

(11) Número de Publicação: **PT 1955700 E**

(51) Classificação Internacional:
A61K 31/56 (2009.01) **A61K 31/565** (2009.01)
A61K 31/567 (2009.01) **C07J 1/00** (2009.01)
C07J 41/00 (2009.01) **C07J 31/00** (2009.01)

(12) **FASCÍCULO DE PATENTE DE INVENÇÃO**

(22) Data de pedido: 2000.09.28	(73) Titular(es): HARBOR BIOSCIENCES, INC. 9171 TOWNE CENTRE DRIVE, SUITE 180 SAN DIEGO, CA 92122 US
(30) Prioridade(s): 1999.09.30 US 157275 P 1999.09.30 US 157347 P 1999.11.16 US 166116 P	(72) Inventor(es): JAMES M. FRINCKE US
(43) Data de publicação do pedido: 2008.08.13	(74) Mandatário: LUÍS MANUEL DE ALMADA DA SILVA CARVALHO RUA VÍCTOR CORDON, 14 1249-103 LISBOA PT
(45) Data e BPI da concessão: 2011.03.16 085/2011	

(54) Epígrafe: **TRATAMENTO TERAPÉUTICO DE DOENÇAS ASSOCIADAS AO RECEPTOR DE ANDROGÉNIOS**

(57) Resumo:

A INVENÇÃO PROPORCIONA MÉTODOS PARA TRATAMENTO DE DOENÇAS COMO O CANCRO DA PRÓSTATA, OU PARA MELHORAMENTO DE UM OU MAIS SINTOMAS ASSOCIADOS AO CANCRO DA PRÓSTATA, OU PARA AGENTES QUE MODULAM A ACTIVIDADE BIOLÓGICA DO RECEPTOR DE ANDROGÉNIOS. A INVENÇÃO TAMBÉM PROPORCIONA MÉTODOS E COMPOSIÇÕES ADEQUADAS PARA APLICAÇÕES TERAPÊUTICAS.

RESUMO

**"TRATAMENTO TERAPÊUTICO DE DOENÇAS ASSOCIADAS AO RECEPTOR
DE ANDROGÉNIOS"**

A invenção proporciona métodos para tratamento de doenças como o cancro da próstata, ou para melhoramento de um ou mais sintomas associados ao cancro da próstata, ou para agentes que modulam a actividade biológica do receptor de androgénios. A invenção também proporciona métodos e composições adequadas para aplicações terapêuticas.

DESCRIÇÃO

"TRATAMENTO TERAPÊUTICO DE DOENÇAS ASSOCIADAS AO RECEPTOR DE ANDROGÉNIOS"

ANTECEDENTES DA INVENÇÃO

A invenção proporciona métodos e composições compreendendo esteróides e análogos, tais como análogos do androst-5-eno-3,17-diol ("AED") ou do 1,3,5(10)-estratrieno-17-etinil-3,17-diol ("EED") para utilização como agentes para modular a actividade biológica do receptor de androgénios ("AR") ou para tratar doenças que respondem a androgénios ou doenças relacionadas como o cancro da próstata e a hipertrofia benigna da próstata ("BPH").

O cancro da próstata representa a doença maligna não cutânea mais vulgarmente diagnosticada em homens de idade e é a segunda principal causa de morte relacionada com cancro em homens norte-americanos. A ablação de androgénios tem sido a base do tratamento para formas avançadas desta doença, tipicamente por uma associação de terapêutica anti-androgénios cirúrgica ou médica. Os anti-androgénios que são correntemente utilizados incluem hidroxiflutamida (HF), acetato de ciproterona e bicalutamida (casodex). Os tratamentos de ablação de

androgénios são utilizados para reduzir o nível de androgénios endógenos. Contudo, a maioria de casos de cancro da próstata dependente de androgénios parecem evoluir para doenças malignas independentes de androgénios. Limitando a disponibilidade de androgénios aos cancros da próstata regionais ou metastásicos normalmente induz remissão, mas após algum tempo o cancro frequentemente torna-se refractário aos tratamentos de ablação de androgénios. Foi sugerido que alterações genéticas do gene AR podem contribuir para uma resposta insuficiente à terapêutica anti-androgénios. Contudo, os mecanismos responsáveis pela conversão de células de cancro da próstata numa doença independente de androgénios não estão completamente caracterizados.

A BPH é uma doença que afecta aproximadamente 60% de homens com mais de cerca de 60 anos de idade. Uma acumulação elevada de hormonas masculinas tais como dihidrotestosterona ("DHT") em tecido da próstata pode contribuir para o aumento da próstata. A acumulação de DHT parece resultar de níveis elevados de receptores de DHT intracelulares. O aumento está associado a uma elevação dos níveis de estrogénios em relação aos níveis de androgénios, que diminuem com a idade. Os sintomas urológicos consistem numa frequência elevada de micção devida a urina residual elevada. Isto é tipicamente acompanhado por um fluxo de urina fraco, um início de micção atrasado e infecções repetidas da bexiga e dos rins. O tratamento da BPH inclui cirurgia para retirar a obstrução, mas esta não é sempre eficaz ou tem efeitos secundários indesejados, e.g.,

incontinência ou libido diminuída. Outros tratamentos tais como a ablação de androgénios por orquiectomia bilateral ou quimioterapia de ablação de androgénios são excessivamente invasores ou têm efeitos secundários indesejados. Existem métodos menos invasores, e.g. tratamento por dilatação com balão com hipertermia ou micro-ondas, mas podem ter eficácia limitada.

A quimioterapia para doenças tais como cancro da próstata e BPH, ou os seus sintomas, inclui a administração de inibidores da síntese de androgénios tais como inibidores de 5 α redutase para inibir a produção de hormonas sexuais como testosterona ou di-hidrotestosterona, ou a administração de Naftopidil para disúria. O tratamento com inibidores de 5 α redutase foi associado a outros tratamentos tais como anti-estrogénios, inibidores de aromatase (estrogénio sintetase), inibidores de 17-hidroxi-esteróide desidrogenase ou agonistas ou antagonistas da hormona de libertação da hormona luteinizante. Outros tratamentos propostos incluem a administração de inibidores de aromatase tais como 4-hidroxiandrosteno-3,17-diona. A quimioterapia tipicamente tem desvantagens. Pode ter efeitos secundários indesejados, particularmente em doentes mais velhos ou pode torna-se ineficaz com o tempo. Foram descritos vários tratamentos e as suas limitações, ver, e.g., as patentes U.S. 4059630, 4310523, 4659695, 4970204, 5137882, 5372996, 5494914, 5561124, 5593981, 5994334, 5994335, 5998377, 6015806, 6093722, 6110906 e a publicação europeia EP 0 401 653.

Foram descritas as propriedades biológicas do AED e compostos esteróides relacionados, ver, e.g., as patentes U.S. números 2833793, 2911418, 3148198, 3471480, 3710795, 3711606, 3976691, 4268441, 4427649, 4542129, 4666898, 4898694, 4956355, 4978532, 5001119, 5043165, 5077284, 5028631, 5110810, 5157031, 5162198, 5175154, 5206008, 5277907, 5292730, 5296481, 5372996, 5387583, 5407684, 5424463, 5461042, 5478566, 5506223, 5518725, 5527788, 5527789, 5532230, 5559107, 5562910, 5583126, 5585371, 5587369, 5591736, 5593981, 5610150, 5635496, 5641766, 5641768, 5656621, 5660835, 5677366, 5686438, 5696106, 5700793, 5707983, 5709878, 5710143, 5714481, 5728688, 5736537, 5744462, 5753237, 5756482, 5776921, 5776923, 5780460, 5795880, 5798347, 5798348, 5804576, 5807848, 5807849, 5811418, 5824313, 5824668, 5824671, 5827841, 5837269, 5837700, 5843932, 5846963, 5856340, 5859000, 5869090, 5863910, 5872114, 5872147 e 5910407; patentes alemãs números 2035738 e 2705917; publicações PCT números WO 95/21617, WO 97/48367, WO 98/05338, WO 98/50040, WO 98/50041, WO 98/58650; publicação europeia número 0020029.

