención definida en las reivindicaciones 14 y 17 porque divulga el compuesto 11 β (4-acetilfenil)-20,20,21,21,21-pentafluoro-17-hidroxi-19-nor-17 α -pregna-4,9,-dien-3-ona.

La diferencia entre la invención definida en la reivindicación 14 y el documento D1, consiste en que menciona que la forma polimórfica I de 11 β (4-acetilfenil)-20,20,21,21,21-pentafluoro-17-hidroxi-19-nor-17 α -pregna-4,9,-dien-3-ona y define los solventes empleados en la cristalización de los polimorfos.

La diferencia entre la invención definida en la reivindicación 17 y el documento D1, consiste en que menciona que la forma polimórfica I de 11 β (4-acetilfenil)-20,20,21,21,21-pentafluoro-17-hidroxi-19-nor-17 α -pregna-4,9,-dien-3-ona y menciona que el polimorfo se obtiene por remoción de un solvente orgánico por agitación.

El efecto que logra incluir estas características es que proporcionan un método de obtención del polimorfo I de 11 β (4-acetilfenil)-20,20,21,21,21-pentafluoro-17-hidroxi-19-nor-17 α -pregna-4,9,-dien-3-ona.

Por lo tanto, el problema técnico objetivo que pretende resolver esta invención se puede formular como la necesidad de suministrar procedimientos de obtención del polimorfo I de 11 β (4-acetilfenil)-20,20,21,21,21-pentafluoro-17-hidroxi-19-nor-17 α -pregna-4,9,-dien-3-ona.

Sin embargo, es de conocimiento común de la persona del oficio normalmente versada en la materia que una forma de obtener polimorfos consiste en el empleo de técnicas de cristalización y re-cristalización, que se basan ya sea en la disolución de la molécula en diferentes solventes (entre los más usados encuentran las mezclas agua/etanol) y/o en cambios de temperatura (por calentamiento y remoción del solvente donde la agitación es necesaria y es un factor que determina la obtención de las formas cristalinas)⁴. Además, se sabe que el fundamento teórico para la obtención de cristales es la diferencia en solubilidad y que modificando parámetros adicionales como temperatura, velocidad de enfriamiento, agitación, presión, evaporación etc.⁵, es razonable obtener los ordenamientos cristalinos reivindicados.

En consecuencia, las reivindicaciones 14 y 17 son obvias, porque la persona del oficio normalmente versada en la materia enfrentada al problema de suministrar procedimientos de obtención de polimorfos de 11 β (4-acetilfenil)-20,20,21,21,21-pentafluoro-17-hidroxi-19-nor-17 α -pregna-4,9,-dien-3-ona utilizaría las técnicas de cristalización y re-cristalización basadas en la disolución de la molécula en diferentes solventes y/o la remoción del solvente por agitación y calentamiento tal como lo establece la bibliografía básica utilizada por el técnico medio, por lo que resulta obvio diseñar una secuencia de cristalización –re-cristalización y/o la remoción del solvente por agitación y calentamiento en diferentes solventes o estos mismos en diferentes proporciones, con el ánimo de obtener los polimorfos de interés, más aún si se conoce el fundamento teórico para la obtención de cristales por diferencias en solubilidad y modificando parámetros adicionales como temperatura, velocidad de enfriamiento, agitación, presión, evaporación, con la expectativa razonable de encontrar los ordenamientos cristalinos reivindicados.

⁴ Mersmann, A.; Crystallization technology handbook; second edition; Marcel Dekker, Inc.; 2001; pgs. 13, 516, 544-550

⁵ Helman José, Farmacotecnia teórica y práctica. Tomo IV. Editorial Continental, Tercera impresión, México, Noviembre de 1982. Capítulo 30 Cristalización pág. 1103 a 1143.

Por lo anterior, las reivindicaciones 14 y 17 y sus dependientes 15-16 y 18 - 21 no cumplen con el requisito de nivel inventivo (Art. 18).

7. Conclusión

Los requisitos de Patentabilidad de la presente Solicitud están afectados así:

Item	Documento	Reivindicaciones afectadas	Requisito que afecta
D1	Artículo	1 - 21	Nivel Inventivo
D2	Libro	1 - 21	Nivel Inventivo

En cumplimiento del artículo 45 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, se le indica que debe dar respuesta dentro del término de sesenta (60) días contados a partir de la fecha de notificación de la presente comunicación. En caso de no dar respuesta al presente requerimiento, o si a pesar de la respuesta subsistieran los impedimentos para la concesión, se denegará la patente.

Notifíquese el presente oficio conforme a lo dispuesto en el numeral 5.2, literal e), del capítulo quinto del título primero de la Circular Única No. 10 de 2001.



JOSÉ LUIS SALAZAR LÓPEZ
Director de Nuevas Creaciones (C)

El anterior requerimiento fue notificado por fijación en lista, de fecha
17 3 JUN. 2012

Elaborado por: Rubiela Pacanchique Vargas
Revisado por: Jacqueline Alfonso Rozo *act*

Synthesis and Biological Activity of a Novel, Highly Potent Progesterone Receptor Antagonist

Ulrike Fuhrmann,^{1,5} Holger Hess-Stumpp,^{*,7,5} Arwed Cleve,¹ Günter Neef,⁸ Wolfgang Schwede,⁷ Jens Hoffmann,¹ Karl-Heinrich Fritzemeier,¹ and Kristof Chwalisz⁷

Schering AG, Research Laboratories, D-13342 Berlin, Germany, and Jenapharm, Research Laboratories, D-07745 Jena, Germany

Received June 6, 2000

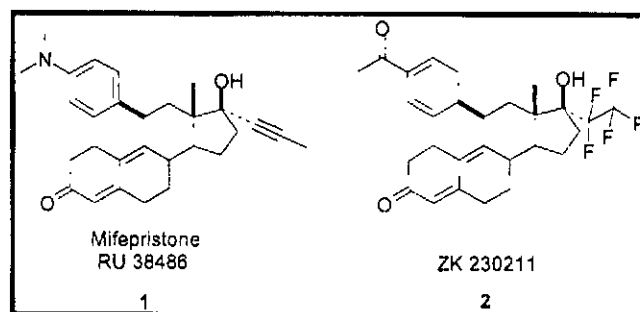
Herein we describe the chemical synthesis and pharmacological characterization of a novel, highly potent progesterone receptor (PR) antagonist, ZK 230211. The introduction of a 17 α -pentafluorethyl side chain in the D-ring of the steroid skeleton allowed the combination of high antiprogestagenic activity with little or no other endocrinological effects. In contrast to many other antiprogestins, ZK 230211 did not convert to an agonist in the presence of protein kinase A (PKA) activators and showed high antiprogestagenic activity on both PR isoforms PR-A and PR-B. This high antiprogestagenic activity could also be demonstrated in several *in vivo* models. Furthermore, this compound displayed only marginal antiglucocorticoid effects. In tumor models ZK 230211 exhibited strong antiproliferative action. The pharmacological properties of ZK 230211 may prove useful in the treatment of endometriosis, leiomyomas, breast cancer, and in hormone replacement therapy.

Introduction

Progesterone plays a critical role in the maintenance and development of female reproductive functions. Its biological activity is mediated by the progesterone receptor (PR), which induces a cascade of transcriptional events after binding of hormone.¹ Blocking PR function by using a PR antagonist should allow the modulation of various reproductive processes. On this basis, antiprogestins were developed which disrupt the normal progesterone induced signal transduction pathway by competitive binding to the PR. Therefore, antiprogestins have considerable potential as therapeutic drugs for numerous gynecological, obstetrical, and oncological indications. They were shown to have a contraceptive potential by blocking ovulation^{2–4} and preventing implantation.^{5–9} Concomitant with the latter pharmacological effect is the observation that antiprogestins induce profound alterations in endometrial morphology. This phenomenon is based on their antiproliferative action and is observed in several species.^{10–13} In non-human primates the antiproliferative effect was convincingly demonstrated where, e.g., low doses of antiprogesterin induced endometrial atrophy characterized by reduced mitotic activity of the glands, compaction of the stroma, and degradation of spiral arteries.^{12,13} This antiproliferative action might also have been the basis for observations made in clinical studies regarding endometrial fertility control,¹⁴ treatment of endometriosis,¹⁵ uterine leiomyomas,¹⁶ and breast cancer.^{17,18}

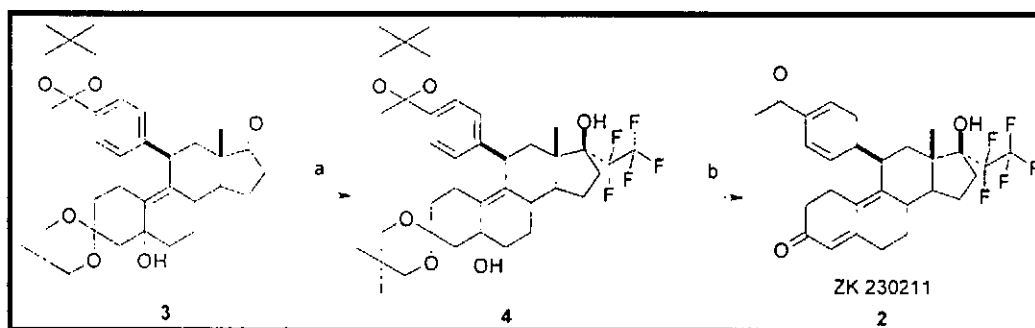
The first antiprogesterin, RU 38486 (1, known as RU 486), was synthesized by Philibert, Deraedt, and

Teutsch in 1981.^{19–21} RU 486 is a derivative of 19-nortestosterone and has an additional 4-(dimethylamino) phenyl group at the 11 β -position, a Δ^9 -double bond, and a 1-propynyl chain at the 17 α -position. Since the original discovery of RU 486, much effort has been devoted to optimizing antiprogestational structures with regard to steroid receptor selectivity. Several modifications of the steroid nucleus were studied: e.g., 13 α -,²² 14 β -,²³ 9,10-dihydro-, 10,11-bridged-,²¹ and 10 β -methyl-antiprogestins²⁵ have been prepared. Moreover, replacing the dimethylamino function in the 11 β -substituent of RU 486 by acetyl,²⁶ cyanophenyl, or heteroaryl substituents led to potent antiprogestins. Exchange of the propynyl 17-side chain for hydroxypropenyl or spiroether²⁷ moieties in some cases enhanced antiprogestagenic activity. In addition, unwanted hormonal partial activities, e.g., antiglucocorticoid activities, were reduced by these structural elements at C 17. Stimulated by these findings we continued the investigation of the C-17 substitution in order to find highly potent antiprogestins with considerably reduced endocrine side effects.



In this paper we describe the chemical synthesis and pharmacological characterization of our new compound ZK 230211 (2) in several cell culture and animal models. We compared its antiprogestagenic potency and its

* Correspondence to: Dr. Holger Hess-Stumpp, Schering AG, Female Health Care Research, Muellerstrasse 170-178, D-13342 Berlin, Germany. Tel: +49 30 4681 2518, Fax: +49 30 4681 8056, E-mail: holger.hessstumpp@schering.de
Schering AG
Jenapharm
Both authors contributed equally to this work.

Scheme 1^a

^a Reagents: (a) C_2F_5I , $MeLi \cdot LiBr$, Et_2O ; (b) 50% H_2SO_4 , $MeOH$.

