

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 966 159**

51 Int. Cl.:

C07J 1/00	(2006.01)
A61P 5/30	(2006.01)
A61K 31/565	(2006.01)
A61P 9/00	(2006.01)
A61P 15/12	(2006.01)
A61P 17/00	(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **21.08.2017 PCT/US2017/047752**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **01.03.2018 WO18039110**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **21.08.2017 E 17844206 (7)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **04.10.2023 EP 3500265**

54 Título: **Ligandos selectivos del receptor beta de estrógeno**

30 Prioridad:

22.08.2016 US 201662378015 P
22.08.2016 US 201662378014 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
18.04.2024

73 Titular/es:

OR-GENIX THERAPEUTICS, INC. (100.0%)
Gateway Park/MBI, 60 Prescott Street
Worcester, MA 01605, US

72 Inventor/es:

SCHWARTZ, YAEL y
ABOLIN, CRAIG

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 966 159 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Ligandos selectivos del receptor beta de estrógeno

Esta aplicación tiene prioridad sobre la Solicitud de Patente Provisional Estadounidense N° de Serie 62/378.014 y 62/378.015, presentadas el 22 de agosto de 2016.

5 CAMPO DE LA INVENCION

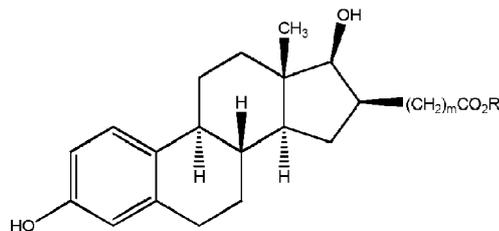
La presente invención se refiere en general a ligandos selectivos del receptor de estrógeno β y, en diversas realizaciones, más específicamente a derivados de estradiol sustituidos en 16β . Los ligandos selectivos del receptor de estrógeno β se pueden formular para administración tópica para usos terapéuticos y/o cosmecéticos.

ANTECEDENTES

- 10 Las terapias basadas en estrógenos (por ejemplo, terapia de reemplazo hormonal o TRH, anticonceptivos orales y similares) son comunes y generalmente se consideran efectivas. Sin embargo, la mayoría de las terapias sistémicas basadas en estrógenos tienen efectos secundarios conocidos, incluyendo cáncer y accidentes cerebrovasculares. La terapia con estrógenos, directa e indirectamente, afecta a una gran cantidad de órganos y algunos de los resultados asociados con la terapia con estrógenos son perjudiciales. En algunos casos, los efectos no deseados pueden mitigarse mediante una administración local en lugar de sistémica. Sin embargo, incluso el estrógeno tópico puede ingresar en el torrente sanguíneo y tener efectos sistémicos. En consecuencia, sigue existiendo la necesidad de terapias tópicas selectivas basadas en estrógenos mejoradas que tengan efectos secundarios y efectos no deseados reducidos. El documento WO-A-02/058634 describe derivados de estradiol con sustituciones 16α -carboxi-, 16α -carboxi-metil- y 16α -carboxietil- que tienen actividad sobre el receptor de estrógeno. Los documentos *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, Vol 117 (4/5) pp. 93-98 (2009) y *J. Med. Chem.*, Vol 49(4) pp. 1325-1345 (2006) describen los dos compuestos excluidos del alcance de la presente invención, así como su actividad en la inhibición de la 17-hidroxiesteroideshidrogenasa.

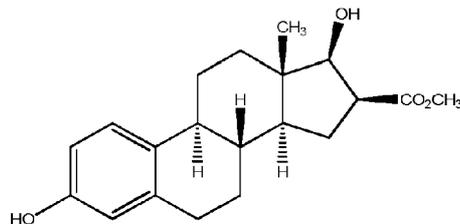
SUMARIO DE LA INVENCION

- 25 La invención se basa, al menos en parte, en el descubrimiento de que ciertos 16β -estradiolos sintéticos son agonistas selectivos del receptor de estrógeno β (RE β), y que estos 16β -estradiolos son eficaces para la administración tópica (por ejemplo, local) sustancialmente sin administración sistémica ni efectos secundarios. En consecuencia, los ligandos selectivos de RE β pueden usarse para dirigirse selectivamente al tejido enriquecido en RE β (frente al α). Por ejemplo, los compuestos pueden aplicarse tópicamente y usarse para producir efectos estrogénicos en la piel, el cabello, los vasos sanguíneos y las mucosas.
- 30 En diversos aspectos y realizaciones, la invención proporciona un compuesto según la Estructura 1:

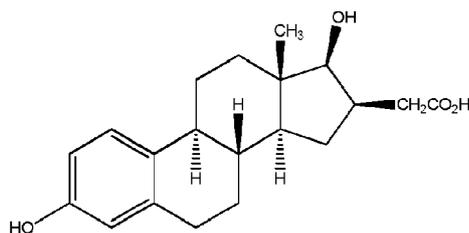


(Estructura 1)

donde m es 0, 1 ó 2 y R es H, un grupo alquilo de C₁ a C₅, vinilo, CF₃, CH₂CH₂F, CH₂CHF₂, o CH₂CF₃, donde los siguientes compuestos están excluidos del alcance de la Estructura 1:



(Estructura 5)



(Estructura 16)

En diversos aspectos y realizaciones, la invención proporciona una composición que comprende una cantidad eficaz de un compuesto según la invención (por ejemplo, una o varios cualesquiera de las Estructuras 1-4, 6-15 y 17) y un vehículo, diluyente o excipiente fisiológicamente aceptable, formulado para administración tópica.

5 En diversos aspectos y realizaciones, la invención proporciona los compuestos de la invención para su uso en un método que comprende administrar a un sujeto que lo necesita una cantidad eficaz de un compuesto según la invención (por ejemplo, una o varias cualesquiera de las Estructuras 1-4, 6-15 y 17) o una composición que los comprenda.

10 En diversos aspectos y realizaciones, la invención proporciona compuestos o composiciones de la invención para su uso en un método para tratar a un sujeto que comprende administrar un compuesto o composición de la invención al sujeto que lo necesita, tratando así al sujeto.

En diversos aspectos y realizaciones, la invención proporciona los compuestos de la invención para su uso como agonista selectivo para el subtipo del receptor de estrógeno RE β .

15 Como entenderán los expertos en la técnica, cualquiera de los aspectos y realizaciones anteriores se puede combinar con una o más de las características siguientes.

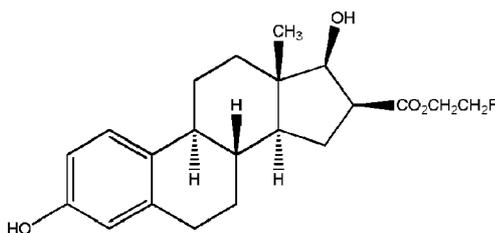
En diversas realizaciones, m es 0 y R es metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, isobutilo, pentilo, neopentilo, vinilo, CF₃, CH₂CH₂F, CH₂CHF₂, o CH₂CF₃.

En diversas realizaciones, m es 0 y R es metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, isobutilo, pentilo, neopentilo, vinilo, CF₃, CH₂CH₂F, CH₂CHF₂, o CH₂CF₃.

20 En diversas realizaciones, m es 1 y R es un grupo alquilo de C₁ o C₃ a C₅, vinilo, CF₃, CH₂CH₂F, CH₂CHF₂, o CH₂CF₃.

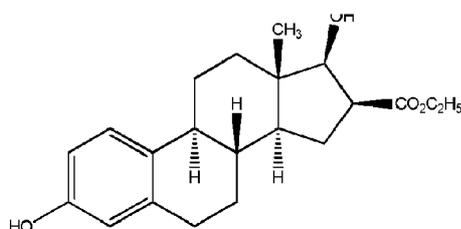
En diversas realizaciones, m es 2.

En diversas realizaciones, el compuesto es:



(Estructura 2)

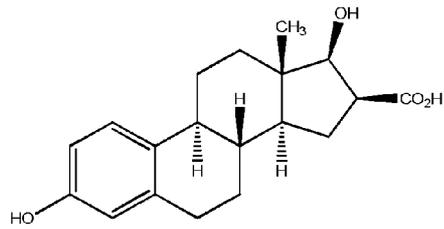
En diversas realizaciones, el compuesto es:



(Estructura 3)

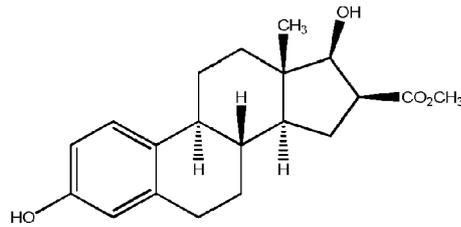
25

En diversas realizaciones, el compuesto es:



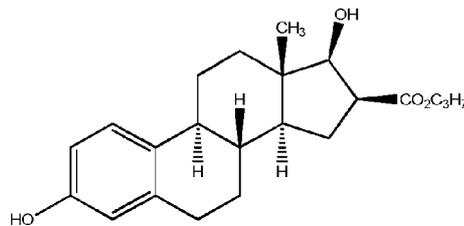
(Estructura 4)

En diversas realizaciones que no forman parte de la presente invención y se proporcionan únicamente con fines ilustrativos, el compuesto es:



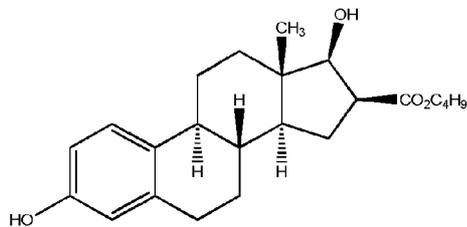
(Estructura 5)

5 En diversas realizaciones, el compuesto es:



(Estructura 6)

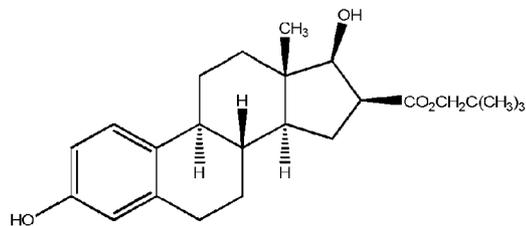
En diversas realizaciones, el compuesto es:



(Estructura 7)

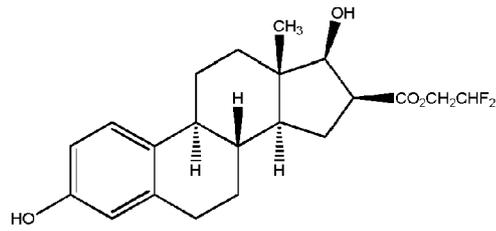
En diversas realizaciones, el compuesto es:

10



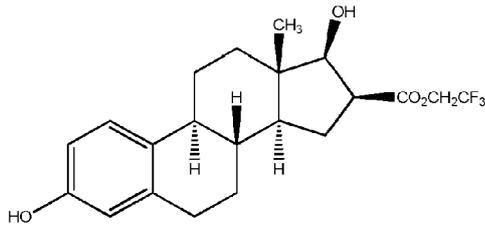
(Estructura 8)

En diversas realizaciones, el compuesto es:



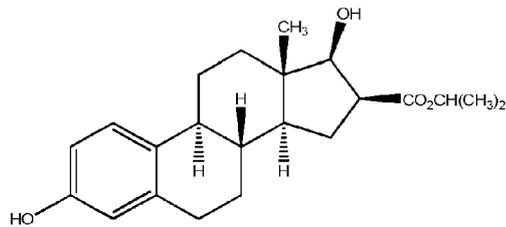
(Estructura 9)

En diversas realizaciones, el compuesto es:



(Estructura 10)

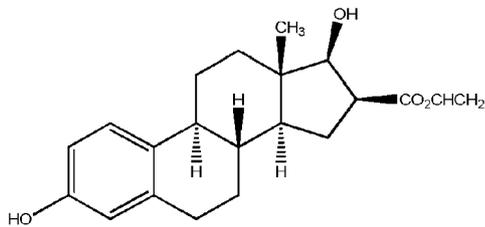
En diversas realizaciones, el compuesto es:



5

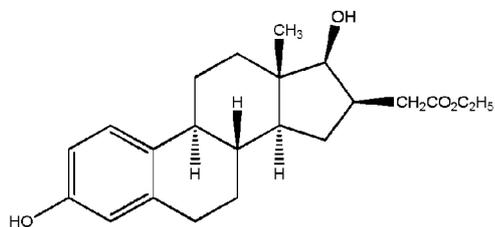
(Estructura 11)

En diversas realizaciones, el compuesto es:



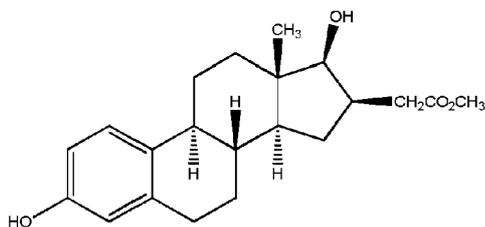
(Estructura 12)

En diversas realizaciones, el compuesto es:



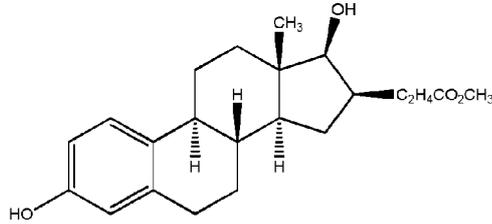
(Estructura 13)

10 En diversas realizaciones, el compuesto es:



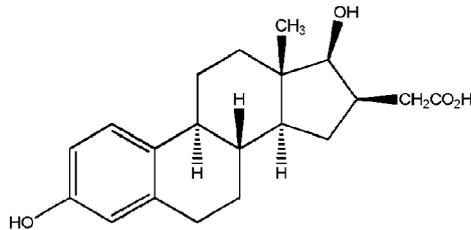
(Estructura 14)

En diversas realizaciones, el compuesto es:



(Estructura 15)

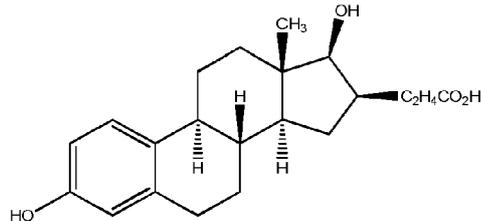
En diversas realizaciones que no forman parte de la presente invención y se proporcionan únicamente con fines ilustrativos, el compuesto es:



(Estructura 16)

5

En diversas realizaciones, el compuesto es:



(Estructura 17)

En determinadas realizaciones, el compuesto no incluye: $m = 0$ y $R = H$; $m = 0$ y $R = CH_3$; $m = 1$ y $R = CH_3$; y/o $m = 1$ y $R = CH_2CH_3$.

10 En algunas realizaciones, el compuesto no es la Estructura 4 ni la 17 (en los que $R = H$). En ciertas otras realizaciones, el compuesto no es la Estructura 13.

En diversas realizaciones, el compuesto es un éster de ácido 16β-estradiol carboxílico.

15 En diversas realizaciones, el compuesto se aísla (por ejemplo, sustancialmente puro enantioméricamente). Por lo tanto, en ciertas realizaciones, la composición incluye solo el compuesto aislado (por ejemplo, sustancialmente puro enantioméricamente) como ingrediente farmacéutico activo. La composición puede estar sustancialmente libre de otros compuestos estrogénicos, por ejemplo enantiómeros, en particular enantiómeros 16α.

En diversas realizaciones, el compuesto es selectivo para el REβ sobre el REα. La proporción entre las afinidades por los subtipos de receptores de estrógeno (REβ sobre REα) puede ser al menos aproximadamente 2, 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100 ó 1000.

20 En diversas realizaciones, la composición se usa y puede formularse específicamente para la administración tópica en la piel (por ejemplo, en la cara, el cuero cabelludo, el cuello, el escote, el pecho, los brazos, las manos, las piernas y similares).

25 En determinadas realizaciones, la composición se formula para administración tópica a una membrana mucosa. En una realización, la composición se formula para administración vaginal. En otra realización, la composición se formula para administración nasal. En aún otra realización ejemplar, la composición se formula para administración rectal. En una realización, la composición se formula para administración ocular.

30 En diversas realizaciones, el sujeto a quien se administra el compuesto o composición es un mamífero. Por ejemplo, el sujeto puede ser un humano. El sujeto puede ser un primate no humano. En diversas realizaciones, el sujeto es un animal con receptores de estrógeno, preferiblemente REβ. El sujeto puede ser una hembra o un macho. En determinadas realizaciones, el sujeto es una mujer.

En determinadas realizaciones, el sujeto tiene una deficiencia o desequilibrio de estrógenos. La deficiencia o desequilibrio puede estar relacionado con el envejecimiento, por ejemplo, en una hembra menopáusica o posmenopáusica o en una hembra pre o perimenopáusica.

5 En determinadas realizaciones, las composiciones de la invención (incluidas las diversas formulaciones) pueden ser para uso con receta y ser recetadas por un médico para una enfermedad o afección clínicamente reconocida asociada con una deficiencia o desequilibrio de estrógeno.

Alternativamente, las composiciones pueden estar disponibles sin receta (o recetadas por un médico tal como un dermatólogo) para uso discrecional o cosmético.

10 En diversas realizaciones, la administración es tópica. La administración tópica puede ser en la piel o en las mucosas como se describió anteriormente.

En diversas realizaciones, el compuesto actúa sustancialmente sin efectos sistémicos (por ejemplo, actúa en y/o proximalmente al sitio de administración, pero no entra sustancialmente en la circulación ni/o no afecta al tejido distalmente al sitio de administración).

15 En diversas realizaciones, el compuesto actúa sustancialmente sin efectos fuera de la diana (por ejemplo, afecta al tejido objetivo, pero no a otros tejidos).

En diversas realizaciones, el tratamiento es cosmético o cosmeceútico.

En diversas realizaciones, el RE β se dirige selectivamente mediante la administración del compuesto a un sujeto.

En diversas realizaciones, el sujeto tiene una enfermedad o afección asociada con una deficiencia o desequilibrio de estrógeno.

20 En diversas realizaciones, la deficiencia o desequilibrio de estrógenos se debe a andrógenos sin oposición.

En diversas realizaciones, la enfermedad o afección se relaciona con el crecimiento del cabello.

La invención también presenta una composición según cualquiera de los aspectos y realizaciones anteriores, para uso como medicamento. En diversas realizaciones, el medicamento puede ser para administración tópica y puede evitar sustancialmente la administración sistémica del compuesto.

25 BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

La figura 1A muestra los resultados de un ensayo de estrógeno funcional para la Estructura 15 del agonista 16 β .

La figura 1B muestra los resultados de un ensayo de estrógeno funcional para la estructura 15' del agonista 16 α .

La figura 2A muestra los resultados de un ensayo de unión para la Estructura 3 del agonista 16 β .

La figura 2B muestra los resultados de un ensayo de unión para la estructura 3' del agonista 16 α .

30 La figura 3A muestra los resultados de un ensayo de estrógeno funcional para la Estructura 3 del agonista 16 β .

La figura 3B muestra los resultados de un ensayo de estrógeno funcional para la Estructura 3' del agonista 16 α .

La figura 4 muestra un ejemplo de síntesis de la Estructura 3 del agonista 16 β y su Estructura 3' análoga de 16 α .

La figura 5 muestra un HPLC de la Estructura 3 99,7% pura.

La figura 6 muestra una RMN de la Estructura 3.

35 La figura 7 muestra un HPLC de la Estructura 3' 99,5% pura.

La figura 8 muestra una RMN de la Estructura 3'.

DESCRIPCIÓN DETALLADA

40 La invención se basa, al menos en parte, en el descubrimiento de que ciertos 16 β -estradiolos sintéticos son agonistas selectivos de RE β , y que estos 16 β -estradiolos son eficaces para la administración tópica (por ejemplo, local) sustancialmente sin administración sistémica ni los efectos secundarios correspondientes. En consecuencia, los ligandos selectivos del RE β pueden usarse para dirigirse selectivamente a tejido enriquecido en RE β (frente al α). Por ejemplo, los compuestos pueden aplicarse tópicamente y usarse para producir efectos estrogénicos en la piel (por ejemplo, cuero cabelludo), cabello, vasos sanguíneos y mucosas.

El envejecimiento de la piel se ha relacionado con la deficiencia de estrógenos en mujeres posmenopáusicas (Draeos

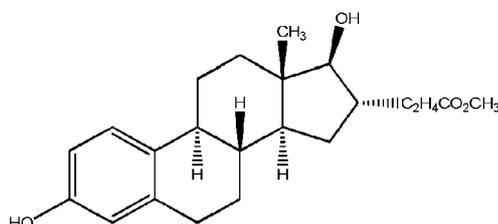
Z. D. Topical and oral estrogens revisited for antiaging purposes. *Fertil Steril* 84, 291-292 (2005); Thornton M. J. Estrogens and aging skin. *Dermato-Endocrinology* 5, 264-270 (2013)) El receptor de estrógeno β (RE β) es el receptor de estrógeno humano dominante en la piel (Thornton M. J. *et al.* Estrogen receptor beta is the predominant oestrogen receptor in human scalp skin. *Exp Dermatol* 12, 181-190 (2003); Pelletier G. & Ren L. Localization of sex steroid receptors in human skin. *Histol Histopathol* 19, 629-636 (2004); Beier K., Ginez I. & Schaller H. Localization of steroid hormone receptors in the apocrine sweat glands of the human axilla. *Histochem Cell Biol* 123, 61-65 (2005)). La presente invención proporciona ligandos estrogénicos selectivos de RE β , que pueden usarse, por ejemplo, para tratar la deficiencia de estrógeno por vía tópica (por ejemplo, en la piel, membranas mucosas y similares) con un impacto sistémico mínimo. En consecuencia, la presente invención se distingue de los ligandos estrogénicos endógenos, tales como estradiol, estrona y estriol (así como la mayoría de los estrógenos sintéticos), que no son específicos con respecto al receptor de estrógeno alfa (RE α) y RE β (Kuiper G. G. J. M. *et al.* Comparison of the Ligand Binding Specificity and Transcript Tissue Distribution of Estrogen Receptors α and β . *Endocrinology* 138, (1997))

Las modificaciones químicas en la posición C16 del estradiol han demostrado que algunos derivados 16 α son estrogénicos (Reiner G. C. A., Katzenellenbogen B. S., Bindal R. D. & Katzenellenbogen J. A. Biological Activity and Receptor Binding of a Strongly Interacting Estrogen in Human Breast Cancer Cells. *Cancer Res* 44, 2302-2308 (1984), Fevig T. L., Mao M. K. & Katzenellenbogen J. A. Estrogen Receptor Binding Tolerance of 16 α -Substituted Estradiol Derivatives. *Steroids* 51, 471-497 (1988), Labaree D. C., Reynolds T. Y. & Hochberg R. B. Estradiol-16 α -carboxylic Acid Esters as Locally Active Estrogens. *J. Med Chem* 44, 1802-1814 (2001)). Una serie de ésteres alquílicos de 16 α -estradiol destinados a uso tópico parecían mostrar una unión preferencial a RE α (Labaree D. C., Reynolds T. Y. & Hochberg R. B. Estradiol-16 α -carboxylic Acid Esters as Locally Active Estrogens. *J Med Chem* 44, 1802-1814 (2001)) R- α se expresa muy poco en la piel y los ligandos de RE α se han relacionado con el cáncer de mama y de endometrio (Liao X-H. *et al.* Estrogen receptor α mediates proliferation of breast cancer MCF-7 cells via a p21/PCNA/E2F1-dependent pathway. *FEBS Journal* 281, 927-942 (2013), Bender D., Buekers T. & Leslie K. K. Hormones and Receptors in Endometrial Cancer. *Proceedings in Obstetrics and Gynecology* 2, 1-25 (2011)).

Las modificaciones químicas en el C16 del estradiol también pueden producir compuestos no estrogénicos capaces de inhibir la enzima 17 β -hidroxiesteroidehidrogenasa Tipo 1 (17 β -HSD1) que convierte la estrona en estradiol y se proponen para tratar cánceres dependientes de estrógenos. Se ha encontrado que una serie de derivados 16 α del estradiol inhiben la 17 β -HSD1. Otros han producido derivados de 16 β estradiol que también inhiben 17 β -HSD (Allan G. M. *et al.* Modifications of Estrone at the 6, 16 and 17 positions: Novel Potent Inhibitors of 17 β -Hydroxysteroid Dehydrogenase Type 1. *J. Med. Chem* 49, 1325-1345 (2006)). Los compuestos estrogénicos según la presente invención con selectividad por RE β se pueden aplicar ventajosamente mediante aplicación tópica, sin los inconvenientes de los ligandos de RE α .

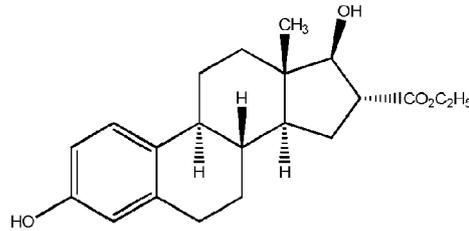
Muchos derivados de estradiol en la posición C16 (tanto 16alfa como 16beta) no son estrogénicos ni adecuados para la administración tópica para tratar la deficiencia o el desequilibrio local de estrógenos. Véanse, por ejemplo, Paquette L. A., Dahnke K., Doyon J., He W., Wyant K. & Friedrich D. Regioselective Conversion of Cycloalkanones to Vinyl Bromides with 1,2-Functionality Transposition. A General Strategem. *J. Org. Chem* 56, 6199-6205 (1991); y Allan G. M. *et al.* Modifications of Estrone at the 6, 16 and 17 positions: Novel Potent Inhibitors of 17 β -Hydroxysteroid Dehydrogenase Type 1. *J. Med. Chem* 49, 1325-1345 (2006).

Los compuestos de 16 β -estradiol según la presente invención son selectivos para RE β y/o tienen una alta actividad RE β . Por ejemplo, se prepararon derivados de 16 β según la invención y se probaron frente a sus homólogos 16 α para determinar la especificidad de RE. En un ensayo, resumido en el Ejemplo 1 a continuación, se probó la Estructura 15 del derivado 16 β frente a su homólogo 16 α , que se muestra a continuación como Estructura 15':



Ambos enantiómeros son agonistas de estrógenos relativamente débiles pero fueron sorprendentemente específicos para RE β . El derivado 16 β de la presente invención (Estructura 15) fue más específico para RE β que el derivado 16 α correspondiente.

En otro ensayo, resumido en los Ejemplos 2 y 3 a continuación, se probó la Estructura 3 del derivado 16 β frente a su homólogo 16 α , que se muestra a continuación como Estructura 3':



(Estructura 3') para la unión a RE y la actividad funcional. (Las estructuras marcadas como X' son los derivados 16 α correspondientes). Como se esperaba, el derivado 16 α era específico de RE α con respecto a la actividad funcional y de unión. Sin embargo, el derivado 16 β (Estructura 3) tenía una unión y una actividad RE α funcional comparable o marginalmente mayor en comparación con el subtipo ER β .

En consecuencia, los ligandos selectivos de RE β pueden usarse para dirigirse selectivamente a tejido enriquecido en RE β (frente a ER α).

Las diversas características de la invención, incluidos ligandos selectivos de RE β , síntesis de ligandos selectivos de RE β , formulaciones tópicas, tratamiento y administración, y ejemplos ilustrativos, se analizan, a su vez, a continuación.

Receptores de estrógeno

Los receptores de estrógeno (RE) son un grupo de proteínas que se encuentran dentro y sobre las células y que son activadas por la hormona estrógeno. Las dos clases de RE incluyen receptores de estrógeno nucleares (ER α y ER β), que son miembros de la familia de receptores nucleares de receptores intracelulares de estrógenos de membrana (mRE) (GPRE (GPR30), RE-X y Gq-mRE), que son en su mayoría receptores acoplados a proteína G.

Hay dos formas diferentes de receptor nuclear de estrógeno, normalmente denominadas α y β , cada una codificada por un gen independiente (ESR1 y ESR2, respectivamente). Los receptores de estrógeno activados por hormonas forman dímeros y, dado que las dos formas se coexpresan en muchos tipos de células, los receptores pueden formar homodímeros RE α ($\alpha\alpha$) o RE β ($\beta\beta$) o heterodímeros RE $\alpha\beta$ ($\alpha\beta$). RE α y RE β muestran una homología de secuencia general significativa y ambos están compuestos por cinco dominios. Se asumió ampliamente después del aislamiento y clonación del receptor de estrógeno humano (Greene G. L. *et al.* Sequence and Expression of Human Estrogen Receptor Complementary DNA. *Science* 231, 1150-1154 (1986); Green S. *et al.* Human oestrogen receptor cDNA: sequence, expression and homology to v-erb-A. *Nature* 320, 134-139 (1986)) que sólo existía uno de estos receptores. Sólo diez años después, se clonó un nuevo gen que codificaba un receptor de estrógeno diferente. (Mosselman S., Polman J. & Dijkema R. ER β : identification and characterization of a novel human estrogen receptor. *FEBS Letters* 392, 49-53 (1996)). Tanto RE α como RE β se unen al estrógeno endógeno (estradiol 17 β) con una alta afinidad similar. Sin embargo, RE α y RE β pueden tener diferentes funciones y distribución tisular, así como diferentes respuestas a otros ligandos estrogénicos.

La presente invención proporciona nuevos ligandos selectivos de RE β , que pueden usarse para aplicación tópica para tratar la deficiencia y/o el desequilibrio de estrógeno. Los compuestos pueden ser particularmente ventajosos en el tratamiento de la piel, donde RE β es el principal receptor de esteroides. A diferencia de RE α y los receptores de andrógenos (RA), el RE β se expresa altamente en la epidermis, los vasos sanguíneos y los fibroblastos dérmicos. En el folículo piloso, la expresión de RE β se localiza en los núcleos de la vaina radicular externa, la matriz epitelial y las células de la papila dérmica. Esto contrasta con RE α y RA, que solo se expresan en las células de la papila dérmica. Hay una fuerte expresión nuclear de RE β en las células de la protuberancia, mientras que no se expresan ni RE α ni RA. En la glándula sebácea, RE β se expresa tanto en los sebocitos basales como en los parcialmente diferenciados. RE α presentó un patrón de expresión similar, mientras que RA se expresa en los sebocitos basales y en los diferenciados muy pronto. La amplia distribución de RE β en la piel humana sugiere que los estrógenos pueden desempeñar un papel importante en el mantenimiento de la piel y en la regulación de la unidad pilosebácea (Thornton M. J. *et al.* The Distribution of Estrogen Receptor β Is Distinct to That of Estrogen Receptor α and the Androgen Receptor in Human Skin and the Pilosebaceous Unit. *J Inves Dermatol Symp Proc* 8, 100-103 (2003)). Los ligandos selectivos de RE β según la invención son útiles para dirigirse a estos tejidos enriquecidos en RE β .

Ligandos selectivos del receptor de estrógeno β

En diversos aspectos y realizaciones, la invención proporciona ligandos selectivos de RE β , específicamente 16 β -estradiolos. Los ligandos pueden ser selectivos para RE β sobre RE α en cuanto a la unión y/o su actividad. Los ligandos pueden ser eficaces para la administración tópica (por ejemplo, local) sustancialmente sin administración sistémica y/o efectos sistémicos.

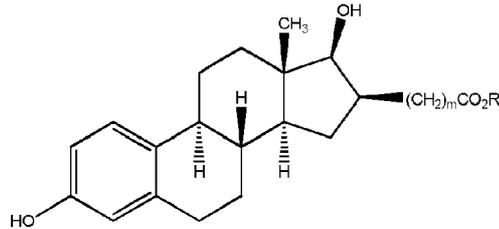
En diversos aspectos y realizaciones, los 16 β -estradiolos son más específicos para el subtipo β del receptor de estrógeno. En diversas realizaciones, dichos 16 β -estradiolos pueden estimular el crecimiento del cabello. Esto se evidencia por la observación de que, por ejemplo, durante el embarazo, cuando los niveles de estrógeno son muy

altos, las mujeres a menudo experimentan crecimiento del cabello debido a la prolongación de la fase anágena (la fase de crecimiento) del ciclo de crecimiento del cabello. Por el contrario, la caída en picado de los niveles estrogénicos posparto y menopáusico provoca adelgazamiento y caída del cabello, lo que a veces produce una pérdida de cabello clínicamente significativa.

- 5 En diversas realizaciones, el compuesto es selectivo para RE β sobre RE α . La proporción entre las afinidades de los subtipos de receptores de estrógeno (RE β sobre RE α) puede ser al menos aproximadamente 2, 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100 o 1000. Como comparación, la relación entre las afinidades de los subtipos de receptores de estrógeno (RE β sobre RE α) es de aproximadamente 1 para el estradiol (*J. Med. Chem.* (2003) 46, 1886-1904)

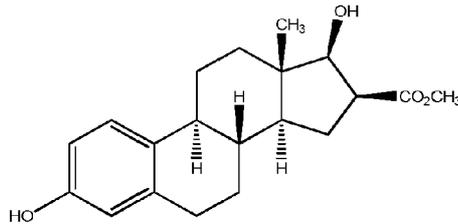
En diversos aspectos y realizaciones, la invención proporciona un compuesto según la Estructura 1:

10

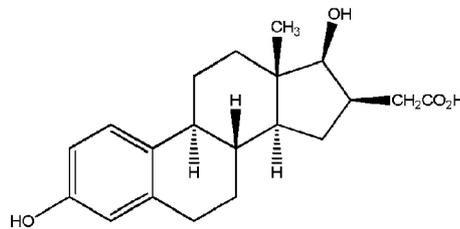


(Estructura 1)

donde m es 0, 1 ó 2 y R es H, un grupo alquilo de C₁ a C₅, vinilo, CF₃, CH₂CH₂F, CH₂CHF₂, o CH₂CF₃, donde los siguientes compuestos están excluidos del alcance de la Estructura 1:



(Estructura 5)



(Estructura 16)

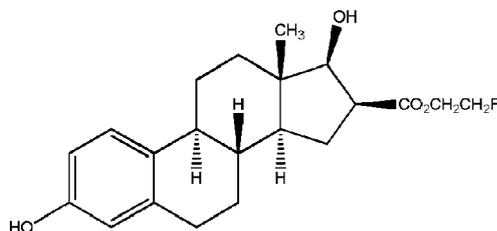
- 15 En diversas realizaciones, m es 0 y R es metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, isobutilo, pentilo, neopentilo, vinilo, CF₃, CH₂CH₂F, CH₂CHF₂, o CH₂CF₃.

En diversas realizaciones, m es 0 y R es etilo, propilo, isopropilo, butilo, isobutilo, pentilo, neopentilo, vinilo, CF₃, CH₂CH₂F, CH₂CHF₂, o CH₂CF₃.

En diversas realizaciones, m es 1 y R es un grupo alquilo de C₁ o C₃ a C₅, vinilo, CF₃, CH₂CH₂F, CH₂CHF₂, o CH₂CF₃.

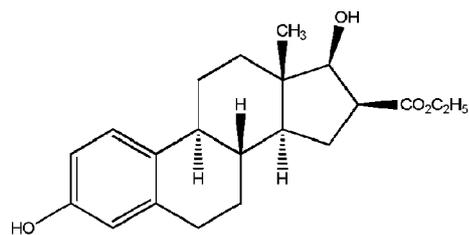
- 20 En diversas realizaciones, m es 2.

En diversas realizaciones, el compuesto es:



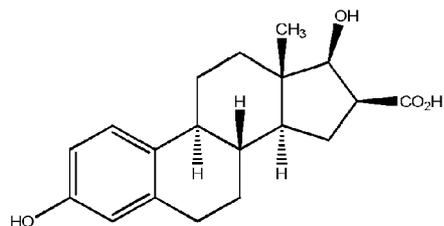
(Estructura 2)

En diversas realizaciones, el compuesto es:



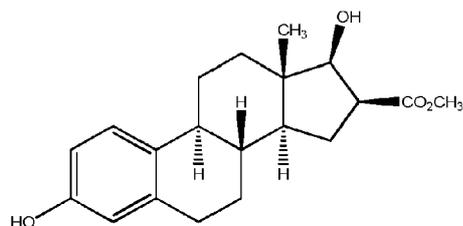
(Estructura 3)

En diversas realizaciones, el compuesto es:



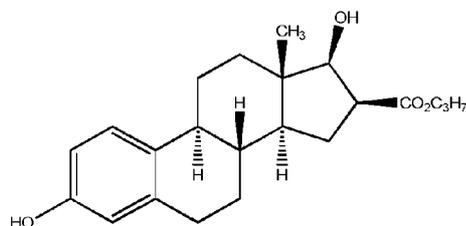
(Estructura 4)

5 En diversas realizaciones que no forman parte de la presente invención y se proporcionan únicamente con fines ilustrativos, el compuesto es:



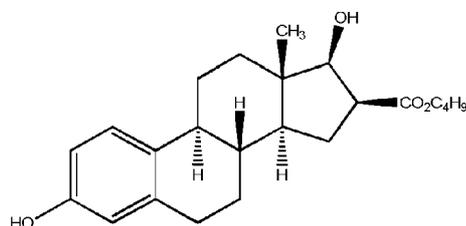
(Estructura 5)

En diversas realizaciones, el compuesto es:



(Estructura 6)

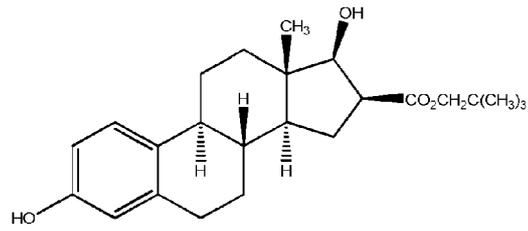
En diversas realizaciones, el compuesto es:



(Estructura 7)

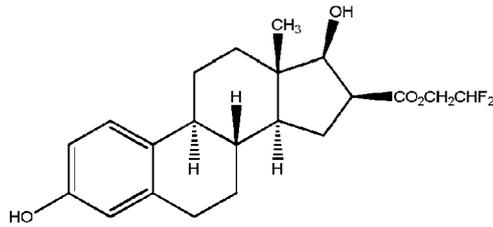
10

En diversas realizaciones, el compuesto es:



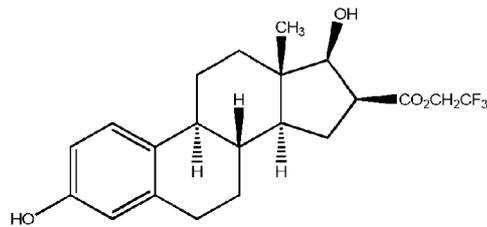
(Estructura 8)

En diversas realizaciones, el compuesto es:



(Estructura 9)

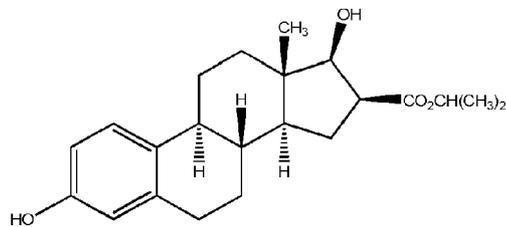
En diversas realizaciones, el compuesto es:



5

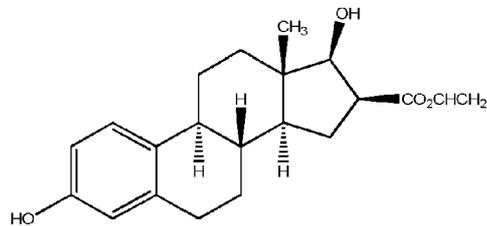
(Estructura 10)

En diversas realizaciones, el compuesto es:



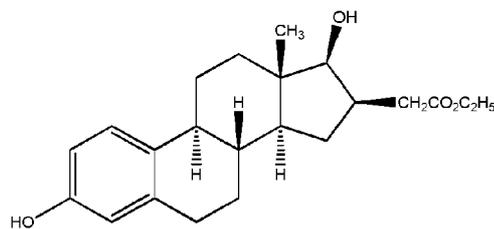
(Estructura 11)

En diversas realizaciones, el compuesto es:



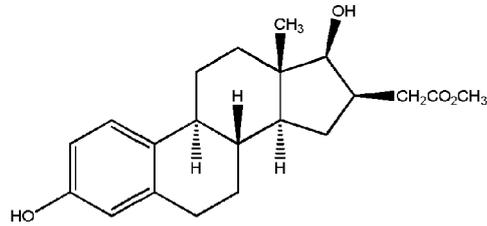
(Estructura 12)

10 En diversas realizaciones, el compuesto es:

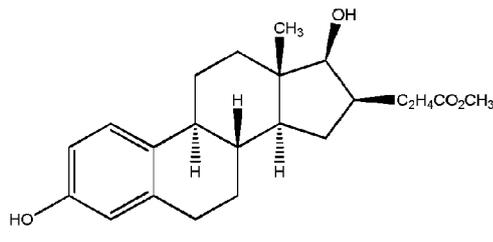


(Estructura 13)

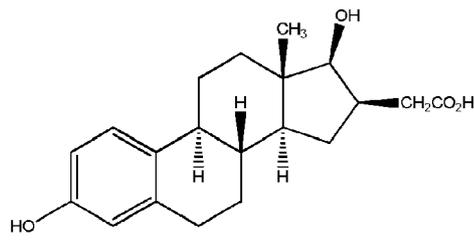
En diversas realizaciones, el compuesto es:



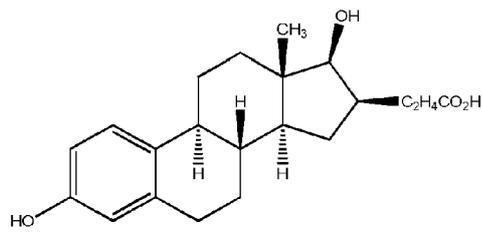
En diversas realizaciones, el compuesto es:



- 5 En diversas realizaciones que no forman parte de la presente invención y se proporcionan únicamente con fines ilustrativos, el compuesto es:



En diversas realizaciones, el compuesto es:



- 10 En diversas realizaciones, el compuesto no incluye: $m = 0$ y $R = H$; $m = 0$ y $R = CH_3$; $m = 1$ y $R = CH_3$; y/o $m = 1$ y $R = CH_2CH_3$.

En algunas realizaciones, el compuesto no es la Estructura 4 ni la 17 (donde $R = H$). En algunas otras realizaciones, el compuesto no es la Estructura 13. En diversas realizaciones, el compuesto no contiene un grupo funcional ácido carboxílico unido al C16 del estradiol o del derivado de estradiol. En una realización preferida, el compuesto no incluye:

- 15 a) $m = 0$ y $R = H$; b) $m = 1$ y $R = H$; o c) $m = 2$ y $R = H$.

En diversas realizaciones, el compuesto se aísla (por ejemplo, sustancialmente enantioméricamente puro). Por ejemplo, la composición puede contener al menos 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 95%, 97%, 98%, 99% o más de ligando(s) 16 β enantioméricamente puro(s). Por lo tanto, en algunas realizaciones, la composición puede incluir solo el compuesto aislado (por ejemplo, sustancialmente puro enantioméricamente) como ingrediente farmacéutico activo.

- 20 La composición puede estar sustancialmente libre de otros compuestos estrogénicos, por ejemplo enantiómeros, en particular enantiómeros 16 α . Como se usa en el presente documento, sustancialmente libre de otros compuestos estrogénicos significa que la composición está libre de todos, o casi todos, los compuestos estrogénicos distintos del(de los) ligando(s) 16 β deseados de la invención. La composición puede ser 100% pura (por ejemplo, dentro de límites analíticos) o menos de 100% pura (por ejemplo, puede haber presentes trazas de otros compuestos estrogénicos, pero no se espera que tengan ningún efecto fisiológicamente relevante).
- 25

En diversas realizaciones, el compuesto es un éster de ácido 16 β -estradiol carboxílico.

Síntesis de ligandos selectivos del receptor de estrógeno β

5 En el Ejemplo 4 siguiente se proporciona una síntesis representativa de la Estructura 3. Este método se puede adaptar para la síntesis de todos los compuestos según las Estructuras 1-2 y 4-17 según los expertos en la técnica. Por ejemplo, para los Compuestos 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 y 12, se podría usar carbonato de dimetilo en la etapa uno y el alcohol apropiado en la etapa 4. Para los Compuestos 13 y 14, se podría usar carbonato de dietilo en la etapa 1 y alcohol etílico o metílico, respectivamente, en la etapa 4. Para el Compuesto 15, se podría usar carbonato de dipropilo en la etapa 1 y metanol en la etapa 4.

Formulaciones tópicas

10 En diversos aspectos y realizaciones, la invención proporciona una composición que comprende una cantidad eficaz de un compuesto según la invención (por ejemplo, una o varias cualesquiera de las Estructuras 1-4, 6-15 y 17) y un vehículo, diluyente o excipiente fisiológicamente aceptable, formulado para administración tópica. Ejemplos de formulaciones tópicas incluyen cremas, geles, lociones, supositorios, parches y similares.

15 La composición puede incluir un compuesto o composición según la invención y un excipiente fisiológicamente aceptable. Tal como se utiliza en el presente documento, un excipiente puede ser una sustancia natural o sintética formulada junto con el ingrediente activo. Se pueden incluir excipientes con el fin de estabilizar a largo plazo, aumentar el volumen (por ejemplo, agentes de carga, rellenos o diluyentes) o para conferir una mejora al ingrediente activo en la forma de dosificación final, como facilitar la absorción, reducir la viscosidad, o mejorar la solubilidad. Los excipientes también pueden ser útiles en la fabricación y distribución, por ejemplo, para ayudar en la manipulación del ingrediente activo y/o para ayudar en la estabilidad *in vitro* (por ejemplo, evitando la desnaturalización o agregación). Como entenderán los expertos en la técnica, la selección del excipiente apropiado puede depender de diversos factores, incluyendo la vía de administración, la forma de dosificación y el(los) ingrediente(s) activo.

20 Las composiciones pueden incluir una cantidad eficaz del compuesto o composición según la invención. Como se usa en el presente documento, una cantidad eficaz puede ser una concentración o cantidad que produzca el logro de un propósito determinado establecido, o más cantidad significa una cantidad adecuada para provocar un cambio, por ejemplo en comparación con un placebo. Cuando la cantidad eficaz es una cantidad terapéuticamente eficaz, puede ser una cantidad adecuada para uso terapéutico, por ejemplo una cantidad suficiente para prevenir, diagnosticar, aliviar, tratar o curar una enfermedad. Una cantidad eficaz puede determinarse mediante métodos conocidos en la técnica. Una cantidad eficaz puede determinarse empíricamente, por ejemplo mediante ensayos clínicos en humanos. También se pueden extrapolar cantidades efectivas de un animal (por ejemplo, ratón, rata, mono, cerdo, perro) para usarla en otro animal (por ejemplo, humano), usando factores de conversión conocidos en la técnica. Véase, por ejemplo, Freireich *et al.*, *Cancer Chemother, Reports* 50(4):219-244 (1966).

25 En diversas realizaciones, la composición se formula para administración tópica en la piel (por ejemplo, en la cara, cuero cabelludo, cuello, escote, pecho, brazos, manos, piernas y similares).

35 En diversas realizaciones, la composición se formula para administración tópica a una membrana mucosa. En una realización, la composición se formula para administración vaginal. En una realización, la composición se formula para administración nasal. En una realización, la composición se formula para administración rectal. En una realización, la composición se formula para administración ocular.

40 En diversas realizaciones, la composición actúa localmente y/o evita sustancialmente la administración sistémica del compuesto según la invención (por ejemplo, una o varias cualesquiera de las Estructuras 1-4, 6-15 y 17).

45 Las formulaciones tópicas son conocidas en la técnica y los expertos en la técnica pueden aplicarlas generalmente a la presente invención. Véanse, por ejemplo, Cross S. E., Anderson C. & Roberts M. S. Topical penetration of commercial salicylic acid esters and salts using human isolated skin and clinical microdialysis studies. *Br J Clin Pharmacol* 46, 29-35 (1998); Neubert R. H. H. *et al.* Controlled Penetration of a Novel Dimeric Ceramide into and across the Stratum Corneum Using Microemulsions and Various Types of Semisolid Formulations. *Skin Pharmacol Physiol* 29, 130-134 (2016); Siddique M. I. *et al.* In-vivo dermal pharmacokinetics, efficacy, and safety of skin targeting nanoparticles for corticosteroid treatment of atopic dermatitis. *Int J Pharmaceut* 507, 72-82 (2016); y Wosicka H. & Cal K. Targeting to the hair follicles: Current status and potential. *J Dermatolog Sci* 57, 83-89 (2010).

50 De manera similar, las formulaciones farmacéuticas y cosmecéuticas son conocidas en la técnica y los expertos en la técnica pueden aplicarlas generalmente a la presente invención. Véanse, por ejemplo, Damle M. & Mallya R. Development and Evaluation of a Novel Delivery System Containing Phytophospholipid Complex for Skin Aging. *AAPS Pharm Sci Tech* 17, 607-617 (2016); y Draelos Z. D., Raab S., Yatskayer M., Chen N., Krol Y. & Oresajo C. A Method for Maintaining the Clinical Results of 4% Hydroquinone and 0.025% Tretinoin With a Cosmeceutical Formulation. *J Drugs Dermatol* 14, 386-390 (2015).

55 Además, en la técnica se conocen muchos enfoques adicionales de formulación tópica para dirigirse a tejidos

específicos y pueden aplicarse fácilmente a los compuestos de la invención. Véanse, por ejemplo, Mosselman S., Polman J. & Dijkema R. ER β : identification and characterization of a novel human estrogen receptor. *FEBS Letters* 392, 49-53 (1996); Green S. *et al.* Human oestrogen receptor cDNA: sequence, expression and homology to v-erb-A. *Nature* 320, 134-139 (1986); Greene G. L. *et al.* Sequence and Expression of Human Estrogen Receptor Complementary DNA. *Science* 231, 1150-1154 (1986); Pelletier G. & Ren L. Localization of sex steroid receptors in human skin. *Histol Histopathol* 19, 629-636 (2004). Kuiper G. G. J. M. *et al.* Comparison of the Ligand Binding Specificity and Transcript Tissue Distribution of Estrogen Receptors α and β . *Endocrinology* 138, (1997); Thornton M. J. *et al.* The Distribution of Estrogen Receptor β Is Distinct to That of Estrogen Receptor α and the Androgen Receptor in Human Skin and the Pilosebaceous Unit. *J Inves Dermatol Symp Proc* 8, 100-103 (2003).; Pelletier J. D. & Poirier D. Synthesis and Evaluation of Estradiol Derivatives With 16 α -(Bromoalkylamide), 16 α -(Bromoalkyl) or 16 α -(Bromoalkyl) Side Chain as Inhibitors of 17 β -Hydroxysteroid Dehydrogenase Type 1 without Estrogenic Activity. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 4, 1617-1628 (1996); Reiner G. C. A., Katzenellenbogen B. S., Bindal R. D. & Katzenellenbogen J. A. Biological Activity and Receptor Binding of a Strongly Interacting Estrogen in Human Breast Cancer Cells. *Cancer Res* 44, 2302-2308 (1984); Chang K. C. N., *et al.*, Estrogen Receptor β is a Novel Therapeutic Target for Photoaging. *Mol Pharmacol* 77, 744-750 (2010); Thornton M. J. *et al.* Oestrogen receptor beta is the predominant oestrogen receptor in human scalp skin. *Exp Dermatol* 12, 181-190 (2003); Thornton M. J. Estrogens and aging skin. *Dermato-Endocrinology* 5, 264-270 (2013); Bender D., Buekers T. & Leslie K. K. Hormones and Receptors in Endometrial Cancer. *Proceedings in Obstetrics and Gynecology* 2, 1-25 (2011); Allan G. M. *et al.* Modifications of Estrone at the 6, 16 and 17 positions: Novel Potent Inhibitors of 17 β -Hydroxysteroid Dehydrogenase Type 1. *J Med Chem* 49, 1325-1345 (2006); y Ohnemus U., Uenalalan M., Inzunza J., Gustafsson JA. & Paus R. The Hair Folicle as an Estrogen Target and Source. *Endocrine Reviews* 27, 677-706 (2006).

Tratamiento y administración

En diversos aspectos y realizaciones, la invención también proporciona los compuestos de la invención para su uso en un método que comprende administrar a un sujeto que lo necesita una cantidad eficaz de un compuesto según la invención (por ejemplo, una o varias cualesquiera de las Estructuras 1-4, 6-15 y 17) o una composición según la invención.

En diversas realizaciones, el sujeto es un mamífero. Por ejemplo, el sujeto puede ser un humano. El sujeto puede ser un primate no humano. En diversas realizaciones, el sujeto es un animal con receptores de estrógeno, preferiblemente RE β . El sujeto puede ser una hembra (o, en algunos casos, un macho). Por ejemplo, en diversas realizaciones, el sujeto es una mujer.

En diversas realizaciones, el sujeto tiene una deficiencia de estrógeno (por ejemplo, una terapia de reemplazo) o un desequilibrio (por ejemplo, en el caso de andrógenos sin oposición). La deficiencia o desequilibrio puede estar relacionado con el envejecimiento, por ejemplo, en una mujer menopáusica o posmenopáusica. Sin embargo, la deficiencia o desequilibrio puede ocurrir en una mujer pre- o perimenopáusica.

En diversas realizaciones, las composiciones y/o formulaciones pueden ser para uso con receta. Por ejemplo, las composiciones y/o formulaciones pueden ser recetadas por un médico para una afección clínicamente reconocida asociada con una deficiencia o desequilibrio de estrógeno.

En diversas realizaciones, las composiciones y formulaciones pueden ser para uso sin receta. Por ejemplo, las composiciones y/o formulaciones pueden estar disponibles sin receta (o recetadas por un médico tal como un dermatólogo) para uso discrecional o cosmético.

En diversas realizaciones, el compuesto actúa sustancialmente sin efectos sistémicos (por ejemplo, actúa en y/o proximalmente al sitio de administración, pero no entra sustancialmente en la circulación ni afecta al tejido distalmente al sitio de administración). En diversas realizaciones, el compuesto actúa sustancialmente sin efectos fuera del objetivo (por ejemplo, afecta al tejido diana, pero no a otros tejidos). Por ejemplo, el compuesto puede actuar sobre la piel en el sitio de administración, pero no sobre la piel u otros órganos en otros lugares.

La invención también presenta una composición según cualquiera de los aspectos y realizaciones anteriores, para usarla como medicamento. En diversas realizaciones, el medicamento puede ser para administración tópica y puede evitar sustancialmente la administración sistémica del compuesto.

En diversas realizaciones, la composición o compuesto se puede usar para tratar afecciones relacionadas con el crecimiento del cabello. En una realización, la composición o compuesto se puede usar para promover el crecimiento del cabello. En otra realización, la composición o compuesto puede inhibir el crecimiento del vello facial, por ejemplo, en mujeres posmenopáusicas.

Los métodos generales para el tratamiento y la administración son conocidos en la técnica y los expertos en la técnica pueden aplicarlos generalmente a la presente invención. Véanse, por ejemplo, las referencias citadas en el *Formulaciones tópicas* sección anterior.

EJEMPLOS

Ejemplo 1: Comparación de la Estructura 15 del agonista 16β y su análogo Estructura 15' del 16α en un ensayo funcional para REβ y REα

Las estructuras 15 y 15' se probaron en un ensayo funcional para REβ y REα como se describe en Liu J. *et al.* A Homogeneous *in Vitro* Functional Assay for Estrogen Receptors: Coactivator Recruitment. *Mol Endocrinology* 17, 346-355 (2003). En resumen, se utilizó un ensayo funcional *in vitro* para medir la función de transactivación dependiente de ligando de REα y REβ para medir la selectividad de las estructuras 15 y 15' como agonistas para las dos clases de receptores. Brevemente, se evaluó la unión del agonista de las Estructuras 15 y 15' midiendo la transferencia de energía por resonancia de fluorescencia (FRET) entre el europio que está asociado con los dominios de unión del ligando de REα y REβ, y la alofococianina que está asociada con el péptido coactivador que se recluta en el LBD en respuesta a la unión del agonista. La figura 1A muestra los resultados de un ensayo de estrógeno funcional para la Estructura 15 del agonista de 16β. La figura 1B muestra los resultados de un ensayo de estrógeno funcional para la Estructura 15' del agonista 16α.

Como se muestra en la figura 1A, la Estructura 15 de 16β tiene una fuerte actividad de REβ, pero una actividad de REα relativamente menor. Por el contrario, como se muestra en la figura 1B, la Estructura 15' de 16α tiene una actividad de REβ similar, pero también una actividad de REα relativamente mayor en comparación con Estructura 15 de 16β. Por lo tanto, la Estructura 15 actúa como un aglutinante selectivo de REβ y tiene una selectividad notablemente mayor que la Estructura 15' análoga de 16α. Por lo tanto, la unión al receptor puede predecir la actividad funcional de los compuestos ensayados. Para el Compuesto 15, la CE50 es ~10 μM para REβ y >100 μM para REα. Por lo tanto, el Compuesto 15 tiene una selectividad >10 veces mayor para el REβ. Para el Compuesto 15' se estimó una selectividad ~2 veces mayor para REβ.

Ejemplo 2: Comparación del ensayo de unión de la Estructura 3 del agonista 16β y la Estructura 3' análoga 16α en el ensayo de unión de a REβ y REα

Las estructuras 3 y 3' se probaron en un ensayo de unión para REβ y REα como se describe en Obourn J. D., Koszewski N. J. & Notides A. C. Hormone- and DNA-Binding Mechanisms of the Recombinant Human Estrogen Receptor. *Biochemistry* 32, 6229-6236(1993). Brevemente, la unión del agonista de la Estructura 3 y la Estructura 3' a REα y REβ se evaluaron mediante análisis de Scatchard midiendo la inhibición de unión del [³H]-estradiol a hRE mediante las Estructuras 3 y 3'. LA figura 2A muestra los resultados de un ensayo de unión para la Estructura 3 del agonista de 16β. La figura 2B muestra los resultados de un ensayo de unión para la Estructura 3' del agonista 16α. La Estructura 3 de 16β se une a REβ y REα con afinidad similar (CI50 de 0,10 μM y 0,078 μM, respectivamente). Por el contrario, la estructura 3' de 16α se une a REβ y REα con una afinidad que difiere en varios órdenes de magnitud (CI50 de 0,14 μM y 1,46 nM, respectivamente).

La Estructura 3 de 16β se une a REβ y REα con afinidad similar (CI50 de 0,10 μM y 0,078 μM, respectivamente). Por el contrario, la estructura 3' de 16α se une a REβ y REα con una afinidad que difiere en varios órdenes de magnitud (CI50 de 0,14 μM y 1,46 nM, respectivamente). Por lo tanto, la Estructura 3 actúa como un aglutinante selectivo de REβ y tiene propiedades de unión a REβ marcadamente diferentes a las de su análogo Estructura 3' de 16α. Estos resultados indican que tanto la afinidad de unión a RE como la selectividad de unión a RE son sensibles a la estereoquímica en el C6 del estradiol.

Ejemplo 3: Comparación del ensayo de función de la Estructura 3 del agonista 16β y su análogo 16α (Estructura 3') en un ensayo funcional para REβ y REα

Las estructuras 3 y 3' se probaron en un ensayo funcional para REβ y REα como se describe en Hilal T., Puetter V., Otto C. Parczyk K. & Bader B. A Dual Estrogen Receptor TR-FRET Assay for Simultaneous Measurement of Steroid Site Binding and Coactivator Recruitment. *J Biomolec Screening* 15, 268-278 (2010). Brevemente, la unión del agonista de las estructuras 3 y 3' a REα y REβ se evaluó mediante un ensayo de receptor dual de estrógeno TR-FRET. La figura 3A muestra los resultados de un ensayo de estrógeno funcional para la Estructura 3 del agonista 16β. La figura 3B muestra los resultados de un ensayo de estrógeno funcional para la Estructura 3' del agonista 16α.

La Estructura 3 de 16β tiene actividad funcional REβ y REα similar (CE50 de 3,0 μM y 1,08 μM, respectivamente). Por el contrario, la estructura 3' de 16α tiene una actividad REα elevada con una actividad REβ mínima (EC50 de 5,92 nM y > 10 μM, respectivamente). Por lo tanto, la Estructura 3 actúa como un aglutinante RE no selectivo con propiedades de unión marcadamente diferentes a las de la Estructura 3' análoga de 16α. El uso tóxico de un agonista del RE no selectivo puede imitar los efectos no selectivos de los estrógenos endógenos.

Ejemplo 4: Síntesis de la Estructura 3 de agonista 16β

Como se muestra en la figura 4, se realizó un procedimiento de 4 etapas a escala de 10 g para producir la Estructura 3 y la Estructura 3'. Primero, se hizo reaccionar 3-O-bencil-estrone con carbonato de dimetilo en presencia de NaH y en THF para dar el intermedio 1 con un rendimiento de 86% después de la cristalización. En segundo lugar, el intermedio 1 se redujo con NaBH₄ para dar mezclas diastereoméricas de 2 y 3 (proporción 2/1), que se convierten en los intermedios 4 y 5 tras saponificación. En tercer lugar, después del tratamiento con AcCl/MeOH seguido por hidrogenación, se obtuvo la mezcla de la Estructura 3 y la Estructura 3'. La mezcla se separó mediante cromatografía

ultrarrápida en columna.

Etapa 1 (intermedio 1 en la figura 4):

A una suspensión de NaH (16,7 g, 0,348 mol) en THF (200 ml), se añadió carbonato de dimetilo (26,1 g, 0,290 mol, 2,5 eq). La mezcla se calentó a reflujo en atmósfera de N₂. Se añadió una solución de 3-O-bencilestrona (41,8 g, 0,116 mol) en THF (200 ml) durante 1 h. Después de 4 h de reflujo, la mezcla de reacción resultante se enfrió a 0°C, se acidificó con AcOH 3M (200 ml), se vertió en salmuera al 25% (1 l) y se extrajo con DCM (600 ml). La fase orgánica se secó sobre Na₂SO₄ (50 g) y se concentró a vacío para dar 64 g de sólido húmedo bruto, que se cristalizó en MeOH (400 ml) y se secó a vacío a 45°C para dar un sólido beige, intermedio 1, 41,7 g 99,5% A por LCMS (AP2277-10 -1-3-LCMS, 13,9 min), 86% de rendimiento.

Etapa 2 (mezcla de intermedios 2 y 3 en la figura 4):

A una suspensión del intermedio 1 (10 g, 23,88 mmol) en una mezcla de THF/MeOH (180 ml/20 ml) a 0°C, NaBH₄ (723 mg, 19,1 mmol, 0,8 eq) en porciones durante 20 min. Después de 1 h a 0°C, la mezcla de reacción se acidificó a pH = 1-2 con HCl 2N (15 ml), se diluyó con H₂O (50 ml) y se extrajo con EtOAc (200 ml). La fase orgánica se lavó con salmuera (200 ml) y se concentró para dar un sólido marrón, 11,5 g sobrepeso), que se usó en la siguiente etapa de saponificación sin ningún tratamiento adicional.

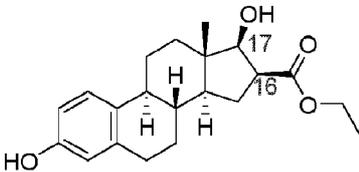
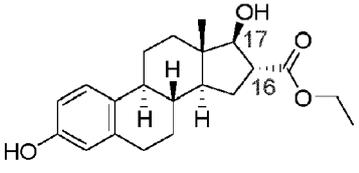
Etapa 3 (mezcla de intermedios 4 y 5 en la figura 4):

A una solución de la mezcla cruda de los intermedios 2 y 3 (11,5 g, 27,3 mmol) en THF/MeOH (60 ml/60 ml), se le añadió ac NaOH ac. (5,5 g, 136,7 mmol en 23 ml de H₂O). Después de 2 h a 25-30°C (el análisis por LCMS indicó que el ácido 16 α era 71,5% A y el ácido 16 β era 18,6% A), la mezcla de reacción se enfrió a 0-10°C, se acidificó a pH 1-2 con HCl 6M (40 ml), se extrajo con EtOAc (150 ml x2). Las extracciones orgánicas combinadas se lavaron con H₂O (200 ml) y salmuera al 25% (200 ml), y se concentró para dar un sólido bruto, 12,5 g (exceso de peso), que se usó en la siguiente etapa sin ningún tratamiento adicional.

Etapa 4 (Esterificación y desprotección en la figura 4):

A una solución de la mezcla bruta de los intermedios 4 y 5 (12,5 g, 30,7 mmol) en EtOH (250 ml) a temperatura ambiente, se añadió AcCl (3,6 g, 46,1 mmol, 1,5 eq). La solución se calentó a reflujo durante 20 h y luego se enfrió a temperatura ambiente. Se añadió Pd al 5%/C (57,8 g). La suspensión se agitó a 1 atm de H₂ a temperatura ambiente (25-30°C) durante 24 h. El sólido se separó por filtración y el filtrado se neutralizó con NaHCO₃ saturado (5 ml), se diluyó con H₂O (45 ml) y se extrajo con DCM (200 ml X2). Las extracciones orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (200 ml) y se concentraron para dar 11 g de un sólido pardo viscoso, que se purificó mediante cromatografía ultrarrápida para dar un sólido blanquecino, Estructura 3', 2,9 g, 99,5% puro mediante HPLC, rendimiento de 35%; y un sólido blanco, 1,5 g, mezcla de isómero 16 α (8,4%) y 16 β (86,7%), que se purificó nuevamente mediante cromatografía ultrarrápida para dar un sólido blanco, 200 mg, Estructura 3, 99,7% puro mediante HPLC.

Tabla 1. Caracterización de productos de reacción.

Producto	Estructura	Pureza	17-CH (δ ppm, J)	Datos de ¹ H-RMN
Isómero 16 β (Estructura 3)		99,7% Figura 5	3,83 (dd, J = 10,49, 5,25 Hz, 1H)	Figura 6
Isómero 16 α (Estructura 3')		99,5% Figura 7	3,70 (dd, J = 7,58, 5,75 Hz, 1H)	Figura 8

La Figura 5 muestra una HPLC de la Estructura 3 pura al 99,7%. La figura 6 muestra una RMN de la Estructura 3. La Figura 7 muestra una HPLC de la Estructura 3' pura al 99,5%. La Figura 8 muestra una RMN de la Estructura 3'.

Ejemplo 5: Formulación de una crema tópica que comprende el agonista 16β de Estructura 1

La composición se formula en forma de crema tópica usando cualquiera o todos los siguientes ingredientes: agua; aceite; emulsionante; agente espesante; otros aditivos como conservantes y perfumes; una o varias cualesquiera de las Estructuras 1-4, 6-15 y 17 de 16β.

- 5 La formulación de crema tópica puede estar bien en forma de un aceite en agua o bien de emulsiones de agua en aceite. Una cantidad eficaz de una o varias cualesquiera de las Estructuras 1-4, 6-15 y 17 de 16β se disuelve o dispersa en una base de crema.

La formulación de crema tópica resultante se aplica tópicamente a un área de la piel o membrana mucosa de un sujeto.

Ejemplo 6: Formulación de un ungüento tópico que comprende el agonista 16β de Estructura 1

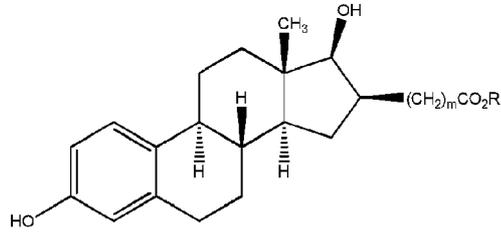
- 10 La composición se formula en forma de ungüento tópico usando cualquiera o todos los siguientes ingredientes: bases de hidrocarburos (por ejemplo, parafina dura, parafina blanda, cera microcristalina y ceresina); bases de absorción tales como grasa de lana y/o cera de abejas; bases solubles en agua tales como macrogoles 200, 300 y/o 400; bases emulsionantes (por ejemplo, cera emulsionante y/o cetrimida; aceites vegetales tales como aceite de oliva, aceite de coco, aceite de almendras y/o aceite de cacahuete); una o varias cualesquiera de las Estructuras 1-4, 6-15 y 17 de 16β.
- 15

El ungüento tópico se puede aplicar tópicamente a un área de la piel o membrana mucosa de un sujeto.

Una cantidad eficaz de una o varias cualesquiera de las Estructuras 1-4, 6-15 y 17 de 16β se disuelve o dispersa en la base de ungüento.

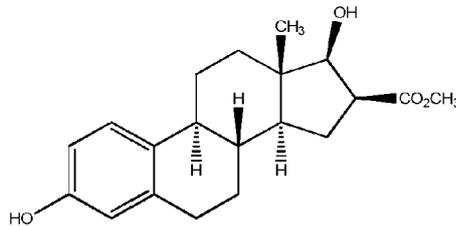
REIVINDICACIONES

1. Un compuesto según la Estructura 1:

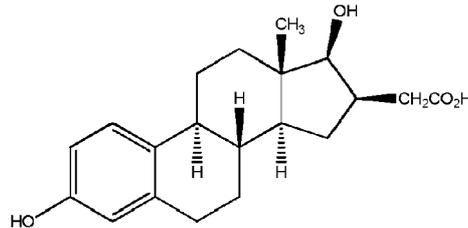


(Estructura 1)

5 en la que m es 0, 1 ó 2 y R es H, un grupo alquilo de C₁ a C₅, vinilo, CF₃, CH₂CH₂F, CH₂CHF₂, o CH₂CF₃, donde los siguientes compuestos están excluidos del alcance de la Estructura 1:



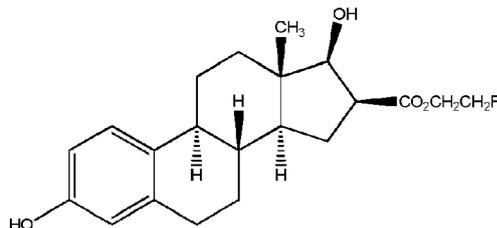
(Estructura 5)



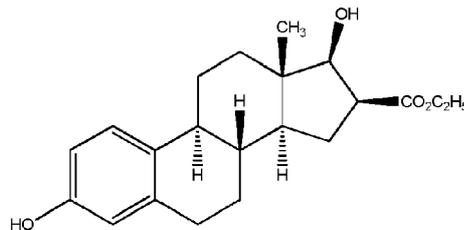
(Estructura 16)

2. El compuesto según la reivindicación 1, en el que m es 0 y R es metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, isobutilo, pentilo, neopentilo, vinilo, CF₃, CH₂CH₂F, CH₂CHF₂, o CH₂CF₃.

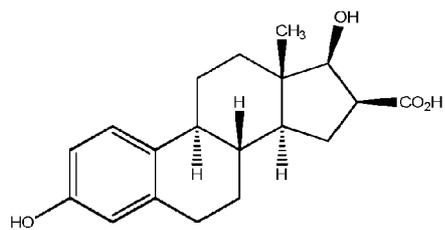
10 3. El compuesto según la reivindicación 1, seleccionado entre el grupo que consiste en:



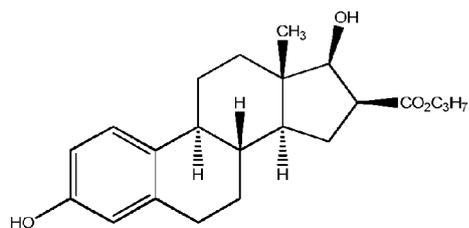
(Estructura 2)



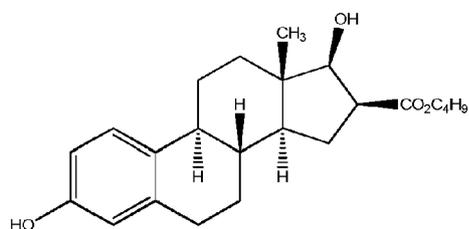
(Estructura 3)



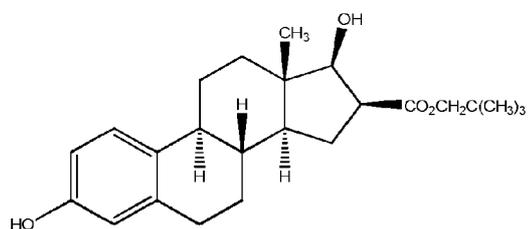
(Estructura 4)



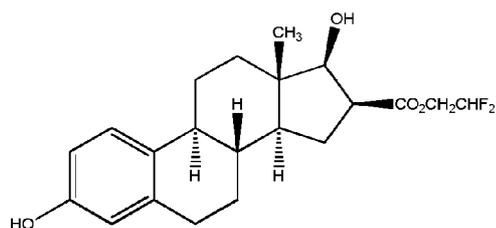
(Estructura 6)



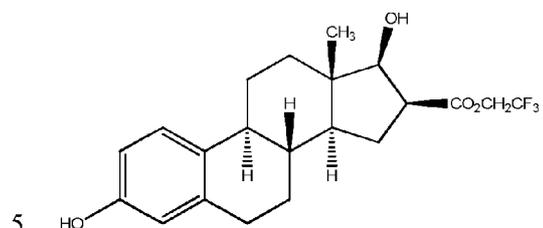
(Estructura 7)



(Estructura 8)



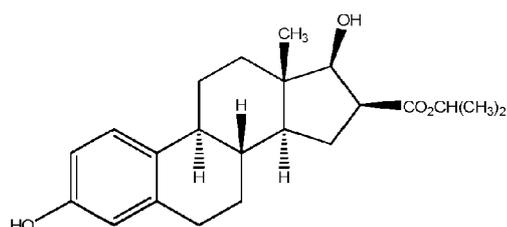
(Estructura 9)



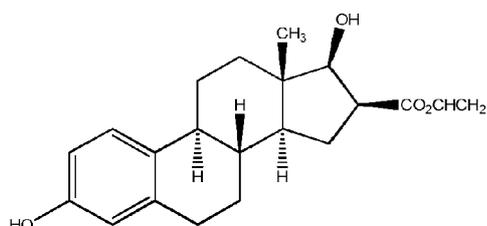
(Estructura 10)

5

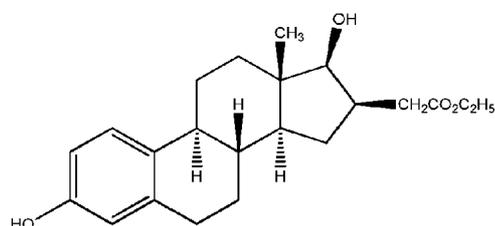
5



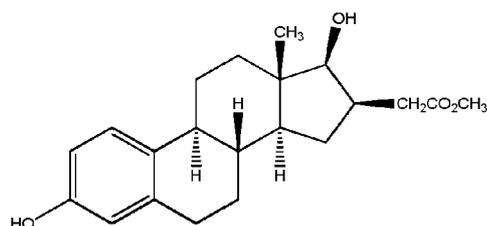
(Estructura 11)



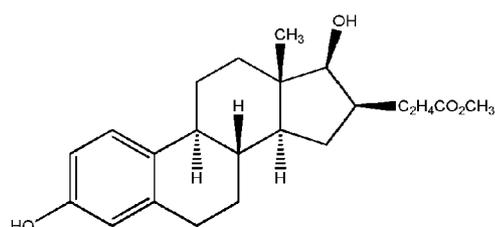
(Estructura 12)



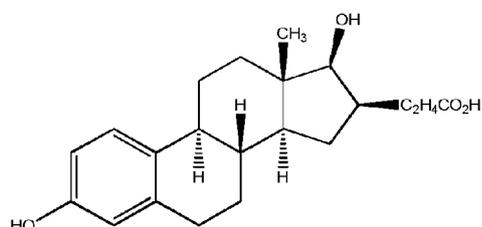
(Estructura 13)



(Estructura 14)



(Estructura 15)



(Estructura 17)

- 5
4. El compuesto según la reivindicación 1, en donde el compuesto no es a) Estructura 4 ó 17 (en la que R = H) o b) Estructura 13, en donde estos compuestos son como se definen en la reivindicación 3.
5. El compuesto según la reivindicación 1, en donde el compuesto es un éster de ácido 16β-estradiolcarboxílico.
- 10 6. Una composición que comprende un compuesto sustancialmente puro enantioméricamente según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5.
7. Una composición que comprende un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, que está

sustancialmente libre de otros compuestos estrogénicos.

8. Una composición que comprende una cantidad eficaz de un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 y un vehículo, diluyente o excipiente fisiológicamente aceptable, formulado para administración tópica.

5 9. La composición según la reivindicación 8, en donde la composición está formulada para administración tópica en la piel.

10. La composición según la reivindicación 8, en donde la composición está formulada para administración tópica a una membrana mucosa.

11. La composición según la reivindicación 8, que comprende un compuesto sustancialmente puro enantioméricamente según una cualquiera de las reivindicaciones 1-5.

10 12. La composición según la reivindicación 8, en donde la composición está sustancialmente libre de otros compuestos estrogénicos.

13. La composición según cualquiera de las reivindicaciones 6 a 12, en donde la composición es un cosmético o cosmeceútico.

15 14. El compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 o la composición según cualquiera de las reivindicaciones 6 a 13 para uso como medicamento.

15. El compuesto o composición según la reivindicación 14, en donde el medicamento es para uso en el tratamiento de un sujeto que tiene una enfermedad o afección asociada con una deficiencia o desequilibrio de estrógeno.

16. El compuesto o composición según la reivindicación 15, en donde la deficiencia o desequilibrio de estrógenos se debe a andrógenos sin oposición.

20 17. El compuesto o composición según la reivindicación 15, en donde la enfermedad o afección se relaciona con el crecimiento del cabello.

18. El compuesto o composición según la reivindicación 17, en donde el sujeto es una mujer.

19. El compuesto o composición según la reivindicación 18, en donde la mujer es posmenopáusica.

20. El compuesto o composición según la reivindicación 18, en donde la mujer es premenopáusica o perimenopáusica.

25

FIG. 1B

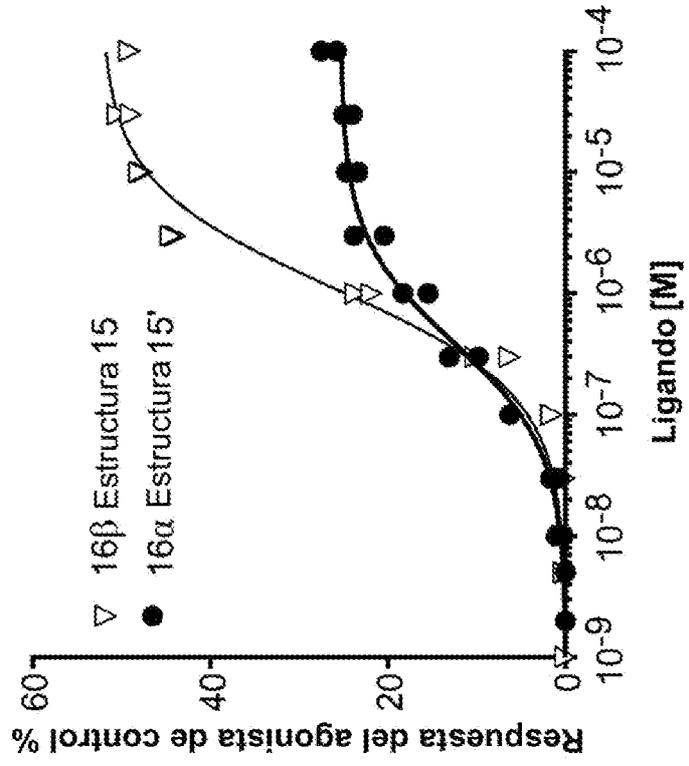


FIG. 1A

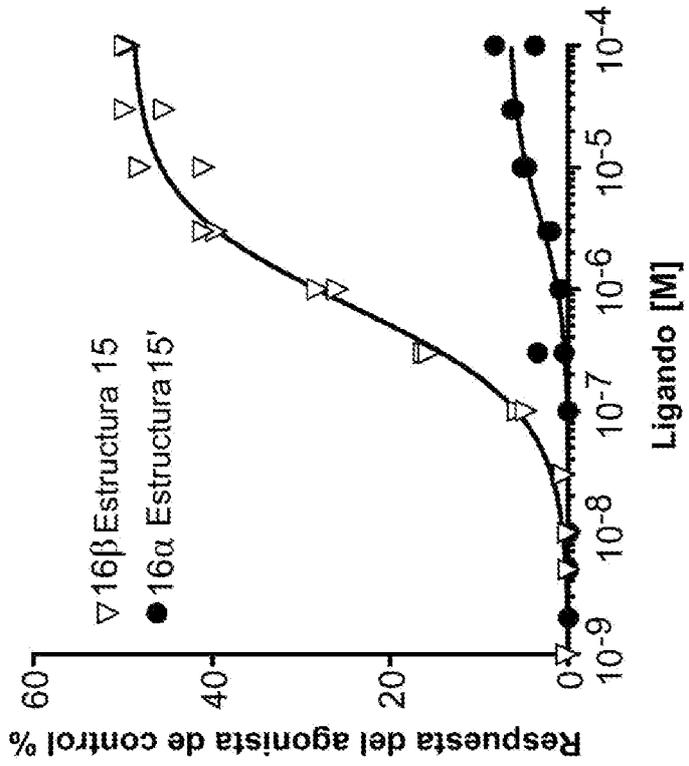


FIG. 2A

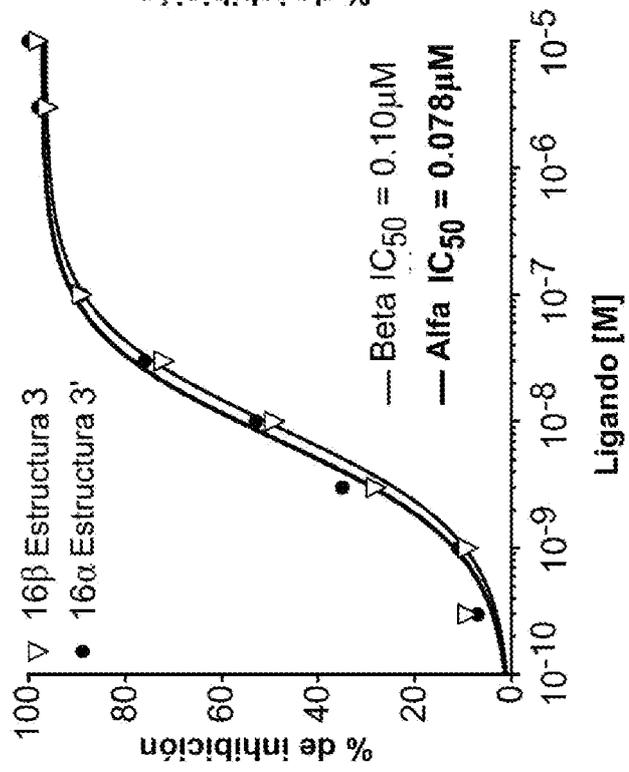


FIG. 2B

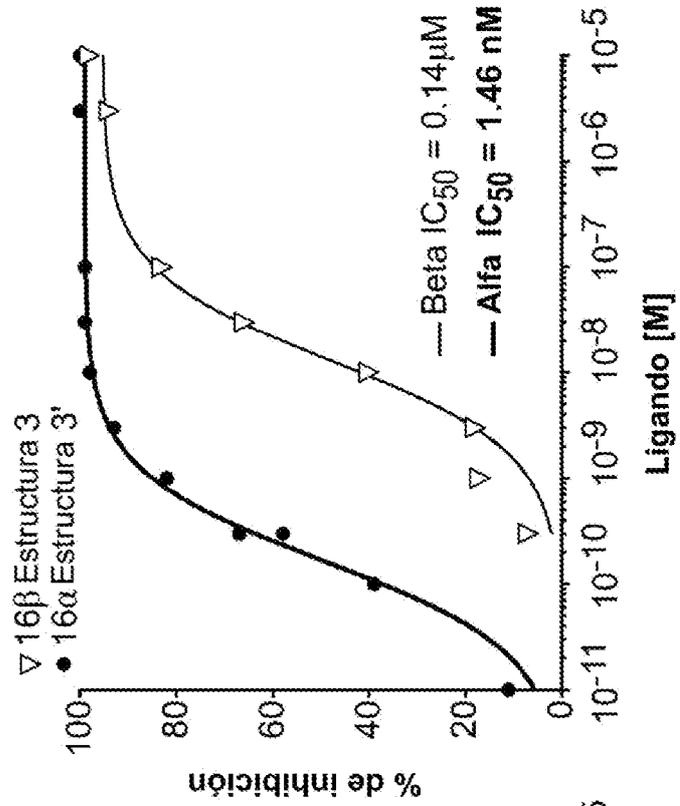


FIG. 3B

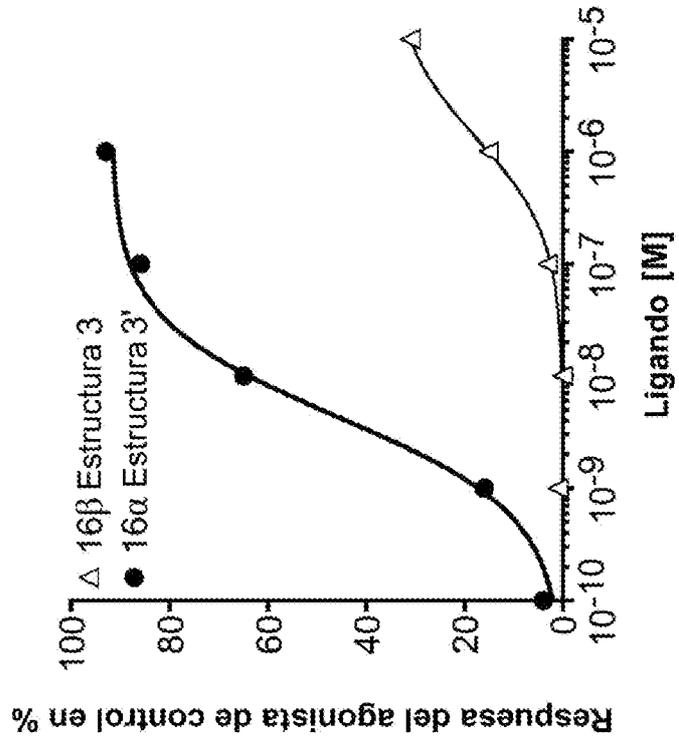


FIG. 3A

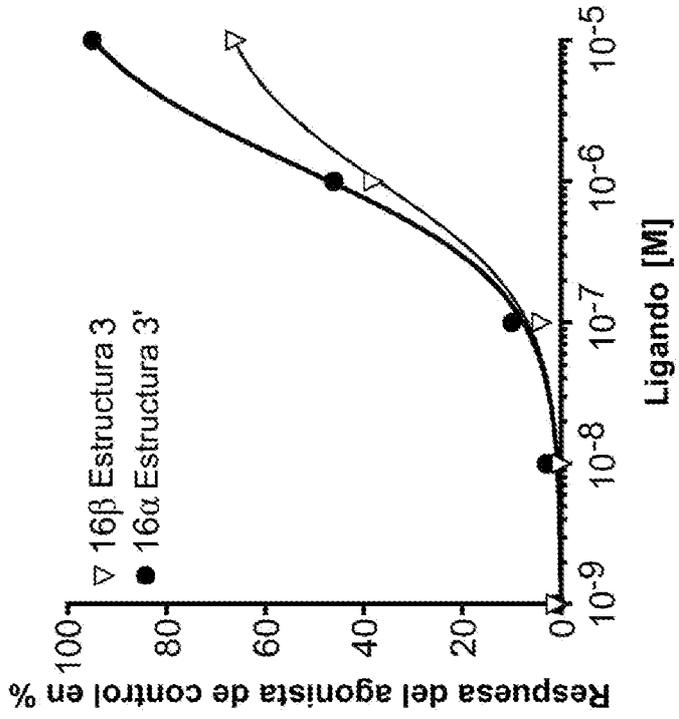
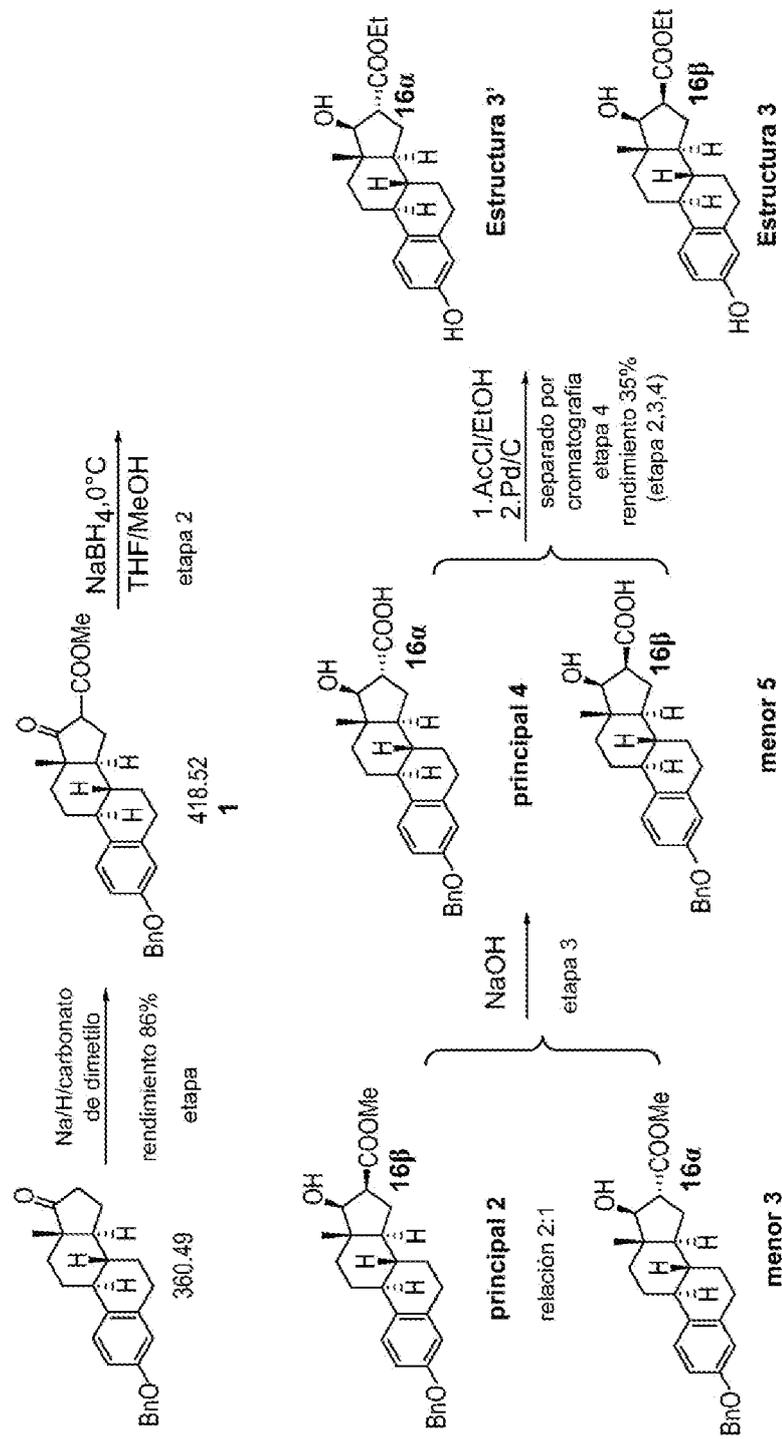
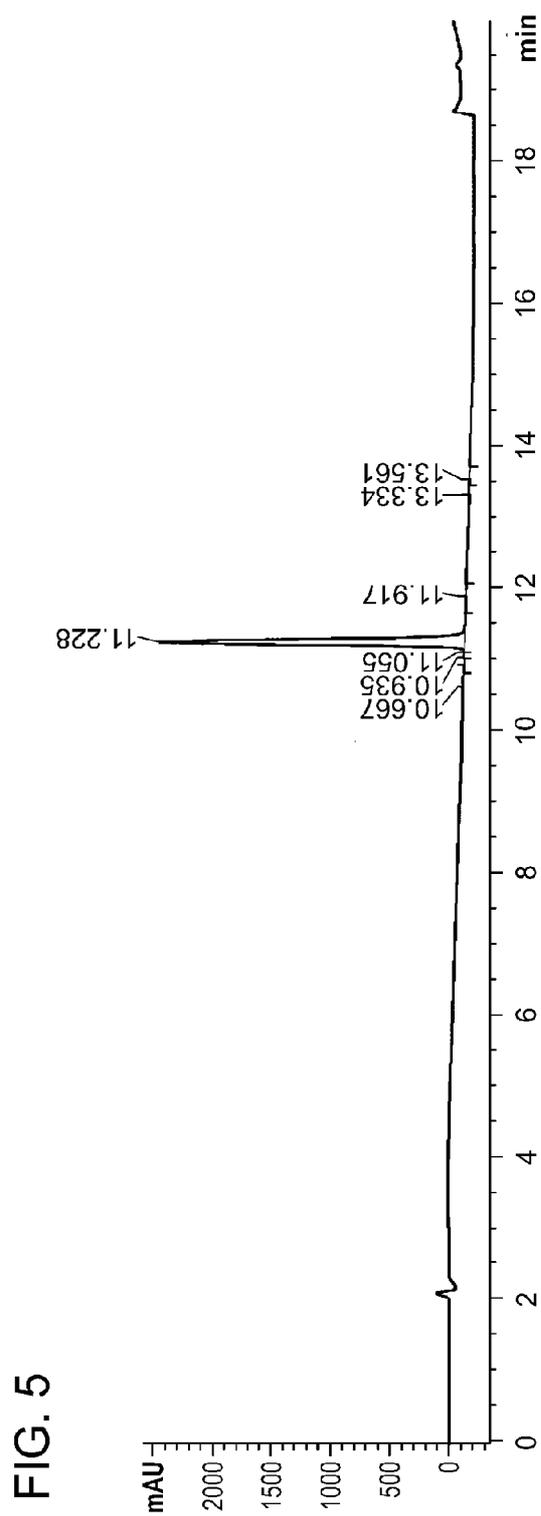


FIG. 4





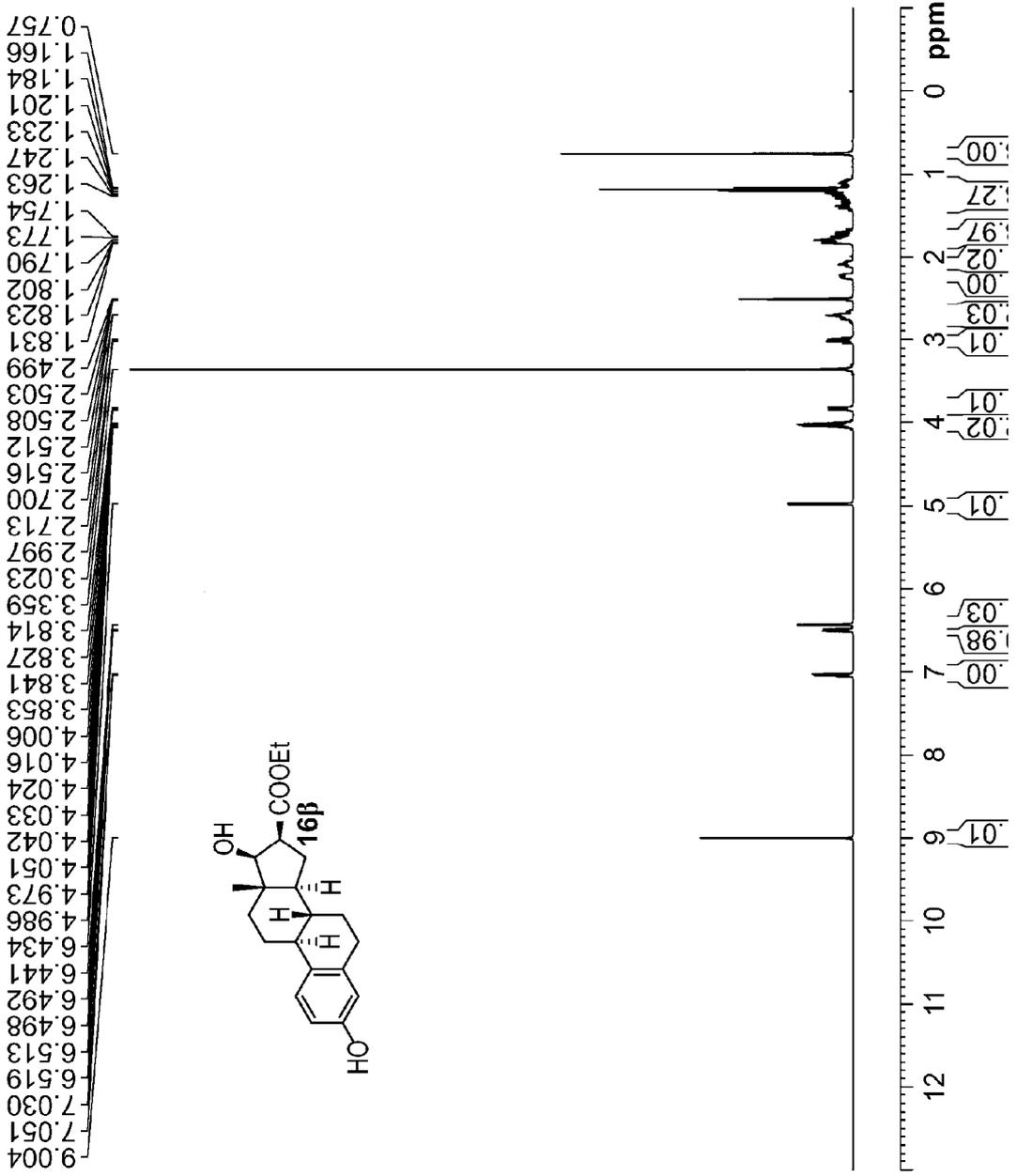
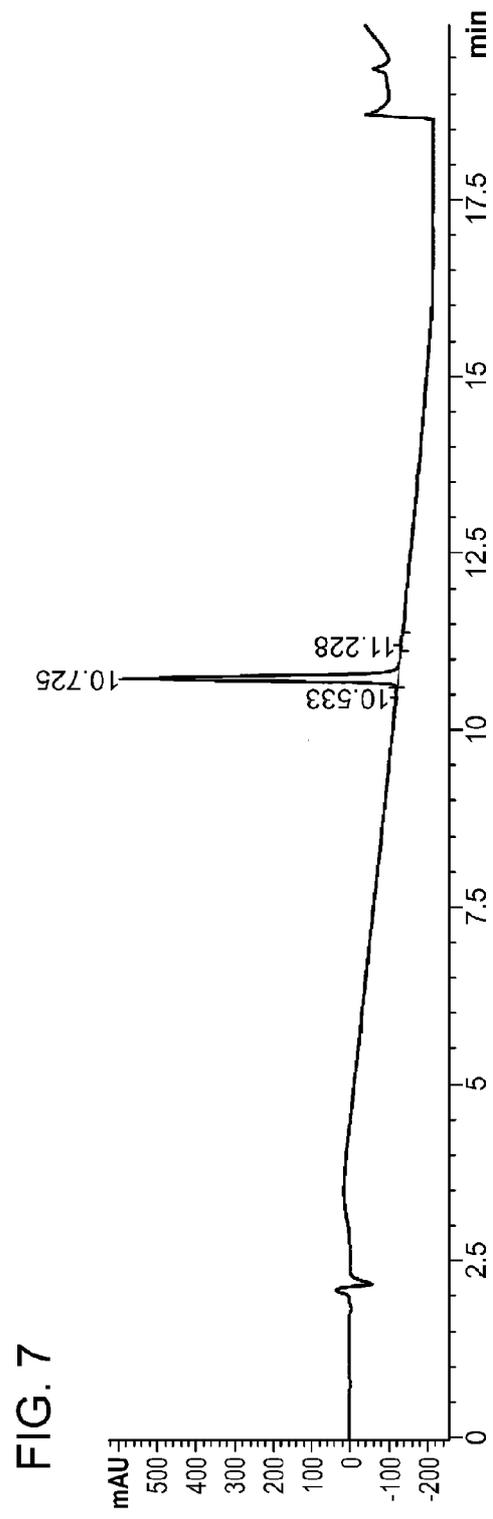


FIG. 6



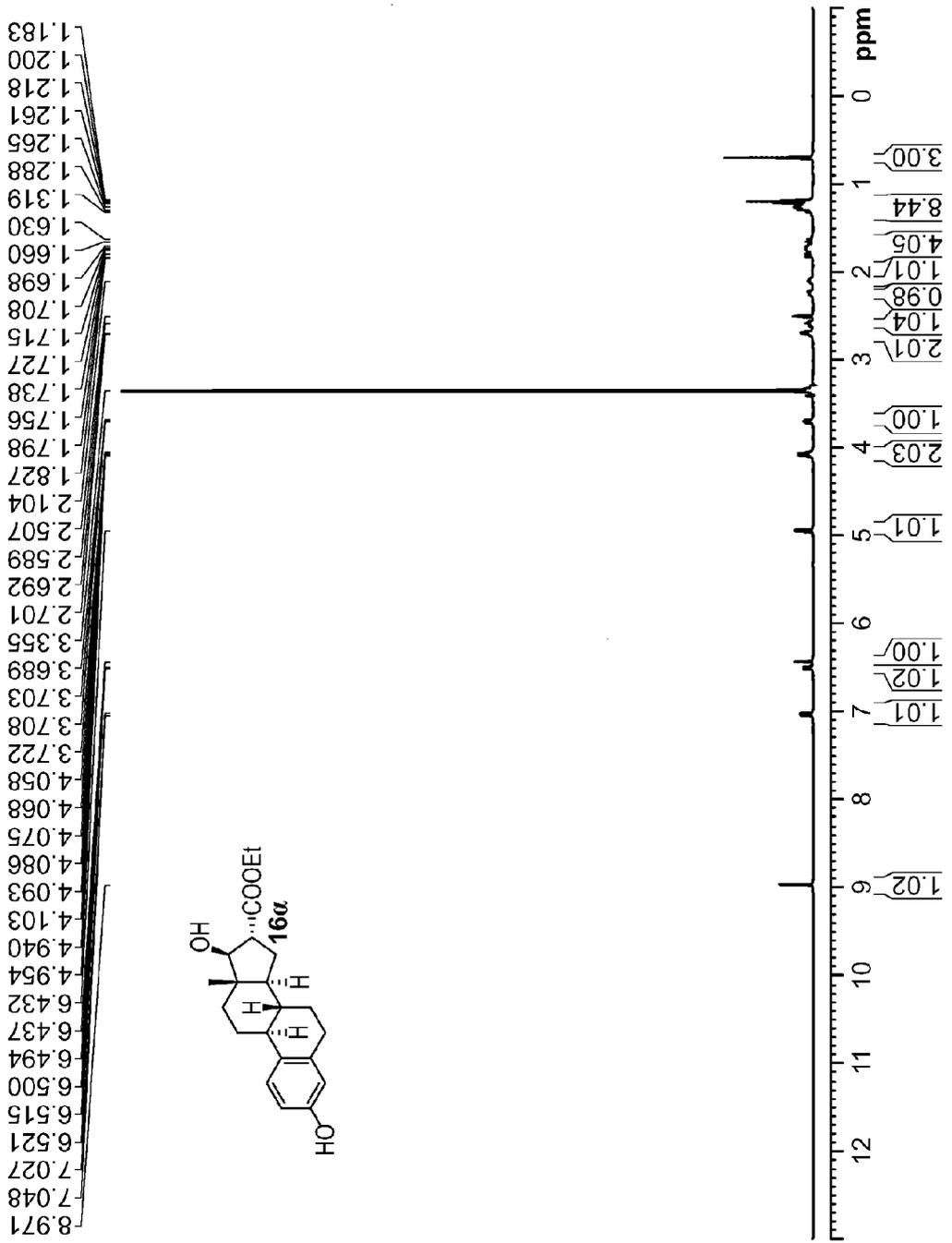


FIG. 8