

(11) Número de Publicação: **PT 2018169 E**

(51) Classificação Internacional:

A61K 31/568 (2009.01) **A61P 5/26** (2009.01)
A61P 35/00 (2009.01) **A61K 45/06** (2009.01)

(12) FASCÍCULO DE PATENTE DE INVENÇÃO

(22) Data de pedido: 2007.05.11	(73) Titular(es): MABEL GMBH HENKESTRASSE 91 91052 ERLANGEN DE
(30) Prioridade(s): 2006.05.12 EP 06009894 2006.05.12 US 747124 P	
(43) Data de publicação do pedido: 2009.01.28	(72) Inventor(es): ALEXANDER TOBIAS TEICHMANN DE
(45) Data e BPI da concessão: 2010.11.10 013/2011	(74) Mandatário: ALBERTO HERMÍNIO MANIQUE CANELAS RUA VICTOR CORDON, 14 1249-103 LISBOA PT

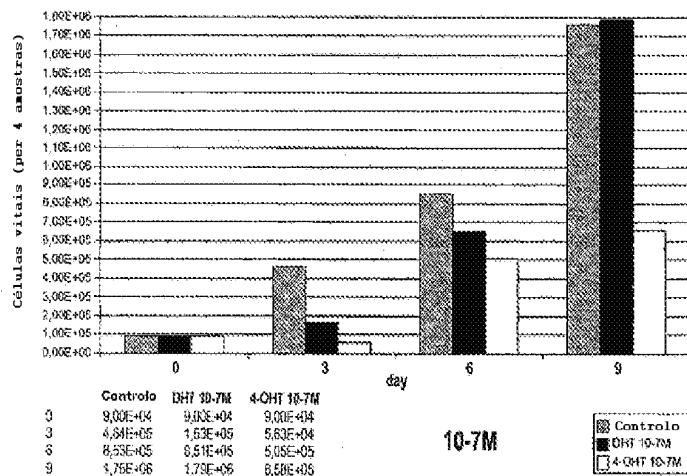
(54) Epígrafe: **UTILIZAÇÃO DE 4,17 BETA-DI-HIDROXIANDROST-4-ENO-3-ONA PARA O TRATAMENTO DE CANCROS**

(57) Resumo:

A PRESENTE INVENÇÃO RELACIONA-SE COM NOVAS UTILIZAÇÕES DE UM COMPOSTO ESTERÓIDE, QUE SE LIGA ESPECIFICAMENTE AO RECEPTOR DE ANDROGÉNIO (RA) MAS QUE NÃO É METABOLIZADO POR AROMATASE, COM UM PROCESSO PARA A SUA PREPARAÇÃO, COM COMPOSIÇÕES FARMACÊUTICAS QUE OS CONTÉM, E COM A UTILIZAÇÃO DOS REFERIDOS COMPOSTOS PARA A PROFILAXIA E/OU TRATAMENTO DE CANCROS REGULADOS PELO RECEPTOR HORMONAL OU DEPENDENTES DA HORMONA EM MAMÍFEROS.

RESUMO

**"UTILIZAÇÃO DE 4,17 BETA-DI-HIDROXIANDROST-4-ENO-3-ONA PARA
O TRATAMENTO DE CANCROS"**



A presente invenção relaciona-se com novas utilizações de um composto esteróide, que se liga especificamente ao receptor de androgénio (RA) mas que não é metabolizado por aromatase, com um processo para a sua preparação, com composições farmacêuticas que os contêm, e com a utilização dos referidos compostos para a profilaxia e/ou tratamento de cancros regulados pelo receptor hormonal ou dependentes da hormona em mamíferos.

DESCRIÇÃO**"UTILIZAÇÃO DE 4,17 *BETA*-DI-HIDROXIANDROST-4-ENO-3-ONA PARA
O TRATAMENTO DE CANCROS"**

A presente invenção relaciona-se com novas utilizações de 4,17 β -di-hidroxiandrost-4-eno-3-ona (daqui em diante 4-hidroxitestosterona) e os seus sais e ésteres, com composições farmacêuticas que os contêm, e com a utilização dos referidos compostos para a profilaxia e o tratamento de certas doenças em mamíferos definidas na reivindicação 1, em particular cancros.

Após o cancro colo-rectal o cancro da mama é a doença de cancro mais frequente no mundo ocidental, apesar do facto afectar quase exclusivamente as mulheres. Na Alemanha, o cancro da mama é de cerca de 20% de todos os tipos de cancro diagnosticados em mulheres. A terapia na maior parte dos casos consiste na remoção cirúrgica do tumor (tumorectomia) ou na remoção completa da mama afectada se o tamanho do tumor impedir a terapia de conservação da mama. Em ambos os casos, a operação é seguida de uma terapia com fármacos. Uma complicação particular dos carcinomas da mama é o elevado potencial de alastramento metastático para outros órgãos, particularmente fígado, cérebro, ossos e pele. Por conseguinte, a operação é seguida por terapia com fármacos (terapia adjuvante). Esta

terapia é também destinada a prevenir a recorrência local da doença.

Se os tumores removidos apresentarem receptores de estrogénio, são utilizados os anti-estrogénios (Tamoxifeno ou inibidores de aromatase. A falta de receptores de estrogénio conduz a uma terapia de fármacos pós-operatória utilizando fármacos citostáticos.

O Tamoxifeno liga-se ao receptor de estrogénio (RE) e bloqueia o efeito de promoção de crescimento de estrogénios. Os inibidores de Aromatase bloqueiam a etapa final na produção de estrogénios a partir de precursores androgénicos (esteróides c-19). Eles ou se ligam irreversivelmente ao sítio activo da enzima (inactivadores de aromatase, i.e., inibidores de aromatase esteróides: 4-hidroxiandrostenodiona (Formestano = Lentaron®), ou Exemestano (Aromasin®)) ou inibem competitivamente a parte do enzima do citocromo p450 (inibidores de aromatase não-esteróides: Anastrozol (Arimidex®) e Letrozol (Femara®)).

O conhecimento da utilização de Formestano para o tratamento do cancro da mama pode por exemplo ser retirado do "THE MERCK INDEX" 2001, Merck & Co., Whitehouse Station, NJ, XP-002403136.

Se o cancro da mama apresentar uma sobre-expressão do gene Her2neu, são administrados intravensamente anticorpos contra esta proteína de superfície celular, tal como e.g. o Trastuzumab (Herceptin®).

Dados clínicos e básicos indicam que os metabólitos aromatizados de androgénios, i.e., os estrogénios, são as hormonas envolvidas nas alterações celulares patogénicas associadas ao crescimento de alguns cancros dependentes de hormonas, tais como os da mama, do endométrio e carcinomas dos ovários. A aromatase foi recentemente reconhecida como um enzima que é capaz de sintetizar o estradiol directamente em tumores.

Os estrogénios endógenos são, em última análise, formados quer a partir de androestenodiona quer de testosterona como precursores imediatos. A produção local de estrogénios no tecido mamário, especialmente nas próprias células tumorais, tinha sido considerada de grande importância para a terapia da doença. Neste contexto, a aromatização do anel A esteroidico efectua-se por meio do enzima aromatase, e a sua inibição foi considerada como desempenhando um papel principal em abordagens anti-cancro da mama.

Antes da presente invenção, a abordagem de terapêutica convencional direcccionava-se para o cancro da mama em mulheres - para além de outros conceitos, com base nos antagonistas de receptores de estrogénio ou anticorpos terapêuticos - portanto focava-se numa própria acção inibidora da aromatase. Por conseguinte, as substâncias esteróides que tinham sido registadas como sendo dotadas de acção inibidora da aromatase, têm sido descritas, por

exemplo, Δ^1 -testololactona [Patente dos E.U. 2.744.120], 4-hidroxi-androst-4-eno-3,17-diona e seus ésteres [ver, por exemplo, a patente dos E.U. 4.235.893], 10-(1,2-propadienil)-estr-4-eno-3,17-diona (Patente dos E.U. 4.289.762], 10-(2-propinilo)-estr-4-eno-3,17-diona [J. Amer. Chem. Soc., 103, 3221 (1981) e Patente dos E.U. 4.322.416], derivados de 19-tioandrosteno (Pedido de Patente Europeu 100566), androsta-9,6-dieno-3,17-diona, androsta-1,4,6-trieno-3,17-diona [Pedido de Patente R.U. 2.100.601A] e androsta-1,4-dieno-3,17-diona [Cancer Res. (Suppl.) 42, 3327 (1982)].

Estudos clínicos conduzidos com antagonistas doa receptores de estrogénio (RE) e inibidores de aromatase mostraram no entanto que estes compostos não foram capazes de exercer um efeito inibidor significativo e suficiente na proliferação e/ou crescimento de tumores. Por exemplo, a terapia tendo por base Tamoxifeno® sofre de inconvenientes tais como taquifilaxia (falha da terapia) e o facto de que em algumas células os seus efeitos são parecidos com os do estrogénio (e.g. risco de trombose e cancro endometrial) sendo esta a razão porque o Tamoxifeno® não pode ser administrado durante um período mais longo do que 3 a 5 anos. Novos fármacos tais como inibidores de aromatase podem, em princípio, ser utilizados apenas em mulheres pós-menopausa e, além disso, apenas são eficazes em tumores RE-positivos.

Pode ser demonstrado, (J. Szelei et al.,

"Androgen-Induced Inhibition of Proliferation in Human Breast Cancer MCF7 Cells Transfected with Androgen Receptor", Endocrinol., 138, n.º 4, 1406-1412, 1997) que células estáveis transfectadas que expressam RA adquirem a capacidade de responder ao androgénio, provocando o fim da proliferação celular. Um relatório mais recente (J. Ortmann et al., "Testosterone and 5 α -dihydrotestosterone inhibit in vitro growth of human breast cancer cell lines", Gynecol. Endocrinol. 2002; 16: 113-120) apresenta que a testosterona e 5 α -di-hidrotestosterona (DHT) podem inibir a proliferação celular em certas linhas celulares. A própria testosterona tem um efeito semelhante. A sua utilidade clínica no entanto é dificultada pelo facto de que ela sofrer uma rápida metabolização quer por estradiol quer por di-hidrotestosterona (DHT). A formação local de estradiol a partir de testosterona dentro do cancro da mama pela actividade da aromatase local promove o crescimento do cancro.

O documento BE55152 (correspondente a CA639855A) descreve a provisão de uma nova classe de esteróides, que é caracterizada pela substituição de 4-cloro ou 4-fluoro na estrutura esteróide androst-4-eno-3-ona. Este documento indica a correlação entre os novos compostos esteróides proporcionados e substâncias anabólicas anteriormente conhecidas e a sua utilização no tratamento do cancro da mama, certas malformações dos ovários, etc. A 4-hidroxi-testosterona-17-acetato é mencionada no Exemplo 24 como um composto de referência testado para a actividade farma-

cológica, especificamente em termos das suas propriedades anabólicas e androgénicas, relativamente aos novos compostos proporcionados.

Portanto, existe uma elevada exigência de compostos alternativos receptores de androgénio (RA) específicos que exerçam efeitos semelhantes aos da testosterona (particularmente efeitos anabólicos) nas células e tecidos RA-positivos e não se metabolizem por aromatase ou se transformem em DHT por 5-alfa-reductase.

A presente invenção proporciona $4,17\beta$ -di-hidroxiandrosten-4-eno-3-ona ou seus sais ou ésteres para utilizações médicas específicas como definido na reivindicação 1, 5 e 6 bem como uma composição farmacêutica de acordo com a reivindicação 7, respectivamente. A presente invenção também proporciona um medicamento de acordo com a reivindicação 9. As formas de realização preferidas são apresentadas nas sub-reivindicações.

De acordo com a presente invenção, a eficácia terapêutica de $4,17\beta$ -di-hidroxiandrosten-4-eno-3-ona foi descoberta num contexto novo surpreendente, permitindo aplicações médicas valiosas. Como resultado, a presente invenção, envolve a utilização de $4,17\beta$ -di-hidroxiandrosten-4-eno-3-ona ou seus sais ou ésteres para a profilaxia contra ou o tratamento de cancro da mama (particularmente, ductal, carcinoma da mama medular ou lobular), carcinoma endometrial, carcinoma cervical, carcinoma dos ovários

epitelial, carcinoma uterino (falopiano), fibroadenoma, macromastia (peri-pós-menopausal), mastopatia, mioma e seus tumores secundários ou metastáticos derivados.

A "utilização" de acordo com a presente invenção pode incluir método de tratamento ou profilaxia dos compostos especificados, ou de uma composição farmacêutica contendo os mesmos como substância activa em conjunto com um veículo e/ou diluente apropriados, para as indicações mencionadas, e inclui a utilização na preparação da referida composição farmacêutica.

Tendo por base as descobertas na presente invenção, $4,17\beta$ -di-hidroxiandrost-4-eno-3-ona é particularmente apropriada para a profilaxia contra e/ou para o tratamento de cancro da mama em doentes machos ou fêmeas.

A composição farmacêutica de acordo com a presente invenção pode ainda conter uma(s) quantidade(s) eficaz(es) de um(uns) antagonista(s) de receptor de androgénio e/ou inibidor(es) de aromatase (um composto diferente dos compostos da invenção aqui descrita), e/ou citostático(s) e/ou anticorpos contra Her2neu.

Uma vez que os compostos de acordo com a presente invenção podem exercer mais eficazmente ou seus efeitos directamente nas células alvo ou tecidos alvo, sem afectar sistematicamente o doente a ser tratado, a composição farmacêutica de acordo com a presente invenção é formulada

preferencialmente para administração tópica para o tratamento local no sítio alvo a ser tratado.

Os compostos da presente invenção apresentam afinidade de ligação ao receptor de androgénio (RA). Na maioria das células, com a excepção das células de cancro da mama, eles são capazes de induzir um efeito anabólico, desde que elas apresentem RA. Em células de cancro da mama eles induzem apoptose.

Estes compostos não são nem substratos para nem produtos metabólicos de aromatase e deste modo não partilham os efeitos negativos das substâncias que são metabolizadas pela aromatase. Além disso, os compostos da presente invenção não são substratos para 5 α -reductase. Como estas substâncias não podem ser que facilmente metabolizadas como, por exemplo, a testosterona, o seu efeito inibidor sobre a célula de tumor é grandemente facilitado e elas exercem adicionalmente um efeito apoptótico na própria célula de tumor. Portanto, estas substâncias são presumivelmente mais eficientes no tratamento das células de cancro da mama do que a linha de substâncias actualmente utilizadas para tratar ambos os tipos de cancro da mama. Outro efeito benéfico deste conceito profiláctico ou terapéutico é que mesmo em tumores negativos ao receptor de estrogénio (RE-negativos) existe uma elevada probabilidade de as células serem RA-positivas e, por conseguinte, mesmo estes tumores actualmente tratados apenas com fármacos citostáticos podem ser

farmacologicamente direcionados por 4-hidroxitestosterona, aumentando significativamente deste modo a gama de terapia de cancro da mama hormonal.

Uma vez que os compostos da presente invenção são compostos específicos RA, mas não são metabolizados pela aromatase, eles podem exercer totalmente as suas acções e efeitos associados com as utilizações terapêuticas e profilácticas definidas especificamente através de RA. Isto torna o conceito dos compostos seleccionados presentemente distinto relativamente à técnica anterior. Também explica a diferença básica relativamente às utilizações terapêuticas anteriores de 4-hidroxitestosterona ou seus derivados. Particularmente, a revelação da US 2.762.818A não vai além da utilização de 4-hidroxitestosteronae os seus ésteres para tratar um estado de deficiência de androgénio por si só baseado nas suas propriedades androgénicas e anabólicas. Não existe no entanto um objectivo nem uma descoberta que sugira uma actividade nas células de cancro da mama ou nos efeitos a partir dos quais se possa deduzir uma eficácia contra as patologias da doença de acordo com a presente invenção. Adicionalmente, a US 2003/0229063A refere-se a baixas razões androgénio para estrogénio em homens (originando desordens endócrinas) e somente para este objectivo tenta fazer uso de 4-hidroxitestosterona baseada num efeito declarado inibidor de aromatase por si só.

Em experiências levadas a cabo com os compostos da presente invenção, pode verificar-se que estas substâncias

cias apresentam excelentes capacidades de penetração na pele de modo a que possa ser atingida uma influência suficiente no crescimento do tumor (até à apoptose) pela simples administração tópica de, e.g., um unguento, loção ou creme, etc. compreendendo uma quantidade terapeuticamente ou profilacticamente eficaz de um composto de acordo com a presente invenção para uma área de um doente em necessidade de tratamento. Após administração tópica, o(s) composto(s) penetram através da pele e concentram-se no tecido adiposo subcutâneo.

No caso do cancro da mama, o medicamento pode ser aplicado localmente na pele da mama, de modo a que de preferência a substância activa fortemente lipofílico seja absorvido transdermicamente e, portanto, colocado localmente no local de acção pretendido. A substância activa concentra-se no tecido gordo periductal. Num tratamento a longo prazo, a matéria gorda da mama tratada é marcadamente reduzida. Esta redução diminui a quantidade de células formadoras de estrogénio tendo competência de formação de estrogénio. A lipofilicidade e hidrofobicidade da substância activa resulta em que a substância activa é exclusivamente concentrado localmente no tecido gordo e logo não pode apresentar qualquer acção sistémica significativa.

De acordo com uma forma de realização preferencial da presente invenção, pretende aplicar o medicamento topicamente imediatamente no ou na vizinhança do

local de acção pretendido. De acordo com a invenção, o resultado atingido é um nível de composto activo no local adequado no tecido em risco (em profilaxia) ou no tecido doente (em terapia) sem uma absorção notável da substância activa que ocorre na circulação sanguínea. O benefício desta forma de realização logo, não só se baseia na aplicação tópica *per se*, mas na aplicação tópica local de tal modo que a substância activa concentra-se fortemente no tecido em risco e/ou no tecido doente, e não indirectamente através da circulação sanguínea.

Devido ao alvo primário da doença a ser tratada, tal como descrito anteriormente, especialmente para o cancro da mama, um tratamento tópico local ou uma aplicação profilática é predominantemente realizada, com doentes do sexo feminino e, particularmente, na pele da mama de doentes do sexo feminino, embora o mesmo princípio terapêutico se aplique também ao cancro da mama masculino.

Se os carcinomas metastáticos forem também tratados e/ou for realizada profilaxia contra estes, o medicamento de acordo com a invenção pode ser aplicado topicamente no local de acção pretendido numa quantidade que uma absorção notável na circulação sanguínea ocorra adicionalmente e um nível de soro logo se acumule que também transporte composto activo para as metástases. Nesta utilização também, uma absorção local ou quer na vizinhança do local de acção pretendido, designadamente onde existem carcinomas metastáticos, também têm primeiramente lugar.

Uma importante vantagem da invenção é a possibilidade de também utilizar o medicamento para a profilaxia do cancro da mama. Uma possibilidade particularmente vantajosa de utilização é a designada por profilaxia secundária. Em doentes do sexo masculino ou feminino, nos quais um cancro da mama foi diagnosticado e tratado, existe um certo risco de recorrência no mesmo local e também um elevado risco de um carcinoma adicional na mama contralateral. Em ambos os casos o aparecimento de um segundo cancro com RE não é previsível. A mama operada e a contralateral podem então ser tratadas profilacticamente com o medicamento de acordo com a invenção.

Irá também prevenir o aparecimento de cancro RE negativo (particularmente comum em doentes que sofrem de uma predisposição familiar para o cancro da mama).

No caso das chamadas mulheres de alto risco, pode ser realizada primeiramente profilaxia. Os critérios de selecção que podem ser utilizados para tal grupo de alto risco são, por exemplo, os factos de que pelo menos um macho ou fêmea relativo ao primeiro grau do lado da mãe sofreu ou está a sofrer de cancro da mama de um lado antes dos 45 anos de idade ou de ambos os lados, ou do lado da mãe pelo menos um macho ou fêmea relativo de primeiro grau e um macho ou fêmea relativo adicional estão a sofrer ou já sofreram de cancro da mama.

Na maior parte destes casos, a causa subjacente da doença é um defeito genético num dos dois conhecidos "genes de cancro da mama" BRCA1 e BRCA2.

Uma vez que o local de aplicação de acordo com uma forma de realização preferida da invenção virtualmente evita completamente possíveis efeitos secundários sistémicos da substância activa tendo em conta a sua hidrofobicidade e elevado perfil de segurança, a indicação de profilaxia primária pode ser relativamente realizada generosamente já na presença de tecidos contendo um risco comparativamente baixo ou médio. A profilaxia pode ser iniciada muito tempo antes dos sinais e sintomas de cancro de mama poderem ocorrer.

Na administração tópica preferida do composto ou composição de acordo com a invenção é preferencialmente aplicada durante um período de tempo relativamente longo (se necessário durante toda a vida) e a aplicação é realizada a cabo, por exemplo, uma ou duas vezes por dia. Uma vez que as substâncias activas da invenção se pretendem ser aplicadas topicalmente (localmente) são preferencialmente proporcionadas na forma solúvel em lípidos, elas podem facilmente penetrar no tecido gordo e localmente exercer o seu efeito profiláctico e/ou terapêutico.

Uma vez que as substâncias activas administradas topicalmente de acordo com a invenção permanecem localizadas no tecido gordo da mama e apresentam a sua acção pretendida

lá, devido à sua solubilidade em lípidos, qualquer possibilidade de efeitos secundários induzidos por aplicação sistémica são eliminados. Esta redução ou eliminação de efeitos secundários permite a utilização profiláctica significativamente mais vasta. O medicamento de acordo com a invenção pode ser aplicado pelos próprios doentes e visitas frequentes ao médico para este propósito não são necessárias.

Como regra para a administração tópica, as substâncias activas utilizadas de acordo com a invenção são lipossolúveis e altamente apropriadas para a aplicação tópica. Como já foi descrito anteriormente, a concentração de tecido gordo na mama evita efeitos secundários sistémicos. Para melhorar a penetração na pele, substâncias conhecidas na técnica anterior que promovem esta penetração podem ser adicionadas ao medicamento de acordo com a invenção, por exemplo hialuronidases, dimetilsorbitol ou DMSO (dimetilsulfóxido).

Particularmente, a administração tópica é principalmente indicada para a prevenção primária (profilaxia), prevenção secundária (profilaxia) após terapia de conservação da mama, acompanhada por qualquer forma de terapia de fármaco adjuvante, após a operação para o carcinoma ductal *in situ* (DCIS, que normalmente não é seguido de qualquer terapia adjuvante) e profilaxia de cancro da mama contralateral. A administração tópica é também particularmente apropriada no contexto da terapia (neo-adjuvante).

Isto implica o tratamento com fármacos do cancro antes da operação de modo a diminuir o seu tamanho para permitir a operação de conservação da mama. No passado isto foi realizado preferencialmente em casos de tumores RE negativos, apenas recentemente os inibidores aromatase têm sido utilizados com sucesso limitado dentro de 6 meses. Finalmente o tratamento pode ser aplicado a lesões superficiais (e.g. metástases cutâneas).

A prevenção primária refere-se ao tratamento profilático de indivíduos saudáveis que possuem um certo risco para desenvolverem cancro. Uma vez que os compostos e composições farmacêuticas da invenção não são um substrato de aromatase e assim não podem ser metabolizados em estrogénios, e não são virilizantes, eles podem também ser utilizados na prevenção primária do cancro da mama em mulheres em pré-menopausa. Na prevenção secundária, os compostos e composições podem ser utilizados sozinhos ou em combinação com, e.g., Tamoxifeno, inibidores de aromatase, herceptina e/ou fármacos citostáticos, em que qualquer uma de tais combinações iriam alargar o espectro de tipos de células tratáveis.

A presente invenção baseia-se nas constatações de que $4,17\beta$ -di-hidroxiandrosten-4-eno-3-ona (daqui em diante 4-hidroxitestosterona) pode ser utilizado com sucesso como uma substância farmaceuticamente activa. Particularmente, pode ser mostrado que as composições farmacêuticas contendo um veículo e/ou diluente apropriados e, como um princípio

activo, 4-hidroxitestosterona, podem ser utilizadas na profilaxia e/ou tratamento de cancro da mama (em particular carcinoma da mama ductal, medular e lobular), carcinoma endometrial, carcinoma cervical, carcinoma do ovário epitelial, carcinoma uterino (falopiano), fibroadenoma, macromastia (peri-pós-menopausal), mastopatia, mioma e seus tumores secundários ou metastáticos derivados.

Por isso, a presente invenção também proporciona a utilização de 4,17 β -di-hidroxiandrost-4-eno-3-ona (4-hidroxitestosterona) na preparação de uma composição farmacêutica para a profilaxia e/ou tratamento (clínico) da referida hormona ou receptor dos cancros dependentes de hormonas ou regulados pelo receptor de hormona anteriormente descrito em mamíferos.

Geralmente, os compostos e composições farmacêuticas da invenção podem ser administrados topicalmente, oralmente, rectalmente, parentericamente (e.g. intramuscularmente ou por injecção intravenosa ou infusão), transdermicamente e/ou sob a forma de uma preparação de depósito.

O composto da presente invenção, 4-hidroxitestosterona, é descrito em, e.g., a US 2.762.818A comercialmente disponíveis (e.g. da Bulk Nutrition, Graham, NC, EUA; ver bulknutrition.com para informação adicional; WINKOS GmbH D-79189 Bad Krozingen, DE).

A presente invenção também está ligada aos sais e

ésteres de 4,17 β -di-hidroxiandrost-4-eno-3-ona que partilham as suas características funcionais e/ou estruturais. Exemplos de grupos éster apropriados incluem cadeia linear, cadeia ramificada ou cíclica, ou aromática, grupos acilo tais como formilo, acetilo, propionilo, butirilo, pentanoílo, hexanoílo, heptanoílo e benzoílo. Os ésteres podem ser formados com o grupo 4 e/ou 17-hidroxi, preferencialmente com o grupo 17 hidroxilo. Os seus sais e ésteres podem também ser preparados através de métodos conhecidos (ver, e.g., a US 2.762.818A).

Os compostos e preparações farmacêuticas da invenção são esteróides anabólicos e exercem os seus efeitos semelhantes a testosterona após a ligação a receptores de androgénio apresentados em células e tecidos que são RA positivos.

Em virtude do seu alto índice terapêutico, os compostos da invenção podem ser utilizados com segurança na medicina. Por exemplo, a toxicidade aguda aproximada (LD_{50}) dos compostos da invenção no murganho, determinada por administração única de doses crescentes e medida ao sétimo dia após o tratamento, foi considerada insignificante.

Os compostos e preparações ou composições farmacêuticas da invenção podem ser administrados numa variedade de formas de dosagem, e.g., topicalmente, na forma de um unguento, um creme, uma loção, um gel, uma pulverização, ou um emplastro transdérmico, compreendendo também as formas

de dosagem de libertação prolongada (incluindo pastilhas), por via oral, na forma de comprimidos, cápsulas, comprimidos revestidos com açúcar ou com película, soluções líquidas ou suspensões; por via rectal, sob a forma de supositórios; parentericamente, e.g. intramuscularmente, ou por injecção intravenosa ou infusão. De acordo com uma forma de realização preferida, os compostos da invenção são concebidos para administração tópica.

A dosagem depende da idade, peso, condições do doente e via de administração; por exemplo a dosagem adoptada para administração oral a seres humanos adultos pode variar entre cerca de 10 a cerca de 150-1000 mg por dose, de 1 a 5 vezes por dia.

A invenção inclui preparações ou composições farmacêuticas compreendendo um composto da invenção em associação com um excipiente farmaceuticamente aceitável (que pode ser um veículo ou diluente).

As composições farmacêuticas contendo os compostos da invenção são normalmente preparadas de acordo com métodos convencionais e são administradas de uma forma farmaceuticamente apropriada.

Para administração tópica, o medicamento é, de preferência, formulado como um unguento, creme, gel, emulsão ou loção. A formulação tal como um pó ou o óleo são também possíveis. As bases de formulação são familiares

para os especialistas na técnica a partir da indústria farmacêutica e cosmética e não precisam de ser aqui explicadas em maior detalhe. Por exemplo, óleos vegetais e gorduras tais como o óleo de amêndoas, óleo de amendoim, óleo de oliveira, óleo de caroço de pêssego, óleo de rícino, extractos de plantas, óleos etéreos; além disso, as ceras vegetais e óleos sintéticos e animais, gorduras ou ceras; lecitina, álcoois de lanolina, caroteno, fragrâncias, álcoois mono ou poli-hídricos, ureia, conservantes e corantes, etc. podem ser utilizados. A formulação como óleo-em-água ou uma emulsão de água-em-óleo é preferida.

O conteúdo em substância activa de um medicamento apropriado pode ser entre 0,0001 e 20% em peso, preferencialmente 0,6% até 10% em peso, mais preferencialmente entre 1 e 5% em peso, de 4-hidroxitestosterona ou seus sais ou ésteres. Uma gama habitual é de 0,6 a 5% em peso.

Se substâncias são co-misturadas para promover a penetração da pele, o seu conteúdo, quando utilizando hialuronidases, pode ser, por exemplo, entre 0,01 até 1% em peso, preferencialmente 0,05 até 0,2% em peso, quando se utiliza dimetilsorbitol ou DMSO entre 1 e 25% em peso, de preferência entre 5 e 10% em peso.

Por exemplo, as formas sólidas orais podem conter, juntamente com a substância activa, diluentes, e.g. lactose, dextrose, sacarose, celulose, amido de milho ou amido de batata; lubrificantes, e.g. sílica, talco, ácido

esteárico, estearato de magnésio ou cálcio e/ou polietilenoglicóis; agentes ligantes, e.g. amidos, gomas arálicas, gelatina, metilcelulose, carboximetilcelulose ou polivinilpirrolidona; agentes de desagregação, e.g. um amido, ácido algínico, alginatos ou glicolato de amido de sódio; misturas efervescentes; corantes, edulcorantes; agentes molhantes, tais como lecitina, polissorbatos, laurilsulfatos; e, em geral, substâncias não tóxicas e farmacologicamente inactivas utilizadas em formulações farmacêuticas. As referidas preparações farmacêuticas podem ser fabricadas de modo conhecido, por exemplo, por meio de processos de mistura, granulação, formação de comprimidos, revestimento com açúcar ou revestimento com película. As dispersões líquidas para administração oral podem ser, e.g., xaropes, emulsões e suspensões.

Os xaropes podem conter como veículo, por exemplo, sacarose ou sacarose com glicerina e/ou manitol e/ou sorbitol.

As suspensões e as emulsões podem conter como veículo, por exemplo, uma goma natural, agar, alginato de sódio, pectina, metilcelulose, carboximetilcelulose ou álcool polivinílico.

As suspensões ou soluções para injecções intramusculares podem conter, juntamente com a substância activa, um veículo farmaceuticamente aceitável, e.g. água

estéril, azeite, oleato de etilo, glicóis, e.g. propilenoglicol, e se desejado, uma quantidade adequada de cloridrato de lidocaína.

As soluções para injecções intravenosas ou infusões podem conter como veículo, por exemplo, água estéril ou de preferência podem estar na forma de soluções salinas, estéreis, aquosas, isotónicas.

Os supositórios podem conter juntamente com a substância activa um veículo farmaceuticamente aceitável, e.g. manteiga de cacau, polietilenoglicol, um éster de ácido gordo de polioxietileno sorbitano tensioactivo ou lecitina.

Nos casos em que o tumor alvo é receptor de estrogénio positivo (RE), os compostos da invenção também podem ser administrados em conjunto com conhecidos antagonistas para receptores de estrogénios (tal como Tamoxifeno ®) e/ou inibidores de aromatase conhecidos e/ou citostáticos conhecidos. Assim, uma composição farmacêutica da invenção pode também compreender uma quantidade eficaz de um(uns) composto(s) conhecido(s) exercendo actividade antagonista de receptores de estrogénios e/ou inibidora de aromatase e/ou actividade citostática. De acordo com uma forma de realização preferida, uma combinação de 4-hidroxitestosterona e um apropriado citostático ou combinação de citostáticos é proporcionada, em particular, na forma de

uma preparação que pode ser administrada topicalmente (e.g., creme).

Os exemplos de agentes inibidores de aromatase estão e.g. descritos na US 2004/0018991A1 e incluem inibidores de aromatase esteróides tais como formestano e lentaron, exemestano, MDL 18962, derivados de androstenediona 7 alfa-substituídos, ATD, androgénios 10-oxirano e 10-tiirano substituídos, atamestano, etc., e inibidores de aromatase não esteróides tais como vorazol, arimidex, letrozol, fadrozol, e rogletimida. Com respeito às designações destas substâncias, bem como a sua disponibilidade, ver, por exemplo, "Red List", Editio Cantor, Aulendorf (DE, 1999).

Os exemplos de citostáticos e combinações citostáticas apropriadas incluem e.g., AC ± T - Adriamicina (nome químico: Doxorubicina) com ciclofosfamida (nome comercial: Citoxan), com ou sem o Taxol (nome químico: Paclitaxel) ou de Taxotere (nome químico: Docetaxol); CMF-ciclofosfamida, metotrexato, e fluoro-uracilo ("5-FU" ou 5-fluorouracil); CAF-ciclofosfamida, adriamicina, e fluoro-uracilo ("5-FU" ou 5-fluorouracil); CEF-ciclososfamida, a epirubicina (semelhante à adriamicina), e fluorouracilo ("5-FU" ou 5-fluorouracil); Fac-fluorouracilo ("5-FU" ou 5-fluorouracil), adriamicina e ciclofosfamida.

Geralmente, e em particular, se o tecido alvo é

receptor de estrogénio negativo, os compostos da invenção também podem ser administrados em conjunto com anticorpos contra Her2neu tais como e.g. o Trastuzumab (herceptin ®). Assim, uma composição farmacêutica da invenção pode também compreender uma quantidade eficaz de compostos conhecidos exercendo uma actividade Her2neu antagonística.

Os exemplos seguintes ilustram a invenção.

Exemplo 1

O composto da presente invenção pode ser sintetizado como se segue.

Num primeiro passo, 2,5 g de testosterona é dissolvido em 100 mL MeOH frio. Após a adição de 9 mL de NaOH (2%) e 17 mL de H₂O₂ (30%) a mistura é agitada durante 24h a 4 °C. Os epóxidos resultantes são precipitados com água gelada.

Num segundo passo, 2 g dos epóxidos secos são dissolvidos em 200 mL de ácido acético contendo 2% de H₂SO₄. A solução é agitada durante 4 h à temperatura ambiente. Os produtos da reacção são precipitados com água gelada.

Em seguida, os produtos da reacção são lavados com solução de NaOH a 1% para hidrolisar os ésteres de

acetilo. O rendimento total de 4-hidroxitestosterona pura está na gama de 40-50%.

Exemplo 2

Um creme para administração tópica de acordo com a invenção pode ser formulado de modo convencional utilizando as seguintes quantidades de ingredientes. As quantidades são dadas por 100 g de creme:

4- hidroxi-17 β -acetil-androst-4-eno-3-oná	4,5 g
Álcool cetearílico	7,5 g
Cera de parafina	3,0 g
Carbómero de sódio	2,5 g
Miristato de isopropilo	6,0 g
Monoestearato de sorbitano	1,0 g
Polissorbato 20	3,0 g
Álcool estearílico	2,0 g
Dimetilsorbitol	5,0 g
Água purificada qs	100,0 g

O creme resultante pode ser administrado por via tópica na pele afectada sobre o tecido mamário de um doente feminino ou masculino.

Exemplo 3

Um gel de acordo com a invenção pode ser formulado de modo convencional utilizando as seguintes quanti-

dades de ingredientes. As quantidades são dadas por 100 g de gel:

4-hidroxitestosterona	2,5 g
Etanol 95 graus	70,0 g
Carbopol 980	0,5 g
Miristato de isopropilo	2,5 g
Trietanolamina	0,5 g
Água purificada qs	100,0 g

Exemplo 4

Preparou-se uma solução para utilização como uma pulverização de acordo com a invenção de um modo convencional utilizando a formulação seguinte. As quantidades são dadas por 100 g de solução:

4-hidroxitestosterona	2,5 g
Etanol 95 graus	70,0 g
Miristato de isopropilo	2,5 g
Água purificada Qs	100,0 g

Exemplo 5

Os comprimidos, cada um pesando 0,150g e contendo 25 mg da substância activa, podem ser fabricados como se segue:

Composição (para 10000 comprimidos)

4,17 β -di-hidroxiandrostan-4-eno-3-ona	250 g
Lactose	800 g
Amido de milho	415 g
Talco em pó	30 g
Estearato de magnésio	5 g

A 4,17 β -di-hidroxiandrostan-4-eno-3-ona, a lactose e metade do amido de milho foram misturados; a mistura foi então forçada através de um peneiro de 0,5 mm de tamanho de malha. O amido de milho (10 g) foi suspenso em água quente (90 mL) e a pasta resultante foi utilizada para granular o pó. Secou-se o granulado, pulverizou-se sobre um peneiro de 1,4 mm tamanho de malha, depois adicionou-se as quantidades restantes de amido, talco e estearato de magnésio, misturou-se cuidadosamente, e produziram-se os comprimidos.

Exemplo 6

As cápsulas, cada uma doseada a 0,200 g e contendo 20 mg da substância activa, podem ser preparadas. 500 composição para cápsulas:

Composição para 500 cápsulas

4,17 β -di-hidroxiandrostan-4-eno-3-ona	10 g
Lactose	80 g
Amido de milho	5 g
Estearato de magnésio	5 g

Esta formulação foi encapsulada em cápsulas de gelatina dura de duas peças e doseada a 0,200 g para cada cápsula.

Exemplo 7

As células MCF-7 cresceram num meio RPMI 1640 a 37°C até um número de células de cerca de 1×10^5 células/mL. De seguida, a amostras celulares MCF-7 idênticas quadruplicadas, adicionou-se ou di-hidro testosterona (DHT) ou 4-hidroxitestosterone (4-OHT), para obter diferentes concentrações das mesmas, nomeadamente 10^{-7} M, 10^{-8} M ou 10^{-9} M, e posteriormente o crescimento das células foi determinado por contagem de células vitais. Durante o decurso da incubação a 37°C, a contagem das células foi realizada após 3, 6 e 9 dias. Para controlo, o crescimento de células MCF-7 foi determinado sem adição de um substância activa.

Os resultados numa inibição de proliferação de células MCF-7 são apresentados nas Figuras 1A, 1B e 1C para as concentrações de composto de 10^{-7} M, 10^{-8} M e 10^{-9} M quer de DHT quer de 4-OHT, respectivamente, e em comparação com o controlo. Os resultados demonstram um aumento significativo do efeito inibidor sobre a proliferação de células MCF-7 no caso de se utilizar o composto 4-hidroxitestosterona de acordo com a presente invenção, significativamente mais forte do que 4-di-hidrotestosterona e particularmente mais forte do que o controlo. A eficácia surpreendentemente melhorada de 4-OHT em comparação ao DHT pode ser explicada pelos efeitos, de que a 4-OHT pode ligar-se

especificamente fortemente ao receptor de androgénio (RA) e desencadeia efeitos anabólicos/ apoptóticos em vez de efeitos androgénicos. A DHT por outro lado evoca de preferência efeitos androgénicos.

Exemplo 8

Os ensaios clínicos "duplo-cego" foram realizados com um grupo de 10 doentes do sexo feminino. Neste ensaio clínico, foi prestada particular atenção aos estados do receptor de hormona dos tecido de cancro da mama dos doentes alvo no que diz respeito ao receptor de progesterona (RP) e, em particular, no que diz respeito ao receptor de estrogénio (RE); Assumiu-se que os cancros dos doentes foram predominantemente receptores positivos de androgénios (RA). De entre este grupo, seis doentes tiveram histologicamente determinados carcinoma da mama malignos (*C. mammae*). Verificou-se que os tumores de 5 doentes deste subgrupo investigado eram receptores de progesterona negativos (RP) e, em particular, o receptor de estrogénio negativo (RE) (nível de estado 0 (zero)). Relativamente a Her-2-neu, três doentes apresentaram um estado negativo, um apresentou um nível moderado (1) e outro apresentou um estado do receptor forte (nível 2). Num sexto doente, foi determinada a presença de um carcinoma da mama maligno, mas a quantidade de tecido cancerígeno foi muito baixa para determinar o estado do receptor.

Os restantes quatro doentes não apresentaram uma

doença maligna, mas aparentaram como tendo tecido mamário normal ou mastopático.

Todos as 10 doentes do sexo feminino foram tópica e localmente tratadas utilizando 4-hidroxitestosterona como substância activa, por administração de um creme como descrito no Exemplo 2 localmente nas porções pele alvo das mamas. Após a continuação da administração diária tópica uma vez por dia durante um período de administração de 3 meses, foram realizadas investigações clínicas sobre os efeitos terapêuticos.

Os resultados dos 6 doentes com carcinoma da mama malignos são apresentados na Tabela 1 seguinte, juntamente com o estado do receptor determinado para os doentes n.º 1 a 5.

N.º Doente	Idade	RE	RP	Her2neu	Remissão Clínica
#1	62 anos	0	0	0	sim
#2	54 anos	0	0	1	pendente
#3	87 anos	0	0	0	sim
#4	68 anos	0	0	2	pendente
#5	57 anos	0	0	0	pendente
#6	50 anos	Ø	Ø	Ø	sim

De entre as mulheres até agora sujeitas a investigações pós-tratamento, três doentes apresentaram uma remissão notável de tecidos do cancro da mama como determinado por mamografia.

Embora estado do receptor do tumor do sexto doente deste subgrupo de cancro ser desconhecido, houve também uma clara remissão clínica verificada neste caso.

Relativamente aos restantes 4 doentes tendo estados de doença não-malignos, verifica-se que existe uma clara tendência para a redução de tecido aparentemente normais ou mastopáticos que aparecem no decurso da administração tópica.

Os resultados deste estudo clínico mostram dois efeitos principais importantes da composição farmacêutica de acordo com a presente invenção compreendendo 4-hidroxitemosterona (4-OHT). Em primeiro lugar, a 4-OHT mostra uma excelente eficácia na redução de tecidos cancerígenos. Em segundo lugar, e ainda mais surpreendentemente, mesmo células de cancro RE negativas podem ser tratadas eficazmente.

Em conjunto, as observações efectuadas na presente invenção suportam o conceito de que a 4-OHT pode eficazmente actuar através do RA, e que a apoptose pode eventualmente ser realizada.

As descobertas da presente invenção tornam assim valiosos os exequíveis tratamentos terapêuticos e/ou profiláticos. Entre outras aplicações úteis, incluindo a terapia adjuvante, a terapia neo-adjuvante é de particular importância fazendo uso da redução substancial do volume de tumor para ajudar ou permitir os subsequentes esquemas de tratamento cirúrgico.

Exemplo 9

Um doente com 42 anos de idade com cancro da mama bilateral e metástases na pele após cirurgia foi tratado diariamente com um creme correspondente ao exemplo 2. Após 4 semanas de tratamento as metástases na pele desapareceram.

Exemplo 10

Um doente de 50 anos de idade com cancro da mama grande (diâmetro: 12 cm) alastramento massivo do tumor e doença metastática do fígado foi tratada por ressecção parcial do tumor e subsequente aplicação diária de um creme correspondente ao exemplo 2. O doente não apresentou sob tratamento mais nenhum crescimento do tumor e apresentou mesmo uma redução de massa tumoral não-ressecável.

Exemplo 11

Um doente de 74 anos de idade com cancro da mama avançado, e alastramento do tumor para a linfa foi tratado diariamente durante 10 semanas. Ocorreu uma redução substancial de volume do tumor e nos nódulos linfáticos afectados já não estavam presentes células de tumor.

REIVINDICAÇÕES

1. Utilização de $4,17\beta$ -di-hidroxiandrost-4-eno-3-oná ou seus sais ou ésteres na preparação de uma composição farmacêutica para a profilaxia ou o tratamento de cancro da mama, carcinoma endometrial, carcinoma cervical, carcinoma de ovário epitelial, carcinoma uterino (falopiano), fibrodenoma, macromastia (peri-pós-menopausal), mastopatia, mioma, ou seus tumores secundários ou metastáticos.

2. Utilização de acordo com a reivindicação 1, em que o cancro da mama é carcinoma da mama ductal, medular ou lobular.

3. Utilização de acordo com as reivindicações 1 ou 2, em que a administração é tópica.

4. Utilização de acordo com a reivindicação 1, em que a $4,17\beta$ -di-hidroxiandrost-4-eno-3-oná ou os seus sais ou ésteres devem ser administradas em conjunto com uma(s) quantidade(s) eficaz(es) de um(uns) antagonista(s) para o receptor de estrogénio e/ou inibidor(es) de aromatase e/ou citostático(s) e/ou anticorpos contra Fier2neu.

5. $4,17\beta$ -di-hidroxiandrost-4-eno-3-oná ou seus sais ou ésteres para utilização na profilaxia contra ou tratamento do cancro da mama, carcinoma endometrial, carcinoma cervical, carcinoma de ovário epitelial, carcinoma

uterino (falopiano), fibroadenoma, macromastia (peri-pós-menopausal), mastopatia, mioma, ou seus tumores secundários ou metastáticos.

6. $9,17\beta$ -di-hidroxiandrost-4-eno-3-ona ou seus sais ou ésteres de acordo com a reivindicação 5 para utilização da profilaxia contra ou tratamento de carcinoma da mama ductal, medular ou lobular.

7. Composição farmacêutica preparada numa forma de administração tópica e contendo um veículo e/ou diluente apropriado e, como substância activa, $4,17\beta$ -di-hidroxiandrost-4-eno-3-ona ou seus sais ou ésteres para utilização tópica na terapia na profilaxia e/ou tratamento de doentes fêmeas.

8. Composição farmacêutica de acordo com a reivindicação 7, compreendendo ainda uma(s) quantidade(s) eficaz(es) de um(uns) antagonista(s) para o receptor de estrogénio e/ou inibidor(es) de aromatase e/ou citostático(s) e/ou anticorpos contra Her2neu.

9. Medicamento compreendendo uma composição farmacêutica de acordo com a reivindicação 7 ou 8, para utilização na profilaxia contra, ou tratamento do, cancro da mama, particularmente carcinoma da mama ductal, medular ou lobular.

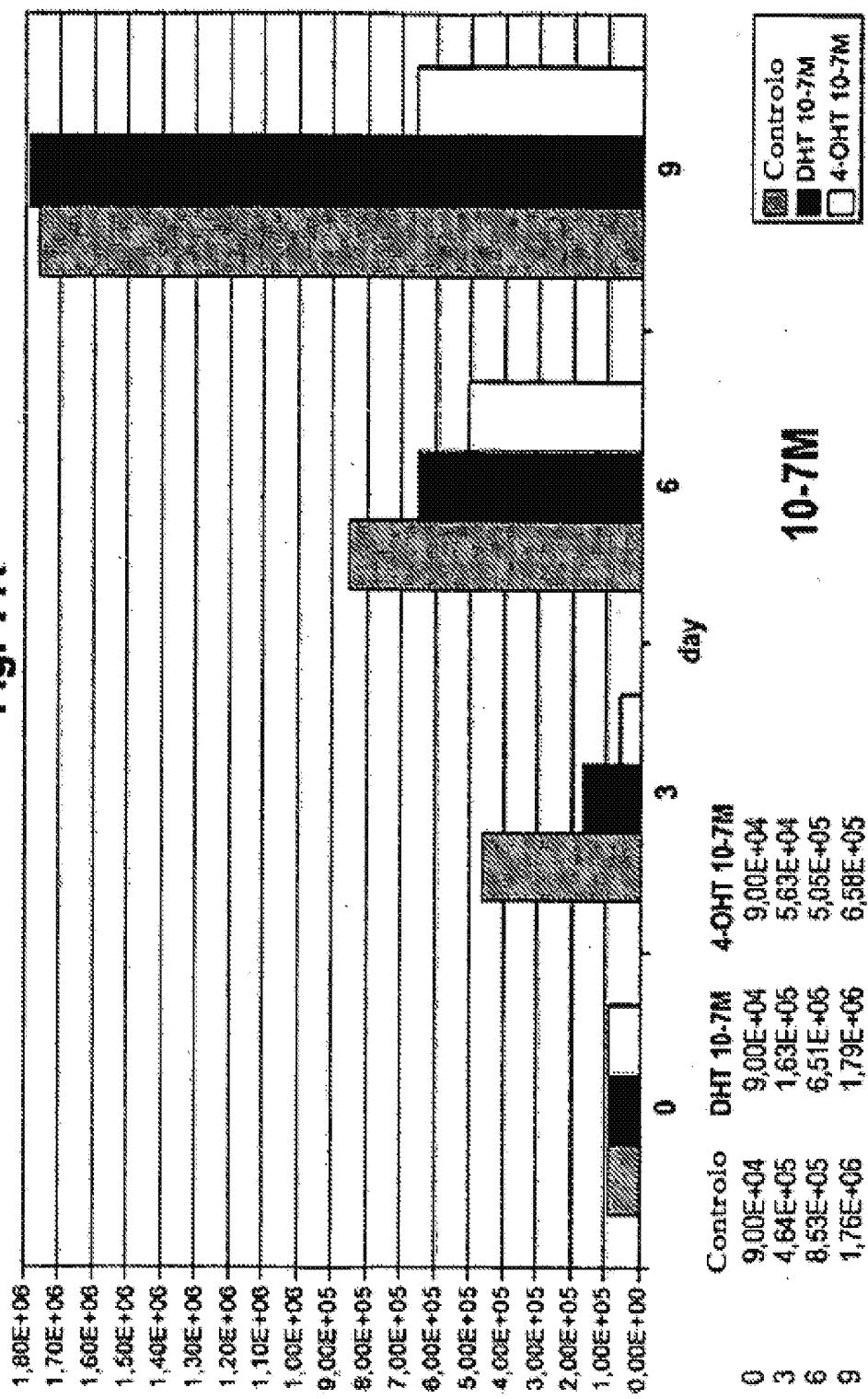
Fig. 1 A

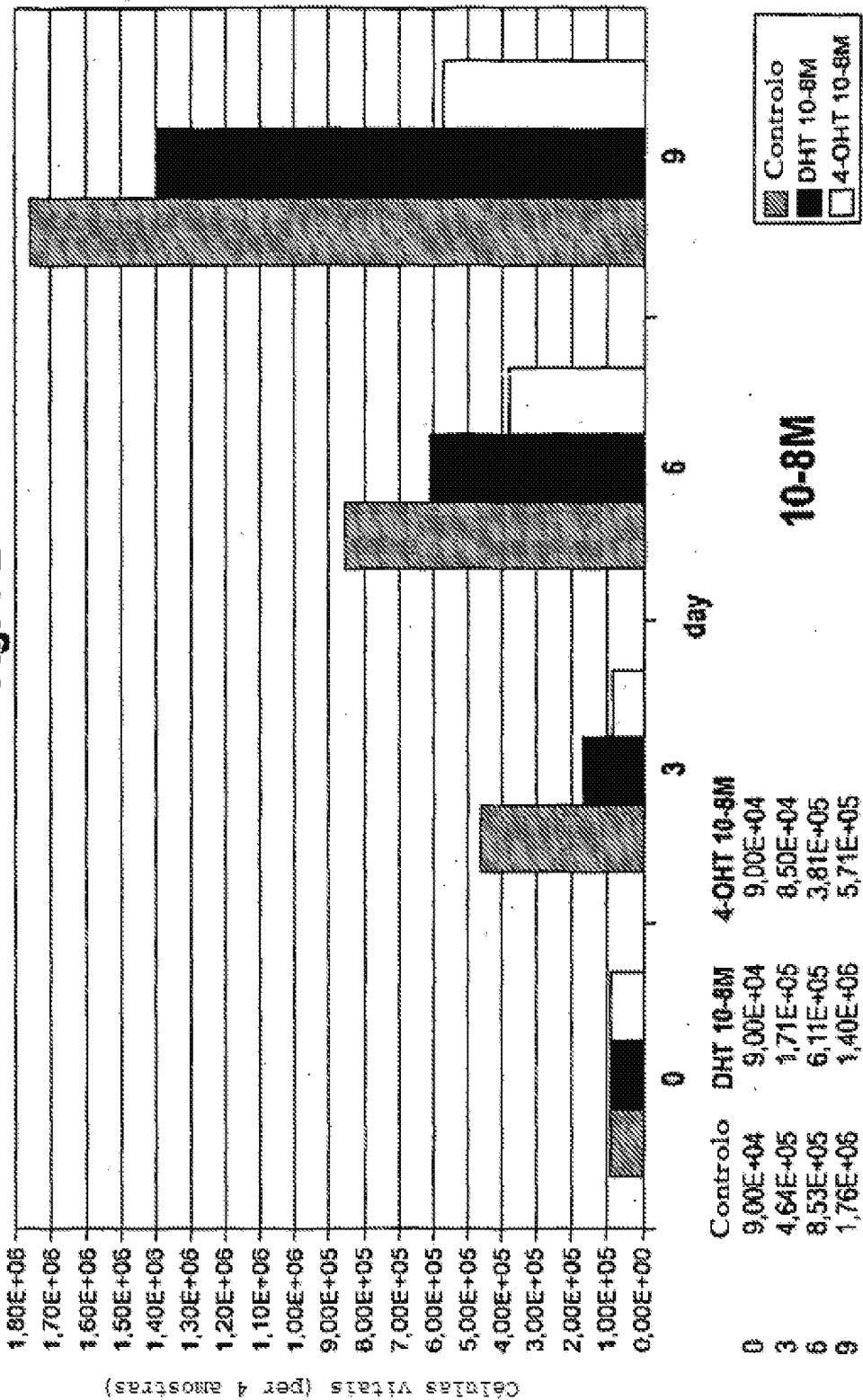
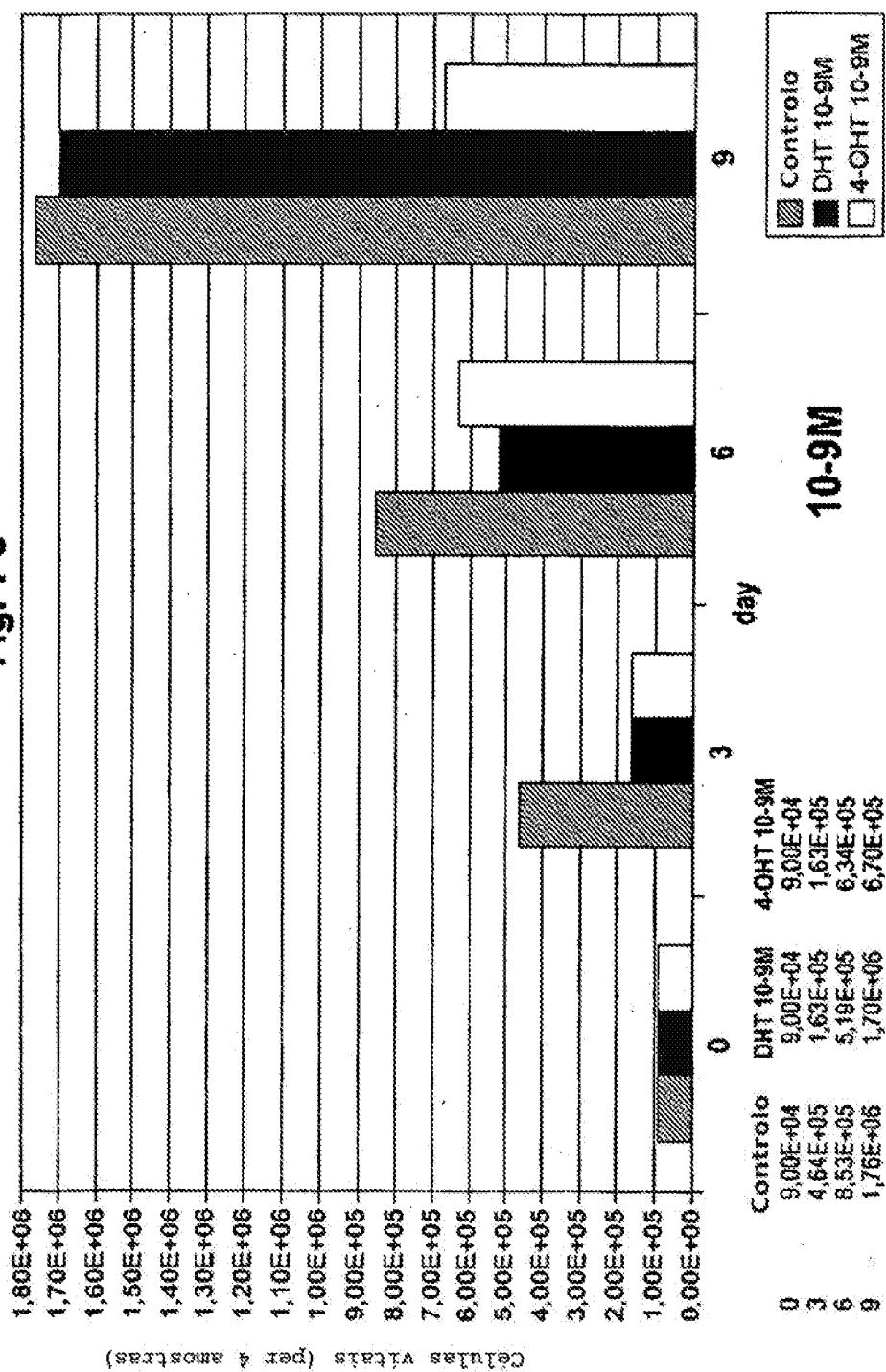
Fig. 1 B

Fig. 1 C

REFERÊNCIAS CITADAS NA DESCRIÇÃO

Esta lista de referências citadas pelo requerente é apenas para conveniência do leitor. A mesma não faz parte do documento da patente Europeia. Ainda que tenha sido tomado o devido cuidado ao compilar as referências, podem não estar excluídos erros ou omissões e o IEP declina quaisquer responsabilidades a esse respeito.

Documentos de patentes citadas na Descrição

- US 2744120 A
- US 4235863 A
- US 4289762 A
- US 4322416 A
- EP 100586 A
- GB 2100801 A
- BE 55182
- CA 638855 A
- US 2782818 A
- US 20030229063 A
- US 20040018891 A1

Literatura que não é de patentes citada na Descrição

- J. Amer. Chem. Soc., 1981, vol. 103, 3221
- Cancer Res., 1982, vol. 42, 3327
- J. Szetei et al. Androgen-Induced Inhibition of Proliferation in Human Breast Cancer MCF7 Cells Transfected with Androgen Receptor. Endocrinol., 1997, vol. 138 (4), 1408-1412
- J. Ortmann et al. Testosterone and 5α-dihydrotestosterone inhibit in vitro growth of human breast cancer cell lines. Gynecol. Endocrinol., 2002, vol. 16, 113-120
- Red List, 1999