Table 1. Relative Binding Affinities of ZK 230211 to Steroid Hormone Receptors^a

RBA (%)			
PR (rabbit)	AR (rat)	GR (rat)	ER (rat)
140*	3.1*	22.2**	nc**

^a nc = no competition. *24 h incubation. **2 h incubation. The reference compounds were progesterone for PR, R1881 for AR, dexamethasone for GR, and estradiol for ER. The RBA values of the respective reference compounds were arbitrarily designated 100%.

endocrine side effects with RU 486 and its antitumor potency with onapristone (ZK 98299²²).

Chemistry

Beside position 11, ring D of the steroid is a common site for chemical variation of antiprogestins.^{21–23,27} This site offers the opportunity of various modifications without loss of activity in many cases. Thus, position 17 was used for a more detailed analysis of the structure–activity relationship (SAR). Among a variety of modifications leading to active compounds, the 17 α -pentafluoroethyl side chain was found to combine high antiprogestagenic with low undesirable hormonal activities. To our knowledge, this is the first report on steroidal perfluoroalkyl substitution higher than trifluoromethyl at C 17. The introduction of the side chain is depicted in Scheme 1. It was performed following a modified Gassman protocol.²⁸ In the presence of 17-ketone 3,²⁹ an 8.5 fold excess of 1,1,1,2,2-pentafluoro-2 iodoethane was subjected to an iodide lithium exchange using methyllithium–lithium bromide complex. The protecting groups of pentafluoroethyl adduct 4 were removed using 50% sulfuric acid in methanol to furnish ZK 230211 (2).

Results and Discussion

Receptor Binding Profile. Table 1 presents the relative binding affinities (RBA) of ZK 230211 to PR, the glucocorticoid receptor (GR), the androgen receptor (AR), and the estrogen receptor (ER). This comparative study was performed using cytosol fractions of steroid hormone receptor-containing tissue of rabbit (PR) or rat (GR, AR, ER). The RBA values were determined in competition experiments using radioactively labeled standard compounds as reference. ZK 230211 showed a highly selective receptor profile with strong binding to PR, considerably weaker binding to both GR and AR, and no binding to ER (Table 1).

Transactivation Profile. To determine the anti-progestagenic and progestagenic potency of ZK 230211

Table 2. Transactivation Profile of ZK 230211

	ZK 230211	RU 486
PR-A agonist efficacies (%) ^a	ne	ne
PR-A antagonist potency (IC_{50} , nM) ^b	0.0036	0.028
PR-B agonist efficacies (%) ^a	ne	ne
PR-B antagonist potency (IC_{50} , nM) ^b	0.0025	0.025
AR agonist efficacies (%) ^a	4	6
AR antagonist potency (IC_{50} , nM) ^b	54	10
GR agonist efficacies (%) ^a	nc	nc
GR antagonist potency (IC_{50} , nM) ^b	16	2.2
ER agonist efficacies (%) ^a	ne	nd
ER antagonist potency (IC_{50} , nM) ^b	nc	nd

^a Agonist efficacies were compared to those of the respective reference compounds which were set at 100%. The reference compounds were R5020 for PR-A and PR-B, R1881 for AR, dexamethasone for GR, and estradiol for ER. ^b IC_{50} values for antagonistic potency were determined from full dose–response curves ranging from 10^{-12} to 10^{-6} . ne = no effect; nd = not determined.

in vitro, transactivation assays were carried out with cells stably transfected with human PR A or PR B. ZK 230211 showed strong antiprogestagenic activity on both PR isoforms with IC_{50} values of 0.0036 nM (PR-A) and 0.0025 nM (PR-B), respectively (Table 2). In comparison to RU 486, ZK 230211 is a 10 times stronger antagonist at both PR-A and PR-B. ZK 230211 did not show any progestagenic activity similar to RU 486 (Figure 1).

Since ZK 230211 binds to AR and GR, the effects of this antiprogestins on AR- and GR-mediated transcription were investigated. The results were compared with those of RU 486, which is known to be a partial agonist at the AR and a potent antiglucocorticoid. As shown in Table 2, ZK 230211, like RU 486, is a partial agonist in the AR transactivation assay, exhibiting antiandrogenic activity and only marginal androgenic activity. In the GR transactivation assay ZK 230211 displayed low antiglucocorticoid activity and no glucocorticoid activity (Table 2). In comparison to the strong antiglucocorticoid action of RU 486, ZK 230211 showed about 10 times less antiglucocorticoid potency. Although ZK 230211 did not show any detectable binding to ER, an ER transactivation assay was carried out to definitely exclude any estrogenic or antiestrogenic activity. As expected ZK 230211 showed neither estrogenic nor antiestrogenic activity (Table 2). Taken together, these in vitro results indicate that ZK 230211 is a highly potent PR antagonist exhibiting partial agonistic activity at the AR with a strong focus on the antiandrogenic side, very low antiglucocorticoid activity, and no activity at the ER.

Transactivation Behavior of ZK 230211-Liganded PR in the Presence of 8-Br-cAMP. Several years

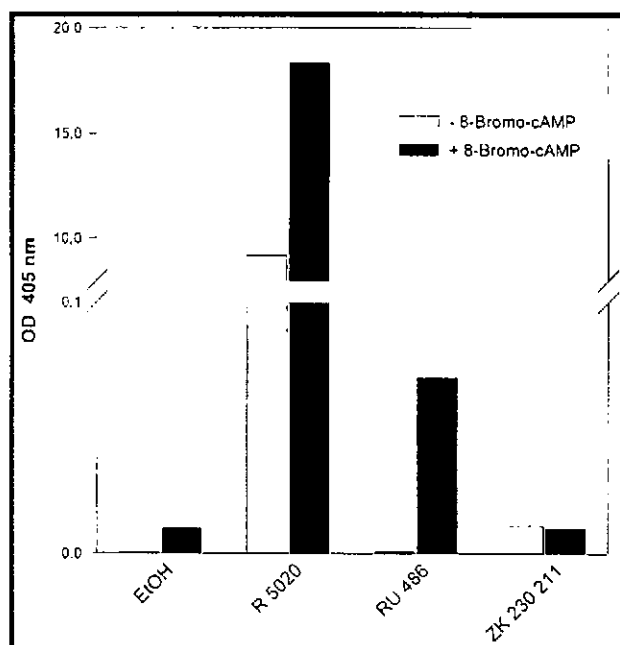


Figure 1. ZK 230211-bound PR does not show agonistic activity upon 8-Br-cAMP treatment. T47D cells stably transfected with MMTV-CAT were cultured in the absence (EtOH control) or presence of 1 μ M/L R5020, 1 μ M/L RU 486, and 1 μ M/L ZK 230211, respectively, either without 8-Br-cAMP (white bars) or with 8-Br-cAMP (black bars). After 48 h cells were harvested and duplicate dishes were assayed for the amount of CAT enzyme with a CAT ELISA.

ago it was shown that the antiprogesterin RU 486 can become an agonist *in vitro* in the presence of protein kinase A (PKA) activators such as cyclic adenosine monophosphate (cAMP).³⁰ Therefore, a transactivation assay in PR-positive T47D cells was carried out with 8 Br cAMP to test the behavior of ZK 230211-bound PR in the presence of PKA activators. As reported in the literature the positive control R5020 showed stronger transactivation levels in the presence of 8-Br-cAMP compared to transactivation levels in the absence of this PKA activator.³¹ As expected RU 486-bound PR showed a switch to agonistic activity (Figure 1). In contrast to RU 486, ZK 230211 bound PR did not show this switch to agonistic activity (Figure 1). These results show that ZK 230211 is a pure PR antagonist.

Antiprogestagenic Activities *In Vivo*. The antiprogestagenic activity of ZK 230211 *in vivo* was assessed in juvenile estradiol/progesterone-stimulated rabbits. In this assay, ZK 230211 showed almost complete antagonism of the progesterone-induced differentiation of the endometrial glands using a dose of 0.3 mg/kg/day po and a maximal effect at a dose of 3 mg/kg/day po (Figure 2). In a separate experiment, RU 486 was tested using three doses (1, 3, and 10 mg/kg po). Only the highest dose of 10 mg/kg displayed a full antagonistic effect, whereas the lower doses showed only slight antiprogestagenic effects (data not shown). The ED₅₀ values were ~4 mg/kg for RU 486 and about 0.3 mg/kg for ZK 230211. Thus, in this model, ZK 230211 was about 10 times more potent than RU 486. By analyzing the intrinsic progestagenic activity of ZK 230211, no effect was found up to a dose of 3 mg/kg/day po (Figure 2). These findings are in good agreement with the results of the transactivation assays carried out with PR-A and PR-B.

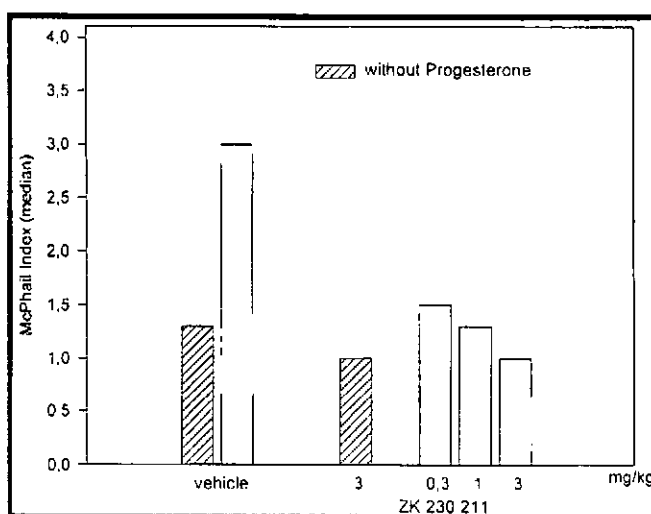


Figure 2. Antiprogestagenic and progestagenic activity of ZK 230211 after oral application in rabbits. This experiment was performed in juvenile female rabbits. From days 1–4 rabbits were primed with 5.0 μ g/kg/day 17 β -estradiol sc. From days 7–10 the test compound was applied po. The study groups in which progesterone was used as an inducer of endometrial differentiation received 0.2 mg/kg/day progesterone sc. As a negative control served a group which received only the vehicle. Controls received either vehicle or progesterone only. To study the progestagenic activity of ZK 230211, one treatment group received the antiprogesterin (3 mg/kg/day) only. The McPhail index (degree of differentiation, scores: 1–4; 1 = no differentiation, 4 = maximal differentiation) served as the parameter for progestagenic and antiprogestagenic (inhibition of progesterone-induced endometrial differentiation) activity.

Table 3. Interruption of Early Pregnancy in Rats

compd	dose (mg/animal/day)	rate of abortion (%) ^a	
		complete	incomplete
vehicle		0	0
ZK 230211	0.03	0	0
ZK 230211	0.1	83	17
ZK 230211	0.3	100	0

^a Animals were treated with ZK 230211 sc from days 5–7 pc. Autopsy was performed on day 9. The absence of implantation sites was assessed as complete abortion, the presence of regressed and/or hemorrhagic implantation sites (pathological nidation sites) as incomplete abortion. RU 486 was fully effective only with a dose of 3 mg/animal/day sc.

Progesterone is essential for all phases of mammalian pregnancy. Therefore, we analyzed the potency of ZK 230211 to interrupt early stages of gestation in rats. Using various doses, ranging from 0.03 to 0.3 mg/animal/day, a full abortifacient effect was obtained with doses of 0.1 and 0.3 mg/animal/day administered sc, whereas the lower dose of 0.03 mg/animal/day sc did not result in termination of pregnancy (Table 3). RU 486 had a full effect only after treatment with 3 mg/animal/day sc (data not shown). Thus, in this *in vivo* assay ZK 230211 showed 10 times higher potency than RU 486.

Other Hormonal Activities *In Vivo*. To analyze the antiglucocorticoid activity of ZK 230211 *in vivo*, its ability of reversing the thymus involution induced by glucocorticoids (e.g., dexamethasone) was evaluated. ZK 230211 exhibited antiglucocorticoid activity in rats with an ED₅₀ of 2 mg/animal/day and RU 486 with 1.1 mg/animal/day administered po (Table 4). Considering the 10 times higher antiprogestagenic activity *in vivo*,

Table 4. Antiglucocorticoid and Antiandrogenic Activity of ZK 230211 and RU 486 After Oral Application in Adrenalectomized or Orchiectomized Young Male Rats

compd	ED ₅₀ (mg/animal/day) ^a	
	antiglucocorticoid activity	antiandrogenic activity
ZK 230211	2.0	1.3
RU 486	1.1	1.6

^a ED₅₀ values were calculated from dose-response curves

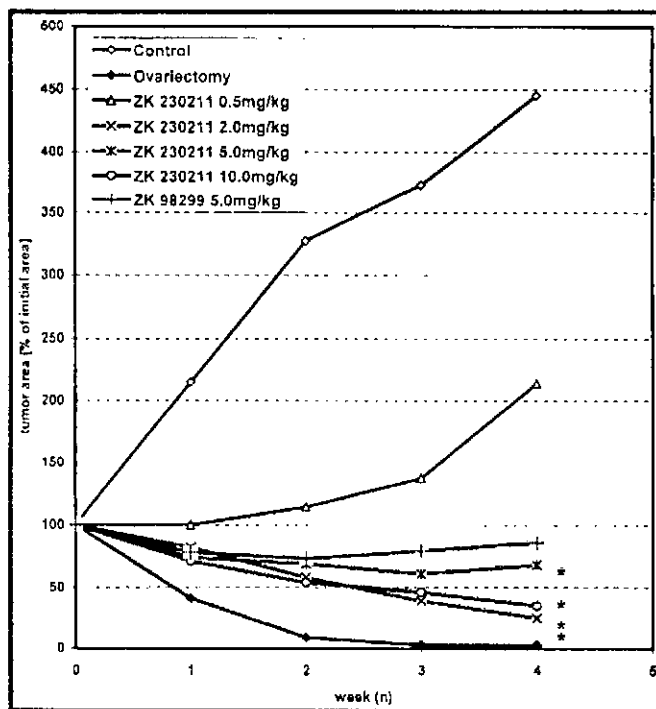


Figure 3. Antitumor effect of ZK 230211 and onapristone (ZK 98299) in the DMBA-induced mammary tumor model in the rat. Mammary tumors were induced by a single oral administration of 10 mg of DMBA. Rats with at least one established tumor were treated for 4 weeks, and the tumor growth was measured. *Statistical significant difference ($p < 0.05$) among control and experimental therapy groups. Kruskal-Wallis statistical analysis based on tumor weights at the end of the experiment.

ZK 230211 is an antiprogesterin with a markedly reduced antiglucocorticoid activity compared to RU 486.

The androgenic and antiandrogenic activity of ZK 230211 was investigated in castrated male rats. In this assay neither ZK 230211 nor RU 486 showed androgenic activity (data not shown). ZK 230211 exhibited an antiandrogenic activity with an ED₅₀ value of 1.3 mg/animal/day (Table 4). The ED₅₀ value for RU 486 was 1.6 mg/animal/day (Table 4). In conclusion, ZK 230211 is an antiprogesterin devoid of any androgenic activity *in vivo* and considerable antiandrogenic activity.

The intrinsic estrogenic activity of ZK 230211 was analyzed in ovariectomized rats. No amplification of uterine weight and luminal epithelial height, the classical estrogenic parameters, was observed when a high dose of 10 mg/animal/day was used (data not shown). These data indicate that ZK 230211 has no intrinsic estrogenic activity *in vivo* which is consistent with the results of the *in vitro* studies.

Antitumor Activity. The antitumor activity of ZK 230211 was analyzed in rats with DMBA-induced mammary tumors. In control animals, progressive

tumor growth was observed, whereas ovariectomy caused a complete tumor regression in 90% of the animals. A dose of 0.5 mg/kg administered *sc* led to an inhibition of tumor growth, although this was not statistically significant. A maximal statistically significant growth inhibition was achieved with doses ≥ 2 mg/kg (Figure 3). In the group treated with 2 mg/kg, 50% of the animals showed a complete tumor regression. Higher doses of ZK 230211 (5 and 10 mg/kg) revealed a tumor growth inhibition comparable to the dose of 2 mg/kg. Onapristone, a pure PR antagonist, also showed a growth inhibitory effect but with no statistical significance at the dose used (5 mg/kg). Taken together, in the DMBA-induced mammary tumor model in the rat, ZK 230211 completely suppressed tumor growth in intact animals and was more potent than onapristone.

Conclusion

Our results clearly demonstrate that ZK 230211 is a very potent and pure PR antagonist which is highly receptor-selective. In contrast to RU 486, ZK 230211 does not induce agonistic activity of PR in the presence of PKA activators. Furthermore, we were successful in obtaining a compound which has only low antiglucocorticoid properties. In addition, ZK 230211 shows antiproliferative activity in tumor models. This new compound has considerable potential in estrogen replacement therapy and in the treatment of endometriosis, leiomyomas, and breast cancer.

Experimental Section

Chemical Methods. Melting points were determined on a Mettler FP 62 melting point apparatus and are uncorrected. Compounds were recrystallized from the solvent indicated in parentheses. Optical rotations were determined on a Perkin-Elmer polarimeter 241. IR spectra were recorded on a Bruker FT-IFS 25 spectrometer. Mass spectra were measured with a Fisons Instruments VG 70-70 E spectrometer at 70 eV ionizing voltage (EI). ¹H and ¹³C NMR spectra were recorded on a Bruker AC 300 (300 MHz/75 MHz), and δ values are given in ppm relative to tetramethylsilane as internal standard (*J* values in Hz). Microanalyses were provided by Schering analytical department and are within $\pm 0.4\%$ of the theoretical values. TLC analyses were performed on Merck F₂₅₄ silica gel plates. Spots were visualized by soaking plates with a diethyl ether solution containing vanillin (0.25%) and sulfuric acid (5%) and heating by means of a heat gun. Column chromatography was carried out on Merck silica gel 60, 70–230 mesh, using ethyl acetate/hexane as eluent. Reactions were run under nitrogen atmosphere. Solvents were reagent grade and dried prior to use.

5,17 α -Dihydroxy-17 α -(1,1,2,2,2-pentafluoroethyl)-11 β -[4-(2,5,5-trimethyl-1,3-dioxan-2-yl)phenyl]-5 α -estr-9-en-3-one Cyclic 2,2-Dimethylpropane-1,3-diyl Acetal (4). At -30°C , 1,1,1,2,2-pentafluoro-2-iodoethane (1.9 mL, 16 mmol) was condensed. A solution of 5-hydroxy-11 β -[4-(2,5,5-trimethyl-1,3-dioxan-2-yl)phenyl]-5 α -estr-9-ene-3,17-dione cyclic 3-(2,2-dimethylpropane-1,3-diyl acetal) (3, 1.08 g, 1.87 mmol) in diethyl ether (19 mL) was added at -78°C . A 1.5 M solution of methyl lithium–lithium bromide complex in diethyl ether (8.7 mL, 13 mmol) was added slowly, keeping the internal temperature below -65°C . The reaction mixture was stirred for 1 h at -78°C . The reaction mixture was then poured into saturated aqueous sodium bicarbonate solution. The aqueous layer was extracted with ethyl acetate. The organic portions were combined, washed with brine, dried over sodium sulfate, filtered, and evaporated. Chromatography of the residue over silica gel using hexane/ethyl acetate yielded 644 mg (0.92

nmol, 49%) of the pentafluoroethyl adduct **4** as a colorless foam: mp 242.7 °C (ethyl acetate); $[\alpha]_D^{25} = +2.8^\circ$ (CHCl₃; $c = 0.190$); MS (m/z) 698 (M⁺, 2%), 680 (M⁺ - H₂O, 48%), 129 (100%); ¹H NMR (CDCl₃) δ 7.29 (d, 2H, $J = 9$, aryl), 7.23 (d, 2H, $J = 9$, aryl), 4.42 (s, 1H, 5-OH), 4.35 (br d, 1H, $J = 7$, H-11), 3.58 (br d, 1H, $J = 11.4$, 3-acetal), 3.54 (br d, 1H, $J = 11.4$, 3-acetal), 3.52 (br d, 1H, $J = 11.2$, 3-acetal), 3.47 (br d, 1H, $J = 11.2$, 3-acetal), 3.38 (m, 1H, aryl acetal), 1.52 (s, 3H, aryl acetal), 1.26 (s, 3H, aryl acetal), 1.04 (s, 3H, 3-acetal), 0.89 (s, 3H, 3-acetal), 0.57 (s, 3H, aryl acetal), 0.51 (s, 3H, H-18). Anal. (C₂₆H₂₄F₅O₄) C, H, F.

11 β -(4-Acetylphenyl)-17 β -hydroxy-17 α -(1,1,2,2,2-pentafluoroethyl)estra-4,9-dien-3-one (ZK 230211, **2).** 50% aqueous sulfuric acid (0.4 mL) was added to a solution of 5,17 β -dihydroxy-17 α -(1,1,2,2,2-pentafluoroethyl)-11 β -[4-(2,5,5-trimethyl-1,3-dioxan-2-yl)phenyl] 5 α estr-9-en-3-one cyclic 2,2-dimethylpropane-1,3-diyl acetal (**4**; 635 mg, 0.91 mmol) in methanol (9 mL). The reaction mixture was stirred at room temperature for 2 h. It was then cautiously poured into saturated aqueous sodium bicarbonate solution. The aqueous layer was extracted with ethyl acetate. The organic portions were combined, washed with brine, dried over anhydrous sodium sulfate, filtered, and evaporated. Chromatography of the residue over silica gel using hexane/ethyl acetate afforded 4.8 mg of **2** (0.84 mmol, 92%) as a colorless foam: mp 260.4 °C (diisopropyl ether); $[\alpha]_D^{25} = +181.3^\circ$ (CHCl₃; $c = 0.535$); IR (KBr, cm⁻¹) 1680 (s, C=O), 1665 (s, C=O); MS (m/z) 508 (M⁺, 100%), 94 (100%); ¹H NMR (CDCl₃) δ 7.89 (d, 2H, $J = 9$, aryl), 7.31 (d, 2H, $J = 9$, aryl), 5.81 (s, 1H, H-4), 4.50 (br d, 1H, $J = 7$, H-11), 2.59 (s, 3H, acetyl), 0.58 (s, 3H, H-18); ¹³C NMR (CDCl₃) δ 199.2 (C-3), 197.8 (acetyl), 155.9 (C-5), 150.4 (aryl), 113.3 (C-9), 137.0 (aryl), 130.3 (C-10), 128.8 (2C, aryl), 127.1 (2C, aryl), 123.5 (C-4), 119.5 (CF₃), 117.2 (tq, $J = 293, 35$, CF₃), 81.1 (t, $J = 23$, C-17), 51.6 (C-14), 50.5 (C-13), 41.0 (C-11), 39.3 (C-8), 38.8 (C-12), 36.7 (C-2), 33.2 (C-16), 31.0 (C-6), 27.7 (C-7), 26.4 (acetyl), 25.8 (C-15), 25.0 (C-1), 16.6 (C-18). Anal. (C₂₆H₂₄F₅O₄) C, H, F.

Receptor Binding Assays. The preparation of rabbit PR and rat AR, GR, and ER and the competition experiments were carried out as described previously.⁴¹ The reference compounds were progesterone for PR, R1881 for AR, dexamethasone for GR, and estradiol for ER.

Transactivation Assays. All transactivation experiments were carried out in cell lines stably expressing the respective steroid receptor and a reporter gene linked to a hormone-responsive promoter. Steroid receptor-free SK-NM-C cells (human neuroblastoma cells) stably expressing either the human PR A or PR-B and the mouse mammary tumor virus promoter linked to the LUC reporter gene and steroid receptor-free CV-1 cells (green monkey kidney cells) stably transfected with the rat AR and a MMTV-LUC reporter gene were constructed as described in Fuhrmann et al.³⁶ NIH 3T3 cells with endogenous GR and stably transfected MMTV CAT were a generous gift of A. Cato (Karlsruhe Research Center, Germany). MVLN cells (human breast adenocarcinoma cells) with endogenous ER and stably transfected MMTV-LUC were kindly provided by M. Pons (Karlsruhe Research Center). To study the effect of hormones, the stable cell lines were seeded into 96-well dishes and cultured in medium supplemented with 3% charcoal stripped FCS. After 48 h hormones were added and incubation was continued for 24 h. To determine agonistic activity, cells were cultured in the presence of ZK 230211 or RU 486. LUC expression is given as normalized response value relative to the maximal LUC expression produced by a reference agonist (e.g., R5020 for PR, R1881 for AR, dexamethasone for GR, and estradiol for ER. As a negative control for reporter gene induction, cells were cultured in 1% ethanol. For the determination of antagonistic activity, cells were treated with the respective reference compound and, in addition, with increasing amounts of ZK 230211 or RU 486. For the determination of agonistic activity of RU 486 and ZK 230211 in the presence of 8-Br-cAMP, PR-positive T47D cells stably transfected with MMTV CAT were treated with the respective compounds with and without 1.0 mM 8-Br-cAMP.

After 24 h a luciferase or CAT assay was carried out. Transactivation assays were carried out at least three times. In Table 2 and Figure 2 data from one representative experiment are shown.

In Vivo Assays. All animals experiment were carried out according to German animal protection laws. Animals were kept under conventional housing and feeding conditions. The vehicles for po and sc administration were 0.085% Myrj/0.9% NaCl (w/v) and benzyl benzoate/castor oil (1:5, v/v), respectively.

Antiprogestagenic Effects on Rabbit Endometrium. This experiment was performed in juvenile female rabbits (New Zealand white, 30–35 days old; Schriever Germany). From days 1–4 all rabbits were primed with 5.0 μ g/kg/day 17 β -estradiol (sc, 0.5 mL/kg/day) to induce proliferation of the endometrium. From days 7–10 the test compound was applied orally (po, 0.5 mL/kg/day) at doses of 0.3, 1, and 3 mg/kg/day. The study groups in which progesterone was used as an inducer of endometrial differentiation received 0.2 mg/kg/day progesterone (sc, 0.25 mL/kg/day). A group which received only vehicle after estradiol priming served as negative control. A second group which received only progesterone to induce endometrial differentiation after estradiol priming was used as positive control. To study the progestagenic activity of ZK 230211, one treatment group received after estradiol priming antiprogesterin only. Autopsy was performed on day 11. As a parameter for progestagenic and antiprogestagenic (inhibition of progesterone-induced endometrial differentiation) activity the McPhail index (degree of differentiation) was determined by two independent investigators using a light microscope (scores: 1–4; 1 = no glandular differentiation, 4 = maximal differentiation).

Interruption of Early Pregnancy in Rats. In this experiment pregnant Wistar rats (200–220 g, day 5–7 post-coitum pc, 4–6 rats/group; Schering) were used. After successful mating, pregnant animals (presence of sperms in vaginal smears on day 1 of pregnancy = day 1 pc) were randomized to treatment or control groups. The animals received the test compound or vehicle sc from days 5–7 pc; autopsy was performed on day 9 pc. As a parameter for the progesterone antagonistic activity the uteri were inspected during autopsy. The absence of implantation sites was assessed as complete abortion, the presence of regressed and/or hemorrhagic implantation sites (pathological nidation sites) as incomplete abortion. The doses tested were 0.03, 0.1, and 0.3 mg/animal/day.

Antiglucocorticoid Activity in Rats. Male Wistar rats (100–150 g; Schering and Moellegard Breeding Center Ltd., Ejby, Denmark; experiment with RU 486) were adrenalectomized under slight ether anaesthesia at day 1 of the experiment. The rats were randomly allocated to treatment or vehicle control groups. The animals were treated sc for 4 days with 0.01 mg dexamethasone and po with the test compound ZK 230211 (1, 3, and 10 mg/animal/day; $n = 5$ animals/group) and the reference compound RU 486 (1, 3, 10, and 30 mg/animal/day; $n = 7$ animals/group). Two control groups were used. One control group was treated with the vehicle only, and the second control group received dexamethasone (0.01 mg/animal/day) and the vehicle of the test compound. The autopsy was performed 24 h after the last application (day 5 of experiment). During autopsy the thymus was removed and its relative wet weight was determined (mg thymus/100 g body weight). Treatment with 0.01 mg dexamethasone alone reduces the thymus weight by about 75% in comparison to the vehicle control group. Concomitant treatment with a compound having antiglucocorticoid activity reverses this effect. The antiglucocorticoid activity of the test compounds was expressed as the ED₅₀ in mg/animal/day which was calculated from a dose response curve where the reduction of the thymus weight induced by dexamethasone was taken as the bottom line.

Androgenic and Antiandrogenic Activity in Rats. Juvenile male Wistar rats (70–90 g; Schering) were anesthetized with ether, orchidectomized at day 1, and randomized to treatment or control groups. In the assay to test the

androgenic activity, the animals received ZK 230211 at doses of 1 and 3 mg/animal/day po for 7 days beginning at day 7 after orchidectomy. The control groups were vehicle only and testosterone propionate groups. Testosterone propionate was given at a dose of 0.1 mg/animal sc (0.2 mL/animal). At day 14 after orchidectomy the animals were sacrificed with CO₂ and the prostate and the musculus levator ani were prepared. To test the antiandrogenic activity ZK 230211 (0.1, 0.3, 1, and 3 mg/animal/day po) was given together with testosterone propionate (0.1 mg/animal sc) and instead of the musculus levator ani seminal vesicles were prepared. The antiandrogenic effect on prostate weight (the same was seen in seminal vesicles) was used as the basis for determination of the ED₅₀ which was calculated from a dose-response curve.

Estrogenic Activity in Rats. Female Wistar rats (~200 g, Schering) were anesthetized with ether, ovariectomized at day 1, and randomized to treatment or control groups. At day 11 after ovariectomy ZK 230211 was administered for 3 days po (0.5 mL/animal) using a dose of 10 mg/animal/day. Groups which received only vehicle or estradiol served as controls. Estradiol was given at a dose of 0.3 µg/animal sc for 3 days. This is sufficient for a maximal stimulation of uterine proliferation. During substance application the vaginal smears were controlled and assayed. At day 14 after ovariectomy the animals were sacrificed with CO₂ and the uteri were prepared. Increases in uterine weight and luminal epithelial height and the status of cell proliferation and keratinization of the vaginal smear served as parameters for estrogenic activity. The stimulation of the uterine weight and the luminal epithelial height was calculated as follows: [(mean weight_{test compound} - mean weight_{vehicle control})/(mean weight_{vehicle control} - mean weight_{white matter})] × 100%.

Tumor Models. Immature female Sprague-Dawley rats (49–51 days old; 10 animals/group) were used in this study. Mammary tumors were induced by a single oral administration of 10 mg of 7,12-dimethylbenz[*a*]anthracene (DMBA, Serva Heidelberg). Rats with at least one established tumor with a size of more than 150 mm³ were treated for 4 weeks with solvent control, ovariectomy (at treatment start), ZK 230211 (0.5, 2.5, and 10 mg/kg sc, daily), and onapristone (ZK 98299, 5 mg/kg sc, daily). As parameter for tumor growth the percent change of tumor area was determined. At treatment start the total area of all tumors in each animal was termed 100%. Changes in tumor area were calculated in terms of this value. Tumor area was measured once weekly and is the product of the longest diameter and its perpendicular.

Acknowledgment. The authors thank S. Beier and K. Stockmann for providing data obtained with RU 486; C. Gerloff-Wiechert, J. List, G. Repenthin, J. Neumann, F. Kopp, B. Bragulla, R. Weidmann, S. Althof, P. Maulwurf, and H. Morack for excellent technical assistance, and C. Herde for preparing the manuscript.

References

- Green, S.; Chambon, P. Nuclear Receptors Enhance Our Understanding of Transcription Regulation. *Trends Genet.* **1988**, *4*, 309–314.
- Liu, F. H.; Garzo, G.; Morris, S.; Stuenkel, C. A.; Ulmann, A.; Yen, S. S. C. Disruption of Follicular Maturation and Delay of Ovulation after Administration of the Antiprogesterone RU 486. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **1987**, *65*, 1133–1140.
- Shoupe, D.; Mishell, D. J.; Page, M. A.; Madkour, H.; Spitz, I. M.; Lobo, R. A. Effects of the Antiprogesterone RU 486 in Normal Women. II. Administration in the Late Follicular Phase. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **1987**, *157*, 1421–1426.
- Luttkainen, T.; Heikinheimo, O. Inhibition of Folliculogenesis and Ovulation by the Antiprogesterone RU 486. *Fertil. Steril.* **1988**, *49*, 961–963.
- Greene, K. E.; Kettel, L. M.; Yen, S. S. C. Interruption of Endometrial Maturation Without Hormonal Changes by an Antiprogesterone During the First Half of the Luteal Phase of the Menstrual Cycle: a Contraceptive potential. *Fertil. Steril.* **1992**, *58*, 338–343.
- Croxatto, H.; Salvatierra, A. M.; Fuentealba, B. Effects of Continuous Treatment with Low Dose Mifepristone Throughout One Menstrual Cycle. *Hum. Reprod.* **1993**, *8*, 201–207.
- Batista, M.; Cartledge, T.; Zellmer, A. W.; Merino, M. L.; Axtoris, C.; Loriaux, D. L.; Niemann, L. K. Delayed Endometrial Maturation Induced by Daily Administration of the Antiprogesterone RU 486. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **1992**, *167*, 60–65.
- Ishward, P.; Katkam, R.; Hinduja, I.; Chwalisz, K.; Elger, W.; Puri, C. Treatment with a Progesterone Antagonist ZK 98 299 Delays Endometrial Development Without Blocking Ovulation in Bonnet Monkeys. *Contraception* **1993**, *48*, 57–70.
- Batista, M. C.; Bristow, T. L.; Mathews, J.; Stokes, W. S.; Loriaux, D. L.; Niemann, L. K. Daily Administration of the Progesterone Antagonist RU 486 Prevents Implantation in the Cycling Guinea Pig. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **1991**, *165*, 82–86.
- Wolf, J. P.; Hsiao, J.; Anderson, T.; Ulmann, A.; Baulieu, E. E.; Hodgen, G. Noncompetitive Antiestrogenic Effect of RU 486 in Blocking the Estrogen-stimulated Luteinizing Hormone Surge and the Proliferative Action of Estradiol on Endometrium in Castrate Monkeys. *Fertil. Steril.* **1989**, *52*, 1055–1060.
- Chwalisz, K.; Hegele-Hartung, C.; Fritzsche, K.-H.; Beier, H. M.; Elger, W. Inhibition of the Estradiol-mediated Endometrial Gland Formation by the Antiestrogen Onapristone in Rabbits. Relationship to Uterine Estrogen Receptors. *Endocrinology* **1991**, *129*, 312–322.
- Slayden, O. D.; Zelinski-Wooten, M. B.; Chwalisz, K.; Stouffer, R. L.; Brenner, R. M. Chronic Treatment of Cycling Rhesus Monkeys with Low Doses of the Antiprogesterone ZK 137 316: Morphometric Assessment of the Uterus and Oviduct. *Hum. Reprod.* **1998**, *13*, 269–277.
- Brenner, R. M.; Slayden, O. D. Oestrogen action in the endometrium and oviduct of rhesus monkeys during RU 486 treatment. *Hum. Reprod. Update* **1994**, *9* (Suppl. 1), 82–97.
- Cameron, S. T.; Critchley, H. O.; Buckley, C. H.; Kelly, R. W.; Baird, D. T. Effect of Two Antiprogesterins (Mifepristone and Onapristone) on Endometrial Factors of Potential Importance for Implantation. *Fertil. Steril.* **1997**, *67*, 1046–1053.
- Kettel, L. M.; Murphy, A. A.; Morales, A. J.; Ulmann, A.; Baulieu, E. E.; Yen, S. S. C. Treatment of Endometriosis with the Antiprogesterone Mifepristone (RU486). *Fertil. Steril.* **1996**, *65*, 23–28.
- Murphy, A.; Kettel, L. M.; Morales, A.; Roberts, V.; Yen, S. Regression of Uterine Leiomyomata in Response to the Antiprogesterone RU 486. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **1993**, *76*, 513–517.
- Romieu, G.; Maudelonde, T.; Ulmann, A.; Pujol, H.; Caval, G.; Khalaf, S.; Rochefort, H. The Antiprogesterone RU 486 in Advanced Breast Cancer: Preliminary Clinical trial. *Bull. Cancer* **1987**, *74*, 455–461.
- Klijn, J. A. G. M.; de Jong, F. H.; Bakker, G. H.; Lamberts, S. W. J.; Rodenburg, C. J.; Alexieva-Figusch, J. Antiprogesterins, a New Form of Endocrine Therapy for Human Breast Cancer. *Cancer Res.* **1989**, *49*, 2851–2856.
- Philibert, D.; Deraedt, R.; Teutsch, G. RU 486: A Potent Antiglucocorticoid in vivo. VIIth International Congress of Pharmacology, Toronto, Canada, 1981; Abstract 1463.
- Herrman, W.; Wyss, R.; Riondel, A.; Philibert, D.; Teutsch, G.; Sakiz, E.; Baulieu, E. E. Effet d'un Stéroïde Antiprogesterone: Chez la Femme Interruption du Cycle Menstruel de la Grossesse au Début. *C. R. Acad. Sci.* **1982**, *204*, 933–938.
- Belanger, A.; Philibert, D.; Teutsch, G. Regio and Stereospecific Synthesis of 11β-Substituted 19-Norsteroids. *Steroids* **1981**, *37*, 361–382.
- Wiechert, R.; Neef, G. Synthesis of Antiprogesterone Steroids. *J. Steroid Biochem.* **1987**, *27*, 851–858.
- Cleve, A.; Neef, G.; Ottow, E.; Scholz, S.; Schwede, W. Synthesis of 14β-H Antiprogesterins. *Tetrahedron* **1995**, *51*, 5563–5572.
- Ottow, E.; Neef, G.; Wiechert, R. Stereo- and Regiospecific 6-endo-trig-Cyclization of Aryl Radicals, an Entry to Novel Progesterone Antagonists of the Androstane Series. *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **1989**, *28*, 773–776.
- Cleve, A.; Fritzsche, K.-H.; Heinrich, N.; Klar, U.; Mühlmann, A.; Neef, G.; Ottow, E.; Schwede, W. 11β-Aryl Steroids in the Androstane Series. The Role of the 11β-Region in Steroid Progesterone Receptor Interaction. *Tetrahedron* **1996**, *52*, 1529–1542.
- Neef, G.; Cleve, A.; Ottow, E.; Seeger, A.; Wiechert, R. New Steroids by Simmons-Smith Methylation and Subsequent Rearrangement. *J. Org. Chem.* **1987**, *52*, 4143–4146.
- Kloosterboer, H. J.; Deckers, G. H.; de Coeyer, M. E.; Dijkema, R.; Orlemans, E. O. M.; Schoonen, G. E. J. Pharmacological Properties of a New Selective Antiprogesterone: Org 33628. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **1995**, *761*, 192–201.

- (28) (a) Gassman, P. G.; O'Reilly, N. J. Pentafluoroethylolithium. Generation and Use in Synthesis. *Tetrahedron Lett.* **1985**, 26, 5243-5246. (b) Gassman, P. G.; O'Reilly, N. J. Nucleophilic Addition of the Pentafluoroethyl Group to Aldehydes, Ketones, and Esters. *J. Org. Chem.* **1987**, 52, 2481-2490.
- (29) Scholz, S.; Hofmeister, H.; Neel, G.; Ottow, E.; Scheidges, C.; Wiechert, R. Synthese von 14-17-überbrückten 11 β -Arylsteroiden. *Liebigs Ann. Chem.* **1989**, 151-158.
- (30) Sartorius, C. A.; Tung, L.; Takimoto, G. S.; Horwitz, K. B. Antagonist-occupied Human Progesterone Receptors Bound to DNA are Functionally Switched to Transcriptional Agonists by cAMP. *Cell* **1993**, 75, 925-936.
- (31) Fuhrmann, U.; Krattenmacher, R.; Slater, E. P.; Fritzscheimer K.-H. The Novel Progestin Drospirenone and its Natural Counterpart Progesterone: Biochemical Profile and Antiandrogenic Potential. *Contraception* **1996**, 54, 243-251.
- (32) Fuhrmann, U.; Bengtson, C.; Repenthin, G.; Schillinger, E. Stable transfection of androgen receptor and MMTV-CAT into mammalian cells: Inhibition of CAT Expression by anti-androgens. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* **1992**, 42, 787-793.

JM001000C

n
es
—

Remington 2

FARMACIA

17^a edición

EDITORIAL MEDICA
panamericana

JUNÍN 831 • BUENOS AIRES
BOGOTÁ • CARACAS • MADRID • MÉXICO • SANTIAGO DE CHILE • SÃO PAULO

Título del original en inglés

REMINGTON'S PHARMACEUTICAL SCIENCES, 17ª ed.

© 1985. The Philadelphia College of Pharmacy and Science.

Publicado en su 165º aniversario e impreso por

Mack Publishing Company - Easton - Pennsylvania

1ª edición, 1886	5ª edición, 1907	9ª edición, 1948	13ª edición, 1965
2ª edición, 1889	6ª edición, 1917	10ª edición, 1951	14ª edición, 1970
3ª edición, 1897	7ª edición, 1926	11ª edición, 1956	15ª edición, 1975
4ª edición, 1905	8ª edición, 1936	12ª edición, 1961	16ª edición, 1980

Traducción de

EDITORIAL MÉDICA PANAMERICANA S.A.

efectuado por el

Dr. MARIO ARNALDO MARINO

y la Dra. LUCÍA BARCELONA DE GUERRERO

Supervisión a cargo del

Dr. RAÚL ALBERTO PORTA

Profesor adjunto interino de la Cátedra

de Farmacotecnia III de la

Facultad de Farmacia y Bioquímica

de la Universidad Nacional

de Buenos Aires

El uso de partes del texto de USP XX, NF XV y el USAN y el USP *Dictionary of Drug Names* se hace con autorización de la Convención USP.

La Convención no se hace responsable por ninguna cita inexacta ni por ninguna deducción falsa o incorrecta que pueda derivarse del extracción de partes del contexto original, como tampoco de la obsolescencia resultante de la publicación de un suplemento.

Nota: Este texto no intenta ser el equivalente o el sustituto de la United States Pharmacopoeia (USP) y/o de la National Formulary (NF), ni debe ser considerado como tal. En caso de que surja alguna diferencia o discrepancia entre los estándares oficiales corrientes de la USP o de la NF sobre fuerza, calidad, pureza, embalaje o rotulación de las drogas y sus representaciones aquí, prevalecerán el contexto y el propósito de los compendios oficiales.

ISBN 950-06-1845-1 (Tomo 1)

950-06-1846-X (Tomo 2)

950-06-5019-3 (Obra completa)

IMPRESO EN LA ARGENTINA

Hecho el depósito que dispone la ley 11.723.

Todos los derechos reservados.

Este libro o cualquiera de sus partes

no podrán ser reproducidos ni archivados en sistemas recuperables,

ni transmitidos en ninguna forma o por ningún medio,

ya sean mecánicos o electrónicos, fotocopiadoras,

grabaciones o cualquier otro, sin el permiso previo

de Editorial Médica Panamericana S.A.

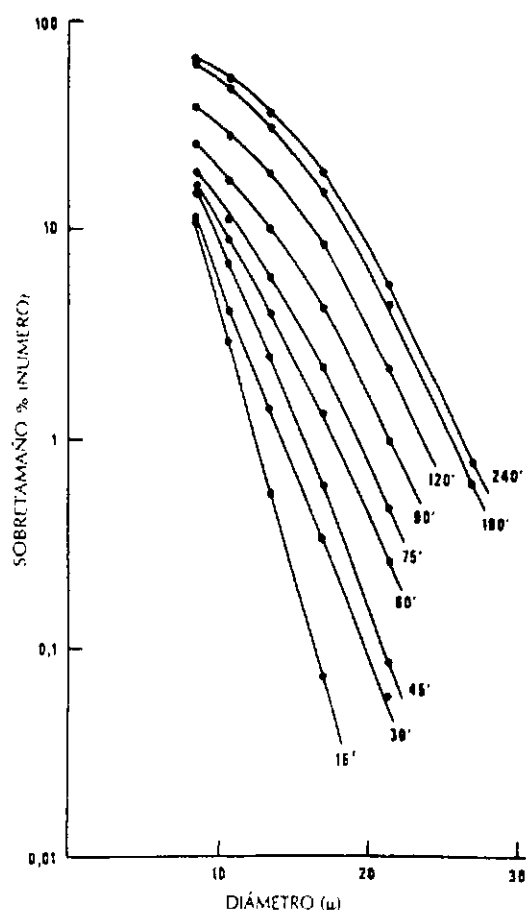


Fig. 76-3. Cambio del tamaño de las partículas en función del tiempo para una suspensión acuosa de la forma I de una droga experimental.

(Véase cap. 37 sobre *Absorción, acción y destino de las drogas*)

Conociendo el efecto de partición y la constante de disociación se puede estimar el sitio de absorción de una nueva entidad química. Presumiendo que en el estómago el pH es 1 a 3 y en el intestino delgado 5 a 8, en la mayoría de los casos las drogas ácidas (pK_a 3) se absorberán más pronto en el estómago y las más básicas (pK_a 8) lo harán más pronto en el tracto intestinal, pero existen excepciones porque algunas drogas tienen bajos coeficientes de partición y/o se ionizan mucho en toda la gama de pH fisiológicos, aunque siempre despliegan una buena biodisponibilidad a pesar de esto.

Polimorfismo

El polimorfo es una fase cristalina sólida de un compuesto dado que se debe a que pueden ocurrir por lo menos dos ordenamientos distintos de las moléculas del compuesto en el estado sólido. La molécula misma

puede ser de distinta forma en los polimorfos pero esto no es necesario y, en efecto, ciertos cambios de forma entrañan la formación de moléculas distintas y, por ende, no constituyen polimorfismo. A los isómeros geométricos o tautómeros, aunque sean interconvertibles y lo hagan en forma reversible, no se los puede denominar polimorfos, si bien pueden comportarse de manera confusamente similar.

Un criterio seguro para clasificar como polimórfico a un sistema es el siguiente: dos polimorfos serán de estructura cristalina distinta pero idénticos en el estado líquido o de vapor. Los isómeros dinámicos funden a temperaturas distintas, lo mismo que los polimorfos, pero los productos fundidos son de composición distinta. Con el tiempo cada uno de estos productos fundidos se convierte en una mezcla equilibrada de los dos isómeros y sus composiciones son termodependientes. Es indudable que algunos casos publicados de polimorfismo son isomerismos dinámicos porque los dos se comportan de manera muy similar.

Polimorfismo es la capacidad de cualquier elemen-

uri-
en-
en-

FORMA I
SUSPENSIÓN INICIAL



FORMA I
SUSPENSIÓN A LAS 6 HORAS

Fig. 76-4. Microfotografías del cambio de tamaño de los cristales en una suspensión de la forma I de una droga experimental.

to o compuesto para cristalizar en más de un sistema cristalino, como sucede con el carbono, que en el diamante cristaliza en el sistema cúbico y en el grafito en el sistema hexagonal. En general, los distintos polimorfos de un compuesto dado tienen una estructura y propiedades tan distintas como los cristales de dos compuestos diferentes. Así, la solubilidad, punto de fusión, densidad, dureza, forma de los cristales, propiedades ópticas y eléctricas, presión de vapor, estabilidad, etc., varían según la forma polimórfica. En general, se tendría que poder obtener cristales de formas distintas de una droga y modificar así las propiedades de desempeño de ese compuesto. Para hacer esto hay que conocer el comportamiento de los polimorfos. Se han publicado muchas reseñas sobre el tema del polimorfismo. Además en la bibliografía aparecen muchas indicaciones de la importancia del polimorfismo en productos farmacéuticos. Los trabajos de Kuhnert-Brandstatter y col., con esteroideos, barbitúricos y antihistamínicos representarían el estudio más intensivo que se ha hecho sobre polimorfismo y drogas. En Inglaterra, Mesley y col., valiéndose de la espectroscopia infrarroja, describieron el polimorfismo de esteroideos, barbitúricos y sulfonamidas. Los estudios de preformulación suelen incluir rigurosos trabajos para determinar la presencia de polimorfos en drogas nuevas a las cuales se prepara para hacer investigaciones preliminares en animales de experimenta-

ción. Entre los parámetros que se investigan como rutina figuran la cantidad de polimorfos que existen, el grado relativo de estabilidad de los diversos polimorfos, la presencia de un estado vídrioso, la estabilización de formas metaestables, las gamas de estabilidad térmica de cada polimorfo, solubilidades, método de preparación de cada forma, efecto de la micronización o tableteo e interacción con los componentes de la formulación.

El cometido inicial del preformulador es determinar si la droga que está evaluando existe en más de una forma cristalina. Por lo general para producir la cristalización de una forma metaestable se siguen los siguientes procedimientos:

a) Fúndase por completo una pequeña cantidad del compuesto en un portaobjeto y obsérvese la solidificación entre polares cruzados. Si luego de la congelación espontánea se produce una transformación espontánea o si se puede inducir ésta mediante sembrado o raspado, es probable que existan por lo menos dos formas polimórficas del compuesto. Es esencial prevenir la nucleación de la forma estable induciendo un superenfriamiento. El superenfriamiento puede inducirse con una muestra pequeña, manteniendo el trozo fundido unos 30 segundos unos 10° por encima del punto de fusión, dejando cuidadosamente el compuesto de lado sin sacudidas físicas antes de observarlo y mediante enfriamiento rápido del compuesto.

b) Calientese una muestra del compuesto sobre una placa

1914 PREPARADO FARMACÉUTICO Y SU ELABORACIÓN

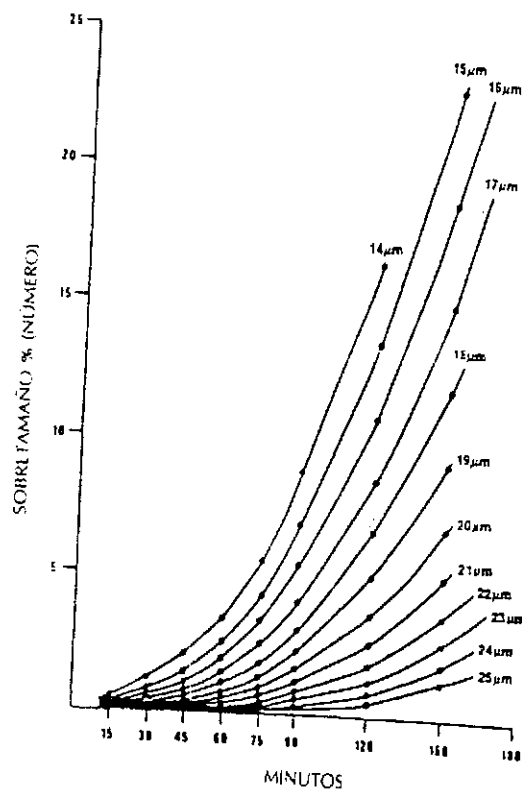


Fig. 76-5. Cambio en el recuento acumulativo en función del tiempo para una suspensión acuosa de la forma I de una droga experimental.

caliente y obsérvese si ocurre una transformación sólido-sólido durante el calentamiento.

c) Sublímbese una pequeña cantidad del compuesto y procúrese inducir una transformación entre el sublimado y la muestra original mezclando ambos en una gota de solución saturada de uno de ellos. Si los dos son polimorfos, el más estable será más insoluble y habrá de crecer a expensas de la

forma metaestable más soluble. Este proceso proseguirá hasta que la forma metaestable se haya transformado por completo en la forma estable. Si las muestras no son polimorfos, una puede disolverse pero la otra no crecerá. Si ambas son formas idénticas, no pasa nada.

d) Manténgase un exceso del compuesto en una pequeña cantidad de disolvente mantenido cerca del punto de fisión

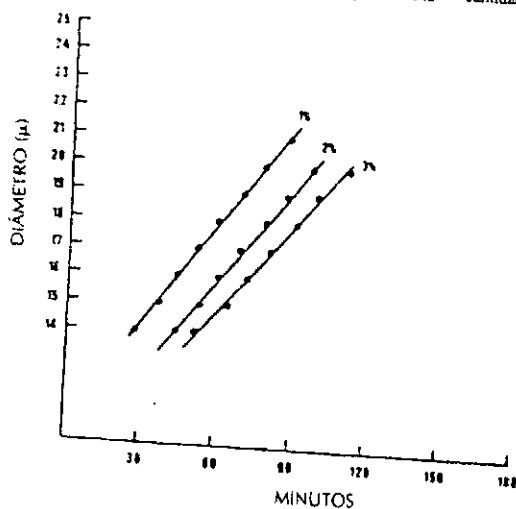


Fig. 76-6. Velocidad del crecimiento de la forma I de una droga experimental en suspensión acuosa.

del compuesto. Aíslese el sólido suspendido. Tómese la precaución de mantener la temperatura mientras se realiza este paso. Ensáyese el material aislado con una muestra original utilizando el procedimiento que se delinea en c).

e) Recritalícese el compuesto a partir de la solución mediante enfriamiento rápido y obsérvese una porción del material precipitado suspendido en una gota del líquido madre. Luego se puede sembrar la gota con el compuesto original para verificar la transformación de fase de la solución. Si el precipitado es un polimorfo distinto, tiene que tener lugar una transformación de fase en la solución.

Una vez que se ha establecido que ocurre polimorfismo, existen procedimientos con los cuales el preformulador puede preparar las diversas formas en cantidades más grandes para su evaluación adicional y adecuarlas para incorporar en forffias posológicas.

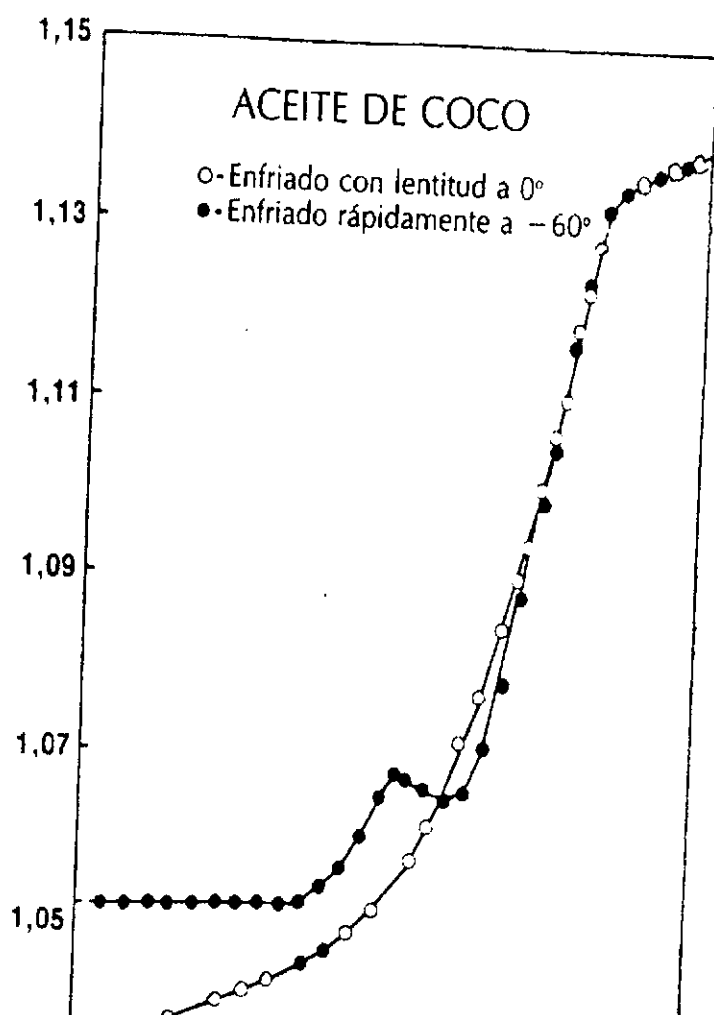
Habiéndose comprobado que un compuesto existe en más de una forma cristalina, existen varias técnicas para identificar sus distintas fases polimórficas. Cada una de estas técnicas podría servir para identificar la fase, pero adoptando una combinación de métodos se puede aislar e identificar cada modificación cristalina. A los efectos de confirmar la presencia de más de una

forma cristalina de un compuesto, conviene identificar las modificaciones con más de un método porque a veces si se usa un solo método para confirmar los polimorfismos pueden ocurrir equívocos.

Microscopia. Para identificar polimorfos se usa la cristalografía óptica. En su reseña sobre cristalografía, Biles comenta esta aplicación. Los cristales existen en formas isotrópicas y anisotrópicas. En presencia de cristales isotrópicos la velocidad de la luz es la misma en todas direcciones, en tanto que los cristales anisotrópicos tienen dos o tres velocidades luminosas o índices de refracción. Este método requiere los servicios de un cristalógrafo avezado.

Métodos de etapa caliente. El microscopio polarizante dotado de una platina caliente o fría es muy útil para investigar polimorfos. El microscopista experimentado sabe en seguida si existen polimorfos, el grado de estabilidad de las formas metaestables, las temperaturas de transición y los puntos de fusión, los índices de transición en diversas condiciones térmicas y físicas y si se debe aprovechar el polimorfismo como recurso para mejorar una forma posológica. Kodlers y MCrone hacen un comentario detallado de estos métodos.

Difracción de rayos X en polvos. Los materiales cristali-



1916 PREPARADO FARMACÉUTICO Y SU ELABORACIÓN

nos pulverizados producen imágenes de difracción de rayos X características que consisten en picos en determinadas posiciones y de intensidades variables. Cada trazado del retículo cristalino es característica de un determinado polimorfo. Este método tiene la ventaja, sobre otras técnicas de identificación, en que se examina la muestra tal como se presenta. Hay que poner cierto cuidado para reducir y mantener el control del tamaño de las partículas. Se requiere una muestra muy pequeña y el método no es destructivo. Varios investigadores han hecho difracción de rayos X para identificar polimorfos en productos farmacéuticos.

Espectroscopia infrarroja. Este procedimiento es útil para identificar polimorfos. Deben usarse muestras sólidas porque los polimorfos de un compuesto tienen espectros idénticos cuando están en solución. La técnica se puede emplear para hacer identificaciones cualitativas y cuantitativas.

Métodos térmicos. La calorimetría de rastreo diferencial y el análisis térmico diferencial se han usado extensamente para identificar polimorfos. En ambos métodos la pérdida o ganancia calórica debida a los cambios físicos o químicos que ocurren en una muestra, se registra en función de la temperatura al calentar la sustancia a un ritmo uniforme. Las transiciones de fase producen cambios entálpicos endotérmicos y exotérmicos. Por ejemplo, la fusión, sublimación, transición sólido-sólido y la pérdida de agua suelen producir efectos endotérmicos, en tanto que la cristalización produce efectos exotérmicos. El análisis térmico permite calcular los parámetros termodinámicos para los sistemas que se evalúan. Guillory obtuvo el calor de fusión del sulfatiazol y de la metilprednisolona. Ravin y col. utilizaron la calorimetría de rastreo diferencial para seguir el índice de conversión de los polimorfos del sulfatiazol.

Dilatometría. La dilatometría mide el cambio de volumen causado por efectos térmicos o químicos. Ravin e Higuchi* emplearon dilatometría para seguir el comportamiento de fusión del aceite de cacao midiendo el volumen específico de este aceite enfriado rápidamente y con lentitud en función del aumento de la temperatura. La presencia de una forma metaestable se manifestó por una contracción en la gama térmica de 20 a 24° (fig. 76-7). La dilatometría es de gran exactitud, pero es muy tediosa e insume mucho tiempo. No se la usa mucho.

Para estudiar el polimorfismo se usa a veces la resonancia magnética polar, la resonancia magnética nuclear y la microscopia electrónica.

Los polimorfos pueden clasificarse en dos tipos: 1) enantiotrópicos, en que una forma polimórfica puede convertirse de manera reversible en la otra modificando la temperatura o la presión, como el azufre, y 2) monotrópica, en que una forma polimórfica es inestable a todas las temperaturas y presiones, como los estearatos de glicerilo. A una temperatura y presión dadas sólo una forma polimórfica es termodinámicamente estable, pero pueden existir otras formas metaestables en las mismas condiciones. Estas formas metaestables habrán de pasar a las formas de retículo estable con el correr del tiempo. La primera indicación de la importancia de una transformación polimórfica en un sistema farmacéutico se notó con la novobiocina. La droga amorfa se absorbía bien, pero al formularla en suspensión ocurría una reversión de la forma metaestable a otra cristalina más estable, de modo que se absorbía mal.

Habiéndose determinado que una droga existe en más de una forma cristalina, se deben establecer las condiciones en que se puede producir cada una de ellas. De este modo se pueden mantener las condiciones de cristalización apropiadas de lote en lote para asegurar una materia prima uniforme y aceptable. El disolvente de la recristalización, la velocidad de cristalización y otros factores pueden hacer que predomine una forma de cristal. En esta investigación preliminar, para establecer estas condiciones hay que monitorear las formas preparadas. Por ejemplo, durante los trabajos preliminares con un derivado del indol se hizo calorimetría de rastreo diferencial, análisis con rayos X y análisis infrarrojo para establecer la presencia de polimorfos y que se los podría preparar satisfactoriamente. En las figuras 76-8 a 76-10 aparecen los datos respectivos para llegar a esta conclusión. Cuando se demuestra que hay polimorfos se deben preparar experimentos para determinar si las propiedades difieren o no lo suficiente como para alterar su comportamiento farmacéutico o biológico.

Al principio se pueden hacer pruebas de disolución para detectar diferencias en las solubilidades de equilibrio aparentes, siempre que se utilice un sistema de

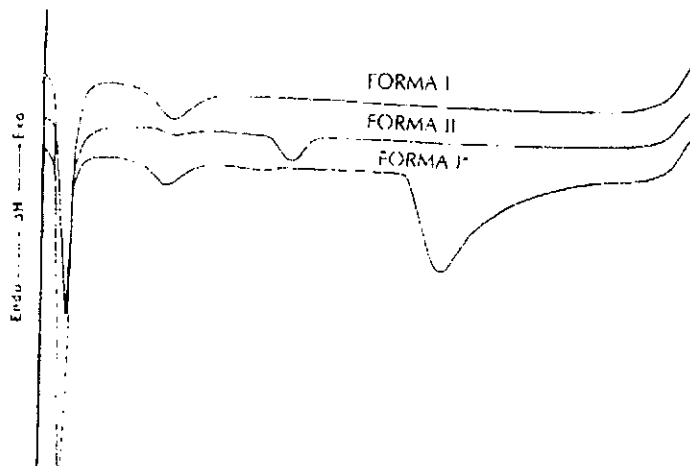
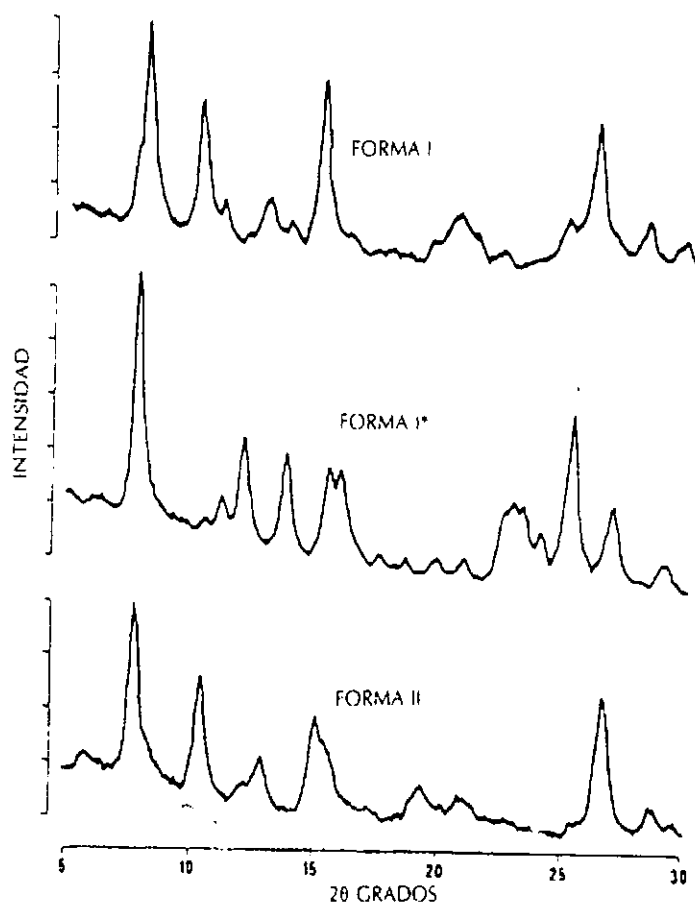


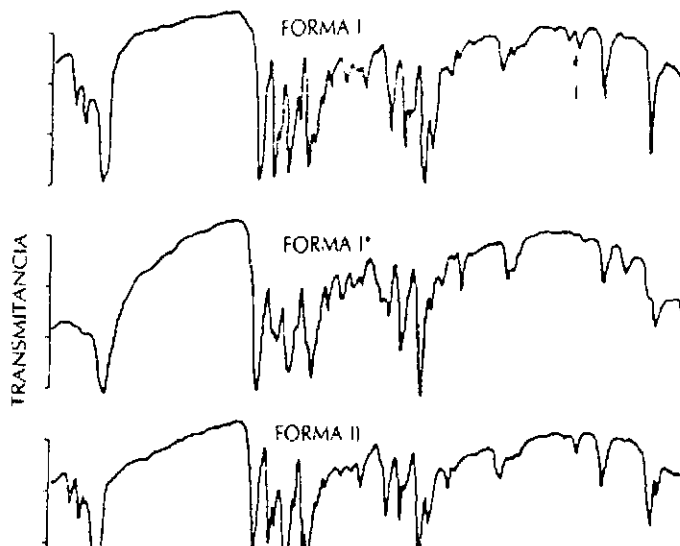
Fig. 76-9. Difractogramas de rayos X de las formas I, I* y II de SK&F 30097.



disolventes discriminativo. La figura 76-11 ilustra los datos de disolución para dos polimorfos de un derivado del indol que tenían una disolución similar en el medio empleado, pero al emplearse un medio de disolución más discriminativo aparecieron diferencias en sus características de disolución. Esto se representa en la figura 76-12. De acuerdo con los datos presentados para el derivado del indol se llegó a la conclusión de

que no habría ninguna diferencia apreciable en la disponibilidad de las dos formas si se las administrase por vía oral como forma posológica sólida. Esto se confirmó después en animales de experimentación.

La ecuación de Nernst relaciona el índice de aumento de la concentración con la solubilidad de un sólido que se está disolviendo y se la suele escribir así:



$$\frac{dc}{dt} = \frac{AD}{Vh} (C_s - C_t)$$

donde A es el área de interfase del sólido en vías de disolución, D el coeficiente de difusión del soluto en el disolvente, V el volumen del disolvente, h el espesor de la capa de difusión y C_s y C_t , las concentraciones del soluto a saturación y en el momento t , respectivamente. La ecuación se reduce a:

$$\frac{dc}{dt} = \frac{AD}{Vh} C_s$$

para las condiciones experimentales donde $C_s > C_t$. Siendo D una propiedad de la molécula de soluto y del disolvente, no depende de la forma en estado sólido. Se pueden seleccionar las condiciones experimentales de modo que A , V y h se mantengan constantes para medir las velocidades de disolución de distintas formas polimórficas. Entonces la velocidad de disolución es directamente proporcional a C_s y la solubilidad de saturación y las diferencias en las solubilidades se pueden relacionar con sus energías libres.

Se ha determinado la solubilidad y el comportamiento de disolución de varios polimorfos del palmitato de cloranfenicol. En las figuras 76-13 y 76-14 se ilustran los datos obtenidos a varias temperaturas. Del comportamiento de disolución se desprende que los

Cuadro 76-1. Valores termodinámicos calculados para los polimorfos A, B, C del palmitato de cloranfenicol

Polimorfo	Temp. de transición (°C) a la forma A	Calor de disolución kcal/mol	ΔG_T , cal/mol ^a	ΔS_{100} , e. s. u.	ΔS_{100} , e. s. u. ^a
A	—	21.8	—	—	—
B	88	15.4	-774	-18	-17
C	50	17.2	-465	-13	-14

^a Calculado para la conversión al polimorfo A.

valores máximos obtenidos fueron buenas aproximaciones de la solubilidad de las diversas formas. En consecuencia, obteniendo datos a varias temperaturas se podrían calcular las cantidades termodinámicas afectadas en la transición de la forma metaestable a la estable. En la figura 76-15 se han diagramado los datos de solubilidad en función de la temperatura en un trazado típico de van't Hoff. La relación rectilínea permite calcular los calores de solución para las diversas formas y también aproximar, mediante extrapolación, las temperaturas de transición para las diversas formas. Estos valores se consignan en el cuadro 76-1³.

A temperatura y presión constantes se pueden calcular las diferencias de energía libre entre los polimorfos por:

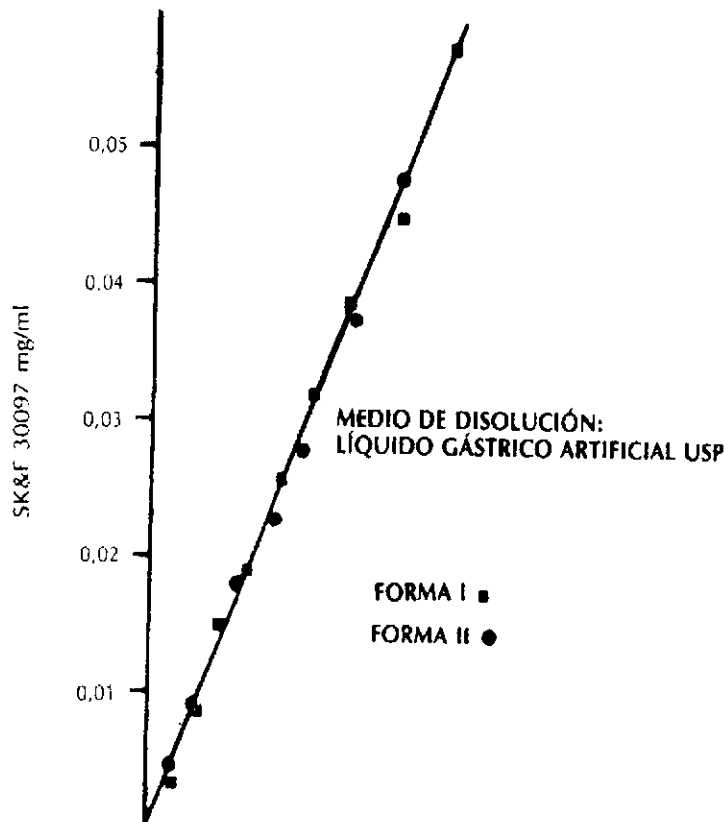


Fig. 76-12. Comportamiento de disolución de las formas I y II de SK&F 30097 en solución de etanol al 50%.

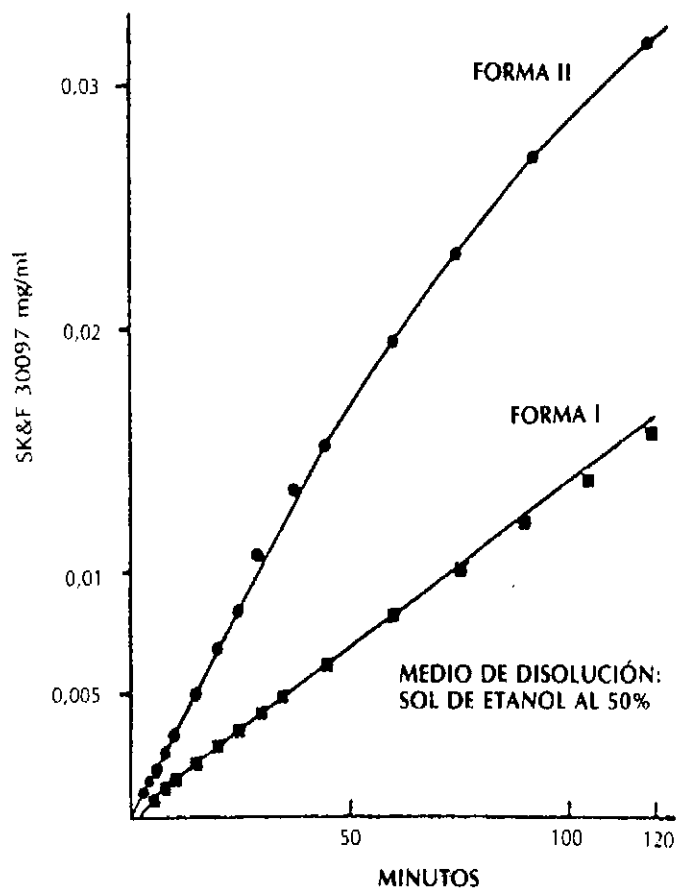


Fig. 76-13. Curvas de disolución del polimorfo C de palmitato de cloranfenicol en alcohol *i*-butílico al 35% y agua a 30, 20, 15 y 6°. Clave: 30°, ○—○; 20°, ■—■; 15°, △—△; 6°, ●—●.

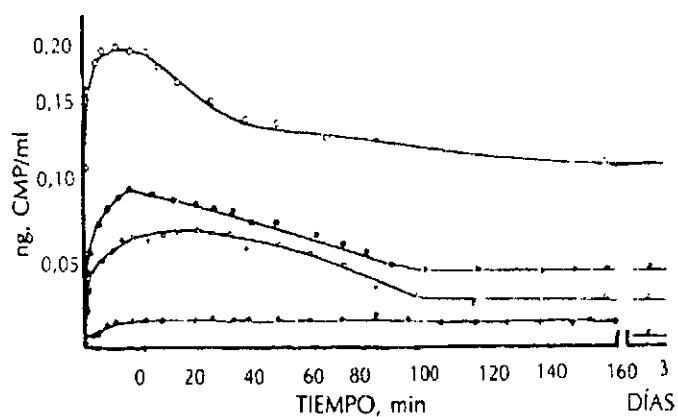
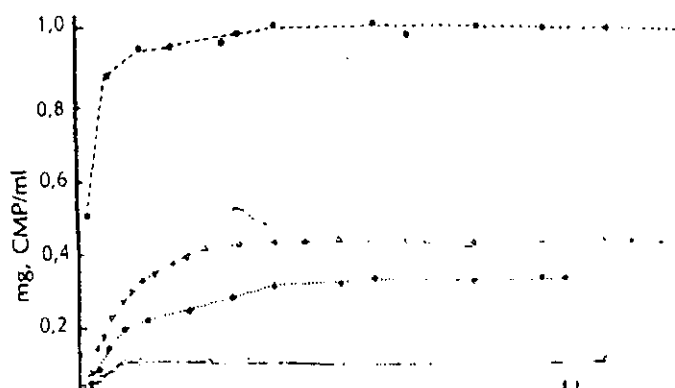


Fig. 76-14. Curvas de disolución de los polimorfos A y B de palmitato de cloranfenicol en alcohol *i*-butílico al 35% y agua 30 y 38°.



$$\Delta G_t = RT \ln \frac{C_s \text{ Polimorfo A}}{C_s \text{ Polimorfo B}}$$

Esta ecuación relaciona a la solubilidad C_s de las formas polimórficas a una temperatura dada T , con las diferencias de energía libre ΔG_t . El cuadro 76-1 también contiene las diferencias de energía libre calculadas para los polimorfos. También se pueden determinar los cambios de entalpía para las diversas transiciones restando el calor de solución obtenido para la forma estable del correspondiente a la forma metaestable. Además, a cualquier temperatura en particular T , la entropía para la transición de polimorfos se puede evaluar con la siguiente relación:

$$\Delta S_t = \frac{\Delta H_{B \rightarrow A} - \Delta G_t}{T}$$

En el cuadro 76-1 también se incluyen los valores calculados para las transiciones. A la temperatura de transición el ΔG_t es igual a cero y la entropía se puede calcular despreciando el término de la energía libre en la ecuación precedente.

Las relaciones termodinámicas que acabamos de comentar se basan en la presunción de que se cumple la Ley de Henry. El conocimiento de estas relaciones termodinámicas permite que el preformulador elija de manera más racional la forma polimórfica más energética de la droga que se investiga para estudios farmacológicos adicionales y también tenga una estimación preliminar de su probable estabilidad.

Cuando un grupo de preformulación investiga de manera inadecuada las formas polimórficas de las drogas pueden surgir problemas durante la etapa de desarrollo. El crecimiento de cristales en las suspensiones, con la consiguiente falta de uniformidad, mal aspecto, mala biodisponibilidad, transformaciones que ocurren durante la molienda o granulaciones que alteran las características físicas y biológicas, respuesta farmacológica inadecuada y mala estabilidad química, son problemas típicos que se ponen de manifiesto después.

Solubilidad

Al trabajar con drogas nuevas es de extraordinaria importancia conocer algo acerca de sus características

de solubilidad, en especial en sistemas acuosos, porque deben poseer alguna solubilidad limitada en medios acuosos para suscitar una respuesta terapéutica. Si una droga tiene una solubilidad acuosa menor de 1 mg/ml en la gama de pH fisiológico (1 a 7) puede plantearse un problema de biodisponibilidad y hay que emprender estudios de preformulación para mejorar el problema. La solubilidad de equilibrio de la droga se debe determinar en un disolvente o sistema disolvente que no surta ningún efecto tóxico en el animal de experimentación. Esto se hace colocando un exceso de droga en un frasco ampolla con el disolvente. Se agita el frasco a temperatura constante y se determina periódicamente la cantidad de droga analizando el líquido sobrenadante. No se alcanza el equilibrio hasta que por lo menos dos muestras sucesivas arrojan el mismo resultado. La experiencia con determinaciones de la solubilidad indicaría que se suele alcanzar el equilibrio agitando de un día para otro (unas 24 horas). Las determinaciones de solubilidad se pueden hacer a varias temperaturas porque los productos resultantes de la droga en última instancia estarán sujetos a amplias variaciones térmicas.

Si la solubilidad de la droga es menor que la concentración necesaria para la dosis recomendada, hay que tomar medidas para mejorar su solubilidad. El enfoque que se adopte suele depender de la índole química de la droga y del tipo de producto que se desea preparar con ella. Si la droga es ácida o básica, su solubilidad puede ser influida por el pH. Mediante la aplicación de la ley de acción de masas se puede prever con bastante exactitud la solubilidad de las drogas que son ácidos o bases débiles en función del pH empleando las siguientes ecuaciones para las drogas ácidas y básicas débiles.

Ácido débil	Base débil
$S_t = K_s \left(1 + \frac{K_a}{[H^+]} \right)$	$S_t = K_s \left(1 + \frac{[H^+]}{K_a} \right)$

Existen muchas drogas que no se disuelven aunque se ajuste el pH. Las drogas que son ácidos o bases muy débiles pueden requerir un pH que está fuera de los límites fisiológicos tolerables o causar problemas de estabilidad con los componentes de la fórmula. Por ejemplo, un indol experimental tiene una solubilidad de equilibrio de unos 50 mg/ml a pH 1.2 pero al aumentar el pH de este sistema a cerca de 2, la solubi-

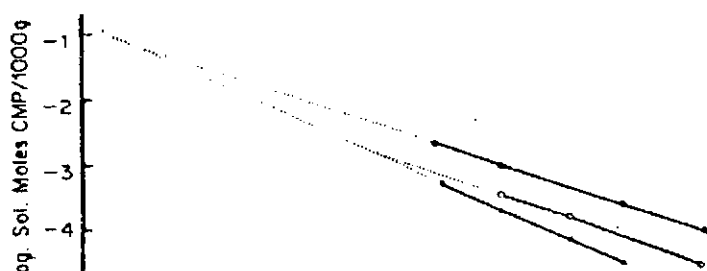


Fig. 76-15. Diagrama tipo van't Hoff para