Foram descritos o receptor de androgénios e co-activadores tais como ARA₇₀, ARA₂₄, ARA₅₄, ARA₅₅ e Rb, e métodos para a sua utilização, e.g., patente U.S. 5789170, 5614620; publicação internacional número WO 00/04152.

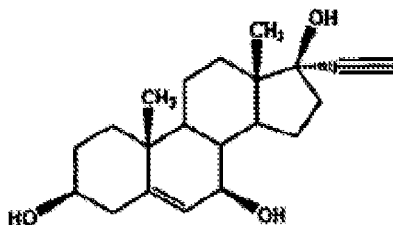
Os métodos e composições da invenção realizam um ou mais de vários objectos. Os objectos da invenção incluem

proporcionar métodos e composições para inibir a proliferação de células de cancro da próstata num indivíduo. Outros objectos são proporcionar métodos para preparar e utilizar composições e formulações compreendendo análogos do EED ou outros compostos aqui descritos. Objectos adicionais serão evidentes a partir da descrição.

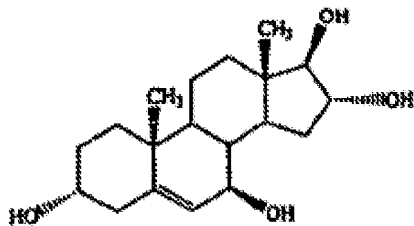
SUMÁRIO DA INVENÇÃO

De acordo com o objecto, a invenção proporciona a utilização como um medicamento de um composto, em que

(a) o composto é 17 α -etinilandrost-5-eno-3 β ,7 β ,17 β -triol (composto 1.2.1.3) que tem a estrutura

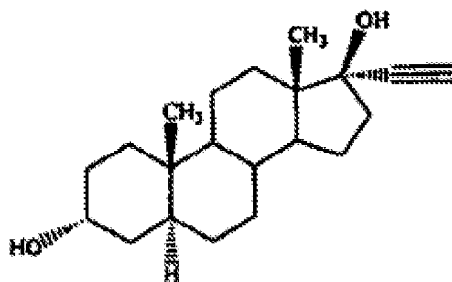


(b) o composto é androst-5-eno-3 α ,7 β ,16 α ,17 β -tetrol (composto 2.2.6.1) que tem a estrutura



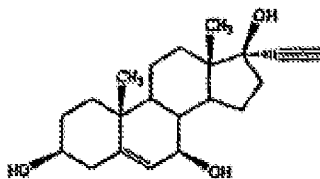
ou

(c) o composto é 17 α -etinilandrostano-3 α ,17 β -diol (composto 2.1.1.3) que tem a estrutura



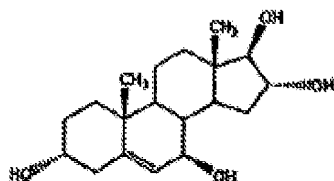
A invenção proporciona ainda a utilização de um composto para a preparação de um medicamento para o tratamento de hiperplasia benigna da próstata, cancro da próstata ou cancro da mama, em que

(a) o composto tem a estrutura



(composto 1.2.1.3),

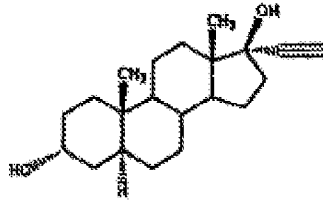
(b) o composto tem a estrutura



(composto 2.2.6.1),

ou

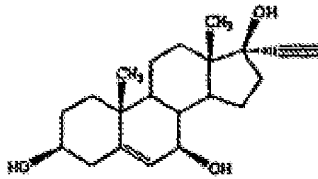
(c) o composto tem a estrutura



(composto 2.1.1.3),

A invenção proporciona ainda um composto que tem a estrutura

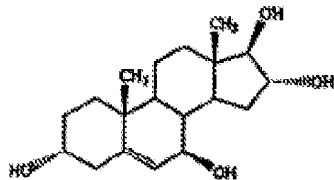
(a



(composto 1.2.1.3),

ou

(b

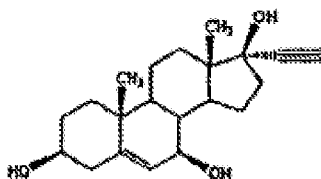


(composto 2.2.6.1).

O composto da invenção pode ser um pó ou um granulado.

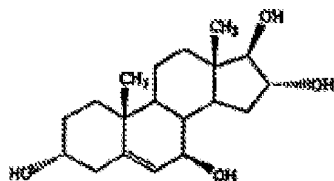
A invenção proporciona ainda uma formulação compreendendo um ou mais excipientes ou um composto em que o composto tem a estrutura

(a)



(composto 1.2.1.3),

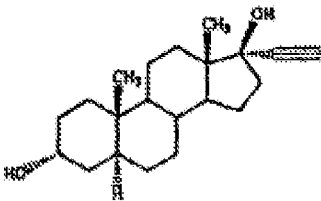
(b)



(composto 2.2.6.1),

ou

(c)



(composto 2.1.1.3).

DESCRIÇÃO PORMENORIZADA DA INVENÇÃO

Tal como aqui utilizados e salvo indicação em contrário ou implicação pelo contexto, os termos seguintes têm os significados aqui definidos.

Estereoisómeros. Os compostos de acordo com a invenção incluem isómeros ópticos enriquecidos ou resolvidos em qualquer ou todos os átomos de carbono assimétricos como evidenciados a partir das representações. Tanto as misturas racémicas como diastereoméricas, bem como os isómeros ópticos individuais, podem ser isolados ou sintetizados de modo a estarem substancialmente isentos dos seus parceiros enantioméricos ou diastereoméricos.

Um ou mais dos métodos seguintes são utilizados para aqui preparar os isómeros enantiomericamente enriquecidos ou puros. Os métodos estão listados aproximadamente pela sua ordem de preferência, i.e., uma pessoa normalmente utiliza a síntese estereoespecífica a partir de precursores quirais antes da resolução cromatográfica ou antes da cristalização espontânea.

A síntese estereoespecífica é utilizada com vantagem quando o material de partida quiral apropriado está disponível e são escolhidos passos reaccionais que não resultem em racemização indesejada nos sítios quirais. Uma vantagem da síntese estereoespecífica é que não produz enantiómeros indesejados que têm de ser removidos do produto final, baixando assim o rendimento global da síntese. Em geral, os especialistas na matéria vão compreender que materiais de partida e condições reaccionais devem ser utilizados para obter os isómeros enantiomericamente enriquecidos ou puros por síntese estereoespecífica.

Outro método de síntese de utilidade geral é a resolução cromatográfica de enantiómeros em resinas de cromatografia quirais. Estas resinas são empacotadas em colunas, vulgarmente chamadas colunas de Pirkle e estão disponíveis comercialmente. As colunas contêm uma fase estacionária quiral. O racemato é posto em solução e aplicado na coluna, e em seguida separado por HPLC. Ver por exemplo *Proceedings Chromatographic Society - International Symposium on Chiral Separations*, Sept. 3-4, 1987. Exemplos de colunas quirais que podem ser utilizadas para procurar a técnica de separação óptima vão incluir Diacel Chriacel OD, Regis Pirkle de D-fenilglicina covalente, Regis Pirkle de Tipo 1A, Astec Cyclobond II, Astec Cyclobond III, Serva Chiral D-DL=Daltosil 100, Bakerbond DNBLeu, Sumipax OA-1000, coluna Merck de triacetato de celulose, Astec Cyclobond I-Beta, ou Regis Pirkle de D-naftilalanina covalente. Nem todas estas colunas têm probabilidade de ser eficazes com todas as misturas racémicas. Contudo, os especialistas na matéria compreendem que pode ser necessária uma certa quantidade de pesquisa em rotina para identificar a fase estacionária mais eficaz. Quando se utiliza estas colunas é desejável utilizar formas de realização dos compostos desta invenção em que as cargas não estão neutralizadas, e.g., em que as funcionalidades ácidas tais como carboxilo não estão esterificadas ou amidadas.

Outro método envolve a conversão dos enantiómeros

da mistura em diastereómeros com auxiliares quirais e depois a separação dos conjugados por cromatografia em coluna normal. Este é um método muito adequado, particularmente quando a forma de realização contém carboxilo, amina ou hidroxilo livres que vão formar um sal ou ligação covalente com um auxiliar quiral. Os amino ácidos, ácidos orgânicos ou ácidos organossulfônicos quiralmente puros valem a pena ser explorados como auxiliares quirais, sendo todos eles bem conhecidos na arte. Podem ser formados sais com esses auxiliares ou podem ser ligados (mas reversivelmente) ao grupo funcional. Por exemplo, aminoácidos D ou L puros podem ser utilizados para amidar o grupo carboxilo de formas de realização da invenção que compreendem um grupo carboxilo e depois ser separados por cromatografia.

A resolução enzimática é outro método com valor potencial. Nesses métodos prepara-se derivados covalentes dos enantiómeros da mistura racémica, geralmente ésteres alquílicos inferiores (por exemplo de carboxilo) e depois expõe-se o derivado a clivagem enzimática, geralmente hidrólise. Para este método ter êxito deve ser escolhida uma enzima que é capaz de clivagem estereoespecífica, por isso é frequentemente necessário testar por sistema várias enzimas. Se se trata de ésteres a ser clivados, então selecciona-se um grupo de esterases, fosfatases e lipases e determina-se a sua actividade sobre o derivado. As esterases típicas são do fígado, pâncreas ou outros órgãos de animais e incluem esterase de fígado de porco.

Se a mistura enantiomérica se separa da solução ou de um bolo de fusão como um conglomerado, i.e., uma mistura de cristais enantiomericamente puros, então os cristais podem ser separados mecanicamente, produzindo assim a preparação enriquecida enantiomericamente. Contudo, este método não é prático para preparações em grande escala e tem valor limitado para compostos racémicos verdadeiros.

A síntese assimétrica é uma outra técnica para a obtenção de enriquecimento enantiomérico. Por exemplo, faz-se reagir um grupo protector quiral com o grupo a ser protegido e deixa-se equilibrar a mistura reaccional. Se a reacção for enantiomericamente específica, então o produto vai ficar enriquecido nesse enantiómero.

Pode encontrar-se mais orientações para separação de misturas enantioméricas, a título de exemplo e não de limitação, em "Enantiomers, Racemates, and resolutions", Jean Jacques, Andre Collet e Samuel H. Wilen (Krieger Publishing Company, Malabar, FL, 1991, ISBN 0-89464-618-4): Parte 2, *Resolution of Enantiomer Mixture*, páginas 217-435; mais especialmente, secção 4, *Resolution by Direct Crystallization*, páginas 217-251, secção 5, *Formation and Separation of Diastereomers*, páginas 251-369, secção 6, *Crystallization-Induced Asymmetric Transformations*, páginas 369-378 e secção 7, *Experimental Aspects and Art of Resolutions*, páginas 378-435; ainda mais particularmente, secção 5.1.4, *Resolution of Alcohols, Transformation of*

Alcohols into Salt-Forming Derivatives, páginas 263-266, secção 5.2.3, *Covalent Derivatives of Alcohols, Thiols, and Phenols*, páginas 332-335, secção 5.1.1, *Resolution of Acids*, páginas 257-259, secção 5.1.2, *Resolution of Bases*, páginas 259-260, secção 5.1.3, *Resolution of Amino Acids*, página 261-263, secção 5.2.1, *Covalent Derivatives of Acids*, página 329, secção 5.2.2, *Covalent derivatives of Amines*, páginas 330-331, secção 5.2.4, *Covalent Derivatives of Aldehydes, Ketones, and Sulfoxides*, páginas 335-339, e secção 5.2.7, *Chromatographic Behavior of Covalent Diastereomers*, páginas 348-354.

Os compostos de acordo com a invenção são úteis para tratar patologias que estão associadas ou que respondem à modulação da actividade de AR, incluindo cancro da próstata, acne, calvície, hirsutismo, hipogonadismo e cancro da mama. Estes compostos podem ser opcionalmente utilizados em terapêuticas de associação para o tratamento de qualquer dessas doenças ou patologias. As associações incluem composto(s) de acordo com a invenção associados a cirurgia, radioterapia, agentes citotóxicos, agentes citostáticos ou terapêuticas hormonais, incluindo qualquer das terapêuticas ou tratamentos aqui descritos ou em qualquer das referências aqui citadas.

Os compostos de acordo com a invenção também são úteis para determinar se o AR ou outro receptor de esteróides, e.g. um receptor órfão, estão presentes numa população de células ou extracto celular. Nestas aplica-

ções, os compostos vão tipicamente estar marcados, e.g. radiomarcados (^{14}C , ^3H , ^{32}P , ^{35}S ou um isótopo radioactivo do iodo) ou marcados com uma unidade reticulante. Em aplicações relacionadas, os compostos são úteis como padrões de referência para comparar a sua capacidade de modular a actividade do AR com capacidade de moduladores do AR conhecidos, como o AED. Nessas aplicações, um composto de acordo com a invenção é utilizado num sistema de ensaio adequado, e.g. um que compreende células (*in vitro* ou *in vivo*) que contêm AR funcionais, um gene que responde a AR, e.g. ornitina carboxilase, que pode ser convenientemente doseado, um composto de acordo com a invenção e um composto de teste. Nesses métodos, é examinado o efeito do composto de acordo com a invenção na capacidade do composto de teste para modular o AR, normalmente através de um sistema devidamente controlado, e.g. com concentrações variadas do composto de acordo com a invenção ou concentrações variadas do composto de teste. Estão descritos sistemas de ensaio, ou componentes seus que compreendem o AR, ver e.g., patentes U.S. 4981784 e 5071773, Evans et al., *Science* 240:889-895 1988, T. Berger et al., *J. Steroid Biochem. Molec. Biol.* 41:773-778 1992, J. Simenthal et al., *J. Biol. Chem.* 266:510-514 1991, G. Scalabrino et al., *Mol. Cell. Endocrinol.* 77:1-35 1991, O. Janne et al., *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 438:72-84 1984 e R. Djurhuus, *Anal. Biochem.* 113:352-355 1981.

Uma dose eficaz de um composto de acordo com a invenção ou o "ingrediente activo", para utilização em

aplicações terapêuticas, e.g. tratamento de cancro da próstata, vai depender em certa medida pelo menos de factores como o estado da doença a ser tratada, se o(s) composto(s) está/estão a ser utilizado(s) profilacticamente (doses mais baixas) ou a gravidade da doença maligna, o método de administração, bem como a formulação farmacêutica. Esses factores vão ser determinados pelo médico através de estudos convencionais de escalonamento da dose. Normalmente a dose administrada ao indivíduo vai ser de cerca de 0,03 a cerca de 30 mg/kg de peso corporal por dia, geralmente cerca de 0,1 a cerca de 10 mg/kg de peso corporal por dia. Por exemplo, para administração tópica a dose candidata diária para um ser humano adulto de aproximadamente 70 kg de peso corporal vai variar de cerca de 1 mg a cerca de 750 mg, geralmente entre cerca de 5 mg e cerca de 300 mg, geralmente entre cerca de 30 mg e cerca de 250 mg. Uma dose diária pode tomar a forma de doses ou sítios de administração únicos ou múltiplos. Para um composto de fórmula 1 ou que é administrado parentericamente, e.g., i.v., s.c. ou i.m., a dose geralmente vai ser menor (e.g. cerca de 0,02 a cerca de 6 mg/kg) do que uma dose administrada por via oral.

As formulações farmacêuticas que compreendem um composto de acordo com a invenção tipicamente incluem um ou mais veículos ou excipientes e opcionalmente outros ingredientes terapêuticos. O ou os veículos serão geralmente "aceitáveis" no sentido de serem compatíveis com os outros ingredientes da formulação e fisiologicamente

inócuos para quem os recebe. Esses veículos ou excipientes são conhecidos, e.g. enchimentos, lubrificantes, aglutinantes e vários excipientes líquidos para formulações líquidas. Os veículos adequados incluem os descritos nas referências aqui citadas.

As formulações adequadas incluem soluções aquosas ou oleosas do ingrediente activo. As formulações adequadas para administração parentérica do ingrediente activo incluem composições aquosas e não aquosas em que o ingrediente activo está dissolvido ou suspenso em solução. Essas formulações vão tipicamente compreender cerca de 25-300 mg/mL do ingrediente activo, geralmente cerca de 40-200 mg/mL. As formulações adequadas para administração parentérica incluem soluções injectáveis estéreis aquosas e não aquosas que podem conter anti-oxidantes, tampões, bacteriostatos ou solutos que tornam a formulação isotónica com o sangue de quem a recebe. Outras formulações parentéricas podem incluir suspensões estéreis aquosas e não aquosas que podem incluir agentes de suspensão e agentes espessantes.

As formulações adequadas para administração tópica incluem cremes ou pomadas em que um composto de fórmula 1 ou 2 é dissolvido ou suspenso num veículo adequado, especialmente num solvente ou veículo não aquoso para o ingrediente activo. O ingrediente activo tipicamente está presente nessas formulações numa concentração de 0,5 a 20% p/p, frequentemente de 0,5 a 10% p/p. Essas formulações

são adequadas para utilização em aplicações tais como o tratamento da calvície masculina ou acne.

As formulações adequadas para administração bucal ou sublingual incluem pastilhas compreendendo o ingrediente activo, que está opcionalmente presente numa base aromatizada tal como sacarose e acácia ou tragacanta. As pastilhas podem compreender o ingrediente activo numa base inerte como gelatina e glicerina, ou sacarose e acácia, e as soluções para lavagem da boca podem compreender o ingrediente activo num veículo líquido adequado.

As formulações para administração rectal podem ser apresentadas como um supositório com uma base adequada compreendendo por exemplo manteiga de cacau ou um salicilato.

As formulações adequadas para administração intrapulmonar ou nasal vão ter um tamanho das partículas por exemplo na gama de 0,01 a 200 micrometros (incluindo tamanhos das partículas numa gama entre 0,01 e 500 micrometros em incrementos de 0,1 micrometros, como 0,1, 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, 1, 2, 5, 30 micrometros, 35 micrometros, etc.), que é administrada por inalação através das vias nasais ou por inalação através da boca de modo a atingir os vários brônquios ou sacos alveolares. As formulações adequadas para administração em aerossol ou em pó seco podem ser preparadas de acordo com métodos convencionais e podem ser administradas com outros agentes

terapêuticos, tais como compostos até então utilizados no tratamento ou profilaxia de cancro da próstata.

As formulações adequadas para administração vaginal podem ser apresentadas como pessários, tampões, cremes, géis, pastas, espumas ou formulações para pulverização contendo além dos ingredientes activos veículos que são conhecidos na arte como sendo apropriados.

As formulações compreendendo um ingrediente activo são apresentadas em dose unitária ou em recipientes multi-doses, por exemplo ampolas e frascos selados, e podem ser armazenadas em estado seco por congelação (liofilizado) requerendo apenas a adição do veículo líquido estéril, por exemplo água para injeção, imediatamente antes da utilização. As soluções e suspensões injectáveis extemporâneas são preparadas a partir de pós, granulados e comprimidos estéreis do tipo descrito anteriormente. As formulações de dosagem unitária preferidas são as que contêm uma dose diária ou subdose diária unitária, tal como aqui descrito, ou uma sua fracção apropriada, do ingrediente activo.

Deve entender-se que, para além dos ingredientes especificamente mencionados acima, as formulações desta invenção podem incluir outros agentes convencionais da arte relativos ao tipo de formulação em causa, por exemplo, os adequados para administração oral podem incluir agentes aromatizantes ou corantes.

A invenção proporciona ainda composições veterinárias compreendendo pelo menos um ingrediente activo conjuntamente com um veículo veterinário.

Os veículos veterinários são materiais úteis para fins de administração da composição e podem ser materiais sólidos, líquidos ou gasosos, que de resto são materiais inertes ou aceitáveis na arte veterinária e são compatíveis com o ingrediente activo. Estas composições veterinárias podem ser administradas por via oral, parentérica ou por qualquer outra via desejada.

Os ingredientes activos podem ser utilizados para proporcionar formulações farmacêuticas de libertação controlada contendo um ingrediente activo ("formulações de libertação controlada") em que a libertação do ingrediente activo é controlada e regulada para permitir administração com menos frequência ou para melhorar o perfil farmacocinético ou de toxicidade de um determinado ingrediente activo.

As formulações incluem as adequadas para qualquer das vias de administração anteriores. As formulações podem ser convenientemente apresentados em forma de dosagem unitária e podem ser preparadas por qualquer dos métodos conhecidos na arte da farmácia. As técnicas e formulações são genericamente encontradas em *Remington's Pharmaceutical Sciences* (Mack Publishing Co., Easton, Pa.). Esses métodos incluem o passo de associar o ingrediente activo ao veículo

que constitui um ou mais ingredientes acessórios ou excipientes. Em geral, as formulações são preparadas por associação uniforme e íntima do ingrediente activo com veículos líquidos ou veículos sólidos finamente divididos ou ambos, e depois, se necessário, é dada forma ao produto.

As formulações da invenção adequadas para administração oral são preparados como unidades discretas tais como cápsulas, hóstias ou comprimidos, contendo cada um deles uma quantidade predeterminada do ingrediente activo; como um pó ou um granulado; como uma solução ou uma suspensão num líquido aquoso ou num líquido não aquoso; ou como uma emulsão líquida de óleo em água ou uma emulsão líquida de água em óleo. O ingrediente activo também pode ser apresentada como um bolus, electuário ou pasta.

Um comprimido é feito por compressão ou moldagem, opcionalmente com um ou mais ingredientes acessórios. Os comprimidos submetidos a compressão podem ser preparados por compressão numa máquina apropriada do ingrediente activo numa forma de escoamento livre tal como um pó ou grânulos, opcionalmente misturado com um aglutinante, lubrificante, diluente inerte, conservante, tensoactivo ou agente dispersante. Os comprimidos moldados podem ser feitos por moldagem numa máquina apropriada de uma mistura do ingrediente activo em pó humedecido com um diluente líquido inerte. Os comprimidos podem ser opcionalmente revestidos ou ranhurados e opcionalmente são formuladas de modo a proporcionar liberação lenta ou controlada do ingrediente activo a partir deles.

Se desejado, a fase aquosa de uma base de creme pode incluir, por exemplo, álcool poli-hidroxiado, i.e. um álcool que tem dois ou mais grupos hidroxilo tais como propileno glicol, butano-1,3-diol, manitol, sorbitol, glicerol e polietileno glicol e as suas misturas. As formulações tópicas podem desejavelmente incluir um composto que aumenta a absorção ou penetração do ingrediente activo através da pele ou de outras áreas afectadas. Exemplos desses promotores da penetração cutânea incluem sulfóxido de dimetilo e análogos relacionados.

A fase oleosa das emulsões desta invenção pode ser constituída a partir de ingredientes conhecidos de um modo conhecido. Enquanto a fase pode incluir apenas um emulsionante (também conhecido como um emulgente), desejavelmente compreende uma mistura de pelo menos um emulsionante com uma gordura ou um óleo ou com ambos uma gordura e um óleo. Preferencialmente, está incluído um emulsionante hidrófilo conjuntamente com um emulsionante lipófilo que actua como um estabilizador. Também é preferido incluir um óleo e uma gordura. Conjuntamente, o ou os emulsionantes com ou sem estabilizador(es) compõem a chamada cera emulsionante, e a cera conjuntamente com o óleo e gordura constituem a chamada base emulsionante para pomada que forma a fase dispersa oleosa das formulações de creme.

Os emulgentes e estabilizadores de emulsões

adequados para utilização na formulação da invenção incluem Tween[®] 60, Span[®] 80, álcool cetosteárico, álcool benzílico, álcool mirístico, mono estearato de glicerilo e lauril sulfato de sódio.

A escolha de óleos ou gorduras adequados para a formulação baseia-se em obter as propriedades cosméticas desejadas. O creme deve ser de preferência um produto não oleoso, que não mancha e lavável com consistência adequada para evitar que vaze de tubos ou outros recipientes. Pode utilizar-se ésteres alquílicos mono- ou di-básicos de cadeia linear ou ramificada tais como di-isoadipate, estearato de isocetilo, diéster de propileno glicol e ácidos gordos de coco, álcool miristato de isopropilo, oleato de decilo, palmitato de isopropilo, estearato de butilo, palmitato de 2-etil-hexilo ou uma mistura de ésteres de cadeia ramificada conhecida como Crodamol CAP, sendo os três últimos os ésteres preferidos. Estes podem ser utilizados sós ou em associação, dependendo das propriedades necessárias. Alternativamente utiliza-se lípidos de alto ponto de fusão tais como parafina branca mole e/ou parafina líquida e outros óleos minerais.

Métodos de síntese exemplificativos. A título exemplificativo e não limitativo, utiliza-se os seguintes métodos para preparar o um ou mais compostos aqui descritos. Os materiais de partida ou variações directas dos esquemas encontram-se, e.g., nas seguintes referências: patentes US 4602008, 4989694, 5001119, 5175154, 5571795, 5627270, 5681964, 5714481, 5744453, 5939545, 5939570,

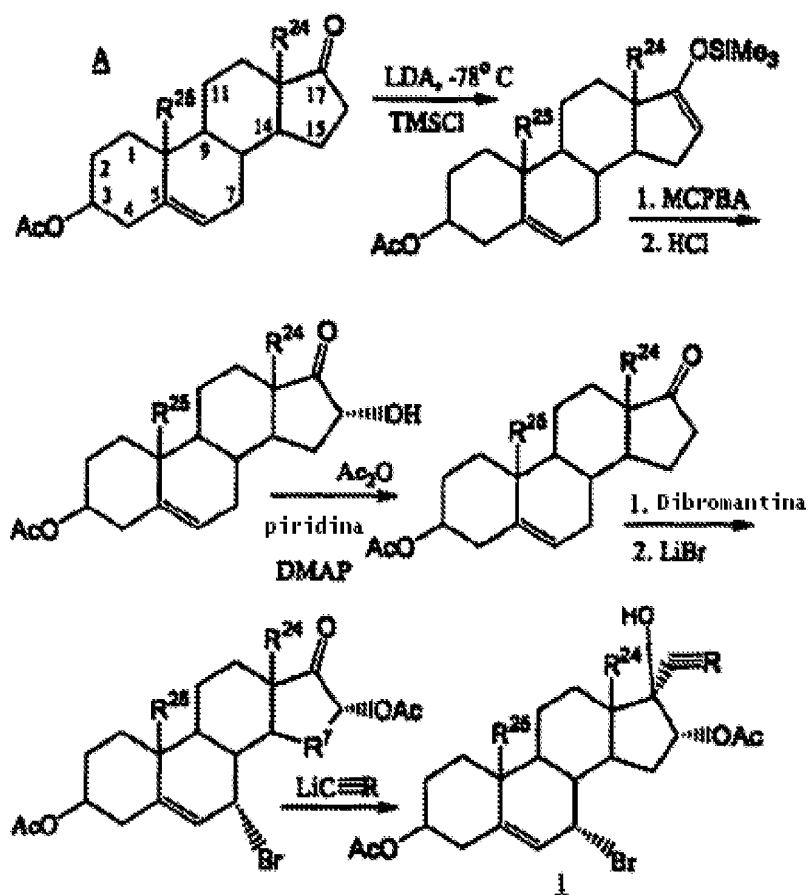
5962442, 5962443, 5994568; publicações internacionais números WO 9408588, WO 9508558, WO 9508559, WO 9638466, WO 9809450; e pedidos de patente europeia EP 232788, EP 430078.

Esquema 1. Os princípios de síntese de compostos de acordo com a invenção estão apresentados nos esquemas adiante. Quando R²⁴ e R²⁵ são ambos -CH₃ na configuração β, H nas posições 9 e 14 estão na configuração α, o acetato na posição 3 está na configuração β e H na posição 8 está na configuração β, o primeiro composto no esquema 1 é acetato de DHEA. Os grupos acetato nas posições 3, 7, 16, 17 ou outras neste esquema e noutros esquemas aqui descritos podem independentemente ser outras unidades éster tal como aqui descrito, e.g., ésteres em C₂₋₅₀ incluindo -C(OKCH₂)₀₋₄-(CF₂)₀₋₄-CF₃, incluindo -C(O)-CF₃, -C(O)-C₂₋₂₉ alquilo opcionalmente substituído, -C(O)-CH₂-C₂₋₂₈ alcenilo opcionalmente substituído, -C(O)-CH₂-C₂₋₂₈ alcinilo opcionalmente substituído, -C(OKCH₂)₀₋₆ fenilo substituído, ou -C(O)-(CH₂)₀₋₆-heterociclo opcionalmente substituído ou outras unidades orgânicas tal como aqui descrito ou nas referências citadas.

Os substituintes típicos para estas unidades orgânicas são como aqui descrito, e.g., um, dois, três ou mais seleccionados independentemente de -O-, =O, hidroxilo opcionalmente protegido, -S-, tiol opcionalmente protegido, -NH-, -NH₂ opcionalmente protegido, -C(O)OH opcionalmente protegido, -C(O)-NH-, -C(O)-NH₂, -NH₂-C(O)-H, -NH₂-C(O)-C₀₋₄H₁₋₉, -NH₂-C(O)-O-C₀₋₄H₁₋₉, -CN, -NO₂, -N₃ ou halogéneo. Os

grupos reactivos são protegidos consoante necessário, e.g., =O estaria normalmente protegido na reacção de LiCR que é utilizada para produzir o composto 1 no esquema 1 adiante.

Esquema 1

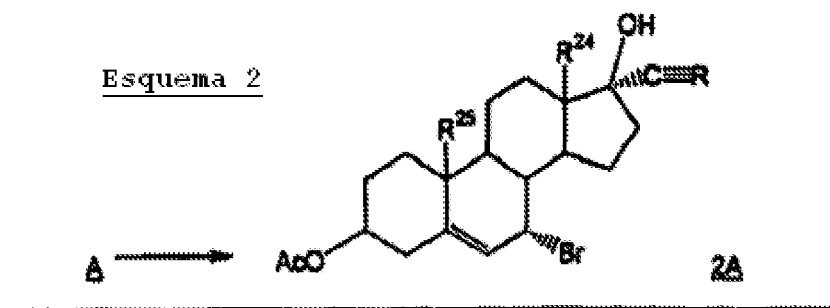


Abreviaturas:

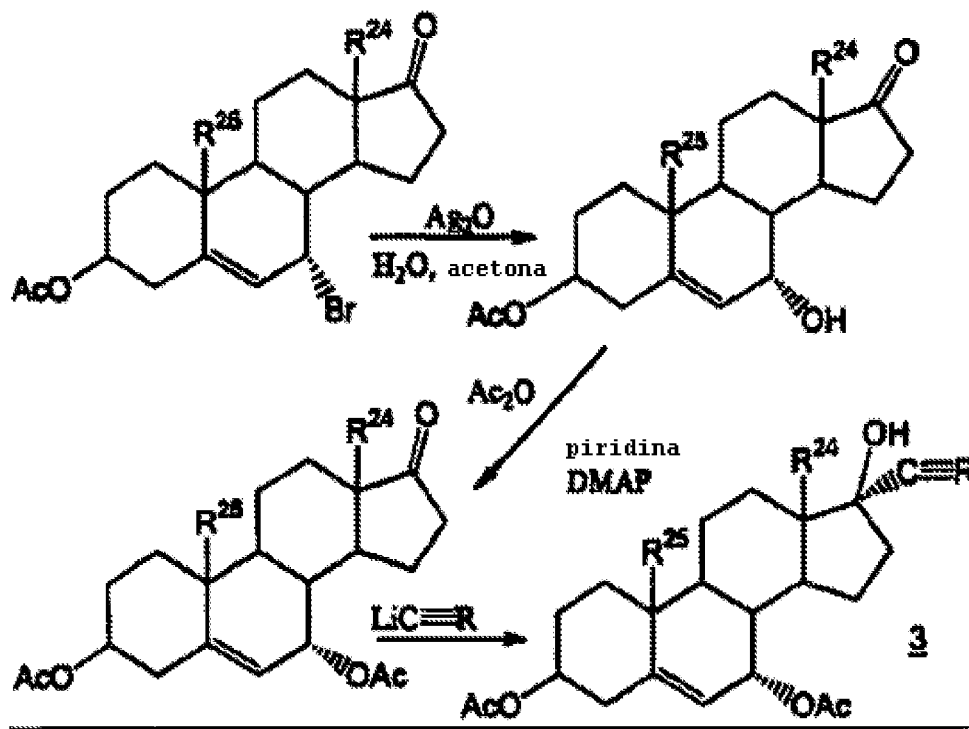
LDA = diisopropilamida de lítio; MCPBA = ácido m-cloroperbenzóico; TMScl = trimetilclorossilano; DMAP = 4-dimetilaminopiridina; Dibromantina = 1,3-dibromo-4,4-dimetil-hidantoina.

R = CRA; RA = -H ou uma unidade orgânica em C₁-C₅₀ tal como aqui descrita, e.g. -H, -C₁-C₂₀ alquilo opcionalmente substituído; -C₁-C₂₀ alcenilo opcionalmente substituído; -C₁-C₂₀ alcínilo opcionalmente substituído; -(CH₂)₀₋₄-fenilo opcionalmente substituído ou -(CH₂)₀₋₆ heterociclo opcionalmente substituído.

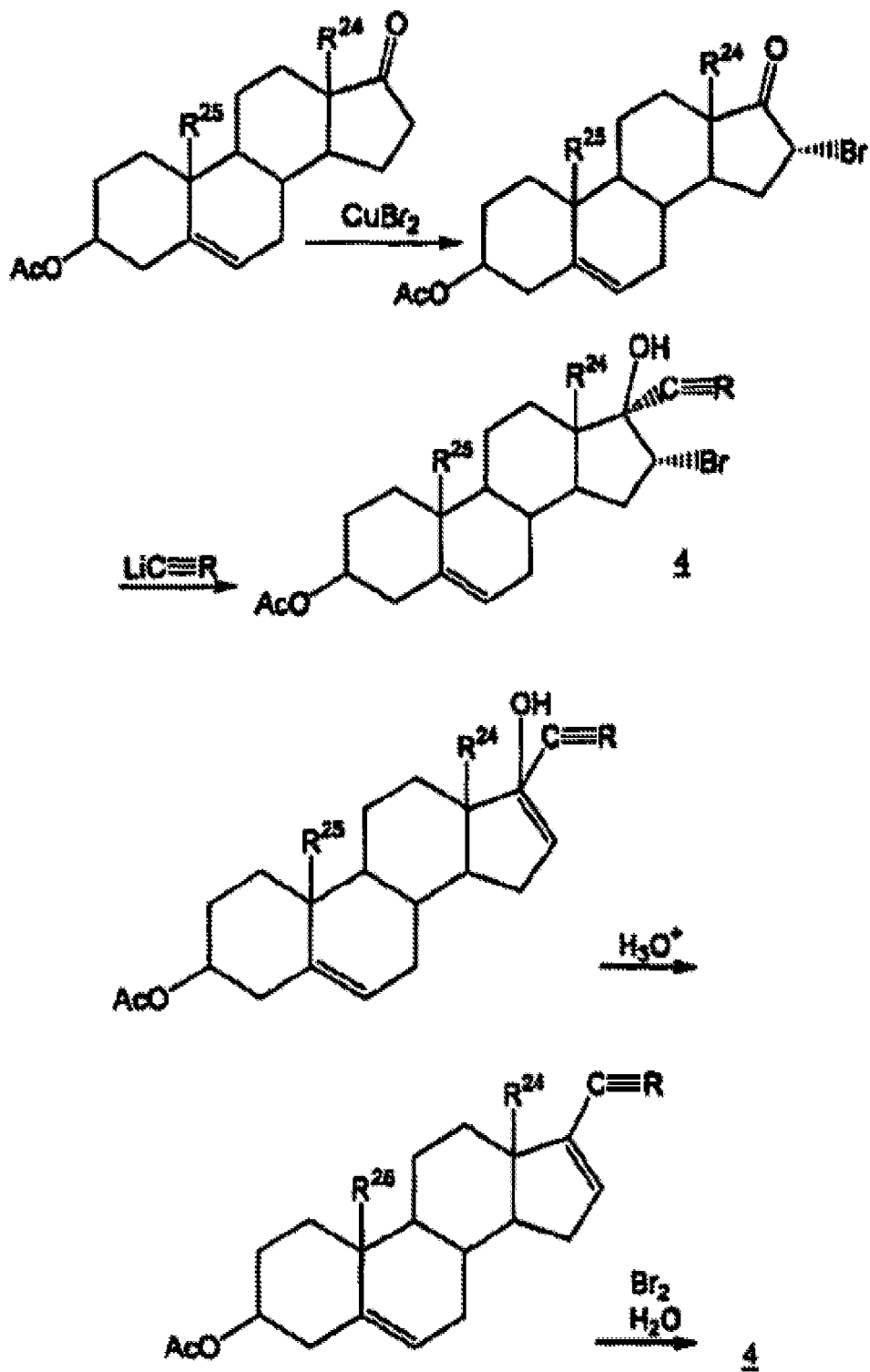
Esquema 2. Os compostos de fórmula 2A são preparados a partir de compostos de estrutura A ilustrados no esquema 1 utilizando os dois últimos passos do Esquema 1: (1) dibromantina, (2) LiBr, (3) Li-C≡R, em que R é CR^A e R^A é -H ou -C₁₋₁₂ alquilo opcionalmente substituído. Quando H nas posições 9 e 14 estão na configuração α e H na posição 8 está na configuração β, o primeiro composto do Esquema 1 é acetato de DHEA. Os substituintes típicos para a unidade alquilo R^A inclui um, dois ou mais seleccionados independentemente de -O-, =O opcionalmente protegido, hidroxilo opcionalmente protegido, -S-, tiol opcionalmente protegido, -NH-, -NH₂ opcionalmente protegido, C(O)OH opcionalmente protegido, -C(O)-NH-, -NH₂-C(O)-H, -NH₂-C(O)-C₀₋₄H₁₋₉, -NH₂-C(O)O-C₀₋₄H₁₋₉, -CN, -NO₂, -N₃ ou halogéneo.



Esquema 3. A bromação alílica em C-7 é realizada essencialmente como ilustrado no Esquema 1. R e R^A são como definidos nos Esquemas 1 e 2.

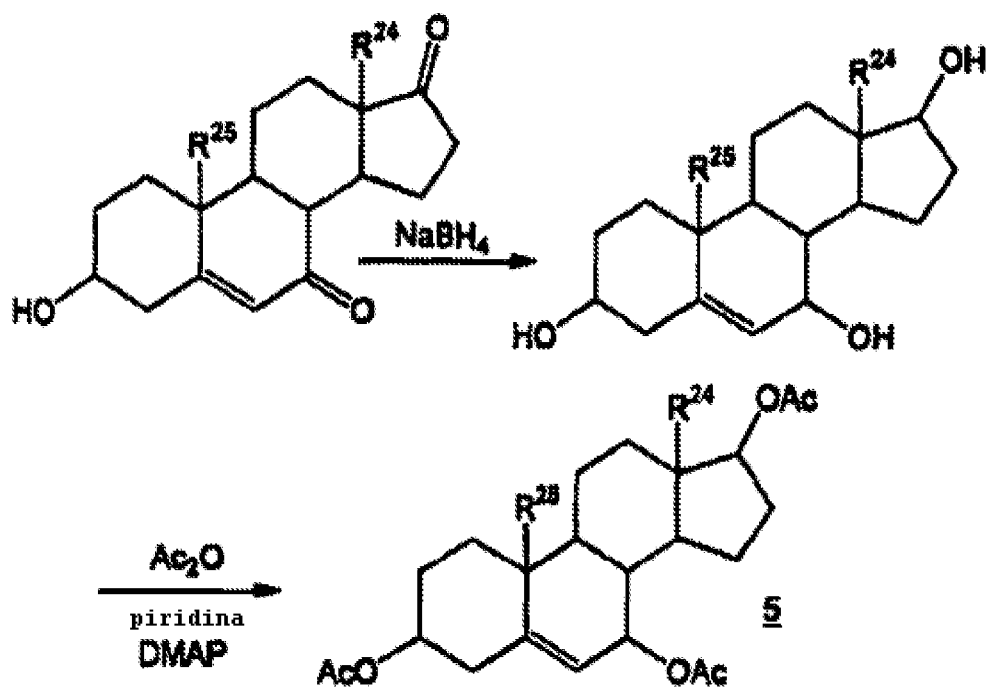
Esquema 3

Esquema 4. A adição de reagente de lítio (acetileto de lítio quando R é -CH) ao >C=O na posição 17 na presença do brometo em C-16 resulta na formação de epóxido ou num rearranjo de pinacol. Alternativamente, os compostos sem a estrutura 3 podem ser desidratados por catálise ácida fraca para formar compostos de fórmula 4 por tratamento do alceno com Br₂, H₂O. R e R^A são como definidos nos Esquemas 1 e 2.

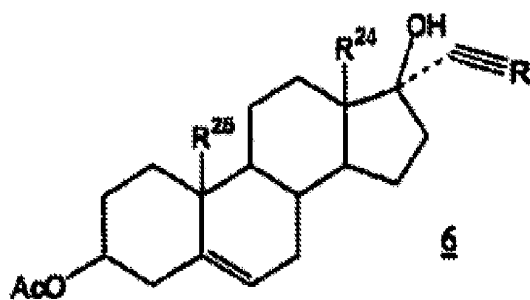
Esquema 4

Esquema 5. O boro-hidreto de sódio dá uma mistura de epímeros em C-7, que pode ser separada por métodos correntes, e.g., HPLC, TLC ou cromatografia em coluna. Para se obter o composto 7-OH puro, é realizada a bromação alílica seguida por hidrólise, e.g., essencialmente como descrito nos Esquemas 1 e 3.

Esquema 5

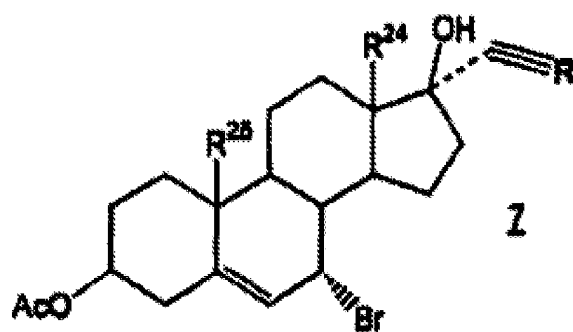


Esquema 6

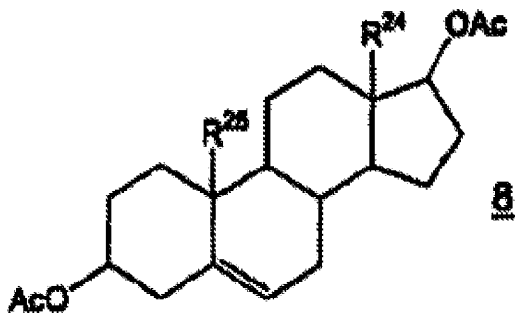


Esquema 6. Os compostos de fórmula 6 são preparados por tratamento do acetato com acetileto de lítio como nos Esquemas 1, 2, 3 ou 4. R e R^A são como definidos nos Esquemas 1 e 2.

Esquema 7. Os compostos de fórmula 7 são preparados a partir do 3-acetato com reagentes descritos nos Esquemas 1 e 4. R e R^A são como definidos nos Esquemas 1 e 2.

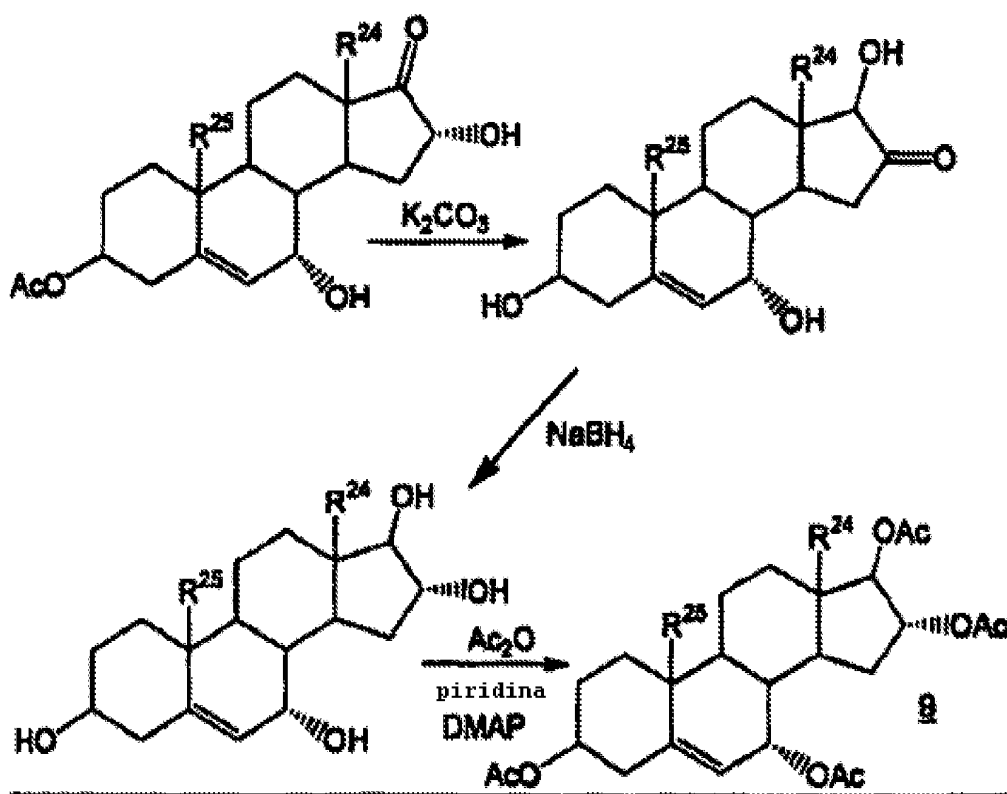


Esquema 8. Os compostos de fórmula 8 são preparados a partir dos compostos de fórmula A por redução com boro-hidreto de sódio em C-17 seguida por acetilação.



Esquema 9. O material de partida é preparado utilizando reacções descritas nos Esquemas 1 e 3.

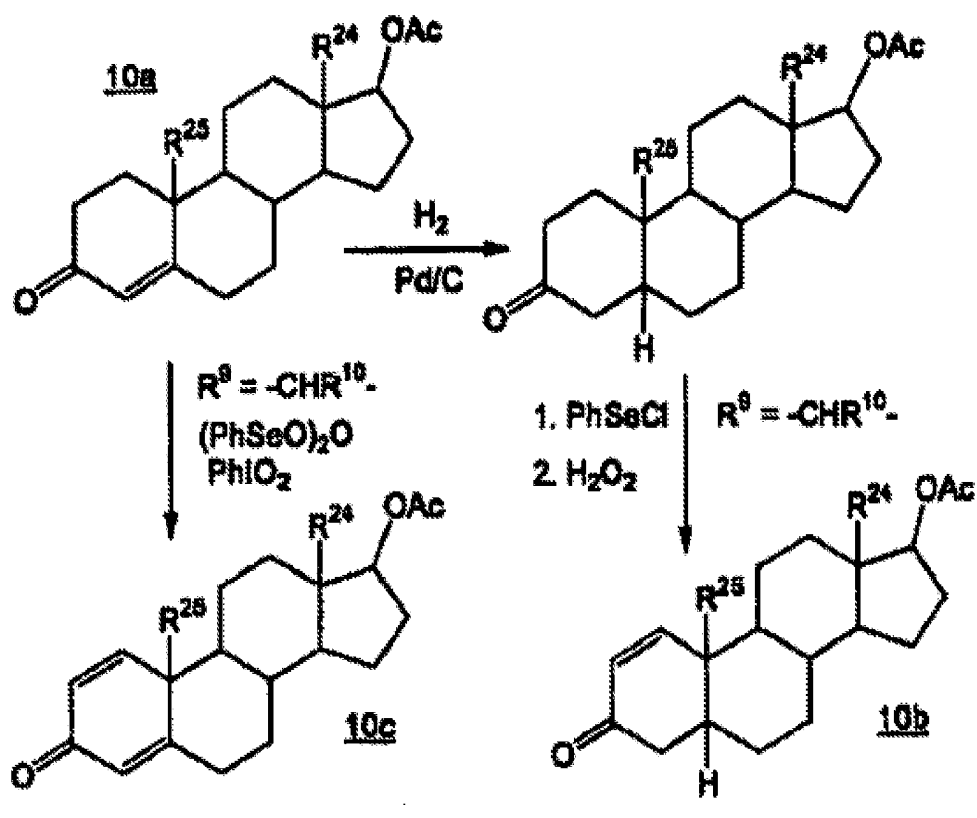
Esquema 9



Esquema 10. A redução e acetilação em C-3 e a hidrólise e oxidação em C-17 vão permitir que os compostos de fórmula 10a e 10b sofram funcionalização tal como ilustrado nos Esquemas 1-9 em C-3, C-16 e C-17. O 7-oxo acetato pode ser substituído pelo 3-acetato do composto de fórmula A e funcionalização em C-3, C-16 e C-17 é conseguida analogamente para compostos 7-oxo utilizando as reacções ilustradas nos esquemas 1-9.

O tratamento de 10a com LDA, seguido pela alquilações do enolato permite a introdução de cadeias laterais, que podem ser, e.g., C₁-C₂₀ alquilo (metilo, etilo), C₁-C₂₀ alcenilo (CH₂=CH-(CH₂)₀₋₆-), benzilo, -(CH₂)₁₋₄-O-(CH₂)₀₋₄CH₃.

Esquema 10



Os esquemas 1-9 mostram a introdução da função hidroxilo nas posições ilustradas. Os métodos para converter hidroxilo noutros grupos funcionais são realizados essencialmente como descrito, e.g., nas referências aqui citadas. Por exemplo, ésteres, compostos de fórmula 1-10c, tais como -O-C(O)-R⁸ em que R⁸ é uma unidade orgânica em C₁₋₅₀, são preparados a partir do álcool

esteroidal por tratamento com o anidrido de ácido ou cloreto de ácido apropriado ($R^8-C(O)-Cl$) para formar qualquer éster desejado. Os éteres, tais como $-O-R^8$, são preparados a partir de álcoois por formação do alcóxido de metal alcalino (Na^+ ou K^+) seguida por tratamento com um iodeto primário ou secundário (R^8-I). Os tionoésteres, $R^8-C(S)-O-$, são preparados por tratamento do éster $R^8-C(O)-O-$ com reagente de Lawesson.

Os sulfatos, $NaO-S(O)(O)-O-$, $R^8-O-S(O)(O)-O-$, e.g., $CH_3(CH_2)_{0-18}-S(O)(O)-O-$, são preparados por tratamento de álcoois com ácido clorossulfônico seguido por NaOH ou alternativamente por oxidação de sulfitos utilizando $KMnO_4$. Se se desejar o éster alquílico (e.g., metílico) pode utilizar-se clorossulfonato de alquilo (clorossulfonato de metilo). Os sulfitos $HO-S(O)-O-$ e sais de amónio $NH_4O-S(O)-O$, ou ésteres $R^8O-S(O)-O-$ (e.g., $CH_3O-S(O)-O-$) são preparados por métodos correntes. Os sais de amónio são preparados por tratamento de álcoois com amoníaco e dióxido de enxofre. Os ésteres tais como ésteres alquílicos, alcenílicos e alcinílicos (e.g., éster metílico) são obtidos quando álcoois são tratados com clorossulfito de alquilo (e.g., clorossulfito de metilo), clorossulfito de alcenilo ou clorossulfito de alcinilo na presença de uma base adequada tal como trietilamina. Os fosfoésteres, $R^8O-P(OR^{PR})(O)-O-$ são preparados por tratamento do álcool com clorofosfato de dietilo na presença de Na_2CO_3 . Alternativamente, se o álcool for tratado com diésteres do ácido fosfórico na presença de trifenilfosfina (PPh_3) e

azodicarboxilato de dietilo (DEAD) são formados os correspondentes triésteres com inversão (reacção de Mitsunobu).

Os fosfotioésteres, $R^8O-P(SR^{PR})(O)-O-$ são produzidos por tratamento de álcoois com o análogo monotio de clorofosfato de dietilo tal como descrito para fosfoésteres, dando os fosfotioésteres. Os carbonatos, $R^8O-C(O)-O-$ são produzidos a partir do correspondente álcool esteroidal utilizando o cloroformato ($R^8-C(O)-Cl$), e.g., cloroformatos de C_{1-20} alquilo, alcenilo ou alcinilo (e.g. $CH_3(CH_2)_{0-5}-C(O)Cl$). Os carbamatos, $R^8-NH-C(O)-O-$ são preparados a partir de álcoois esteroidais por tratamento com isocianatos ($R^8N=C=O$) ou NaOCN na presença de ácido trifluoroacético. Os ésteres de aminoácidos, $ZNX-CHY-C(O)-O-$ são produzidos por condensação do álcool esteroidal com o cloreto de ácido do aminoácido N-prottegido. A oxidação de grupos hidroxilo que estão ligados ao núcleo esteróide é utilizada para obter cetonas e funcionalidades relacionadas. Por exemplo, a conversão de álcoois em cetonas pode ser feita utilizando uma variedade de agentes oxidantes tais como CrO_3 em AcOH, ou cloroformato de piridínio, dicromato de piridínio ou cloreto de oxalilo com trietilamina (oxidação de Swern). As tioacetonas ($=S$) são preparadas por tratamento de cetonas com reagente de Lawesson (2,4-dissulfureto de 2,4-bis(4-metoxifenil)-1,3,2,4-ditiadifosfetano; disponível comercialmente da Aldrich). Os tioacetais, $-C(SR^8)(SR^8)-$, são preparados a partir de cetonas ($-C(O)-$) por tratamento com tióis R^8-SH

em condições de catálise ácida (e.g., HCl). Os fosfonoésteres, $\text{RO-P(OR}^{\text{PR}}\text{)(O)-}$, são produzidos por adição do diéster do ácido fosfórico a cetonas na presença de KF para dar hidroxí fosfonoésteres. Opcionalmente pode remover-se o grupo hidroxilo utilizando uma sequência de desidratação e hidrogenação.

A substituição de grupos hidroxilo é utilizada para produzir diversas funcionalidades. Por exemplo, os tióis, -SH , são preparados a partir de álcoois por conversão do álcool com inversão no brometo utilizando PBr_3 . O tratamento do brometo com tioureia seguido por NaOH dá o tiol. Os tioéteres, $\text{R}^{\text{S}}\text{-S-}$, são preparados a partir de tióis por tratamento com NaOH e o halogeneto necessário, e.g., halogeneto de alquilo. Alternativamente, os derivados de álcoois tais como tosilatos ou mesilatos podem ser deslocados por aniões tiolato, $\text{R}^{\text{S}}\text{-S}^-$, para dar o tioéter. Os tioéteres, R-C(O)-S- , são preparados por tratamento do tosilato (mesilato) do álcool com o sal de sódio do tioácido.

A substituição de grupos hidroxilo pode ser utilizada para produzir tanto ésteres, $\text{R}^{\text{O}}\text{-C(O)-}$, como amidas, $\text{NHR}^{\text{S}}\text{-C(O)-}$, ligados ao esteróide em átomos de carbono. Para amidas e aminas, R^{S} é -H , um grupo protector ou uma unidade orgânica em C_{1-50} . Estas são sintetizadas a partir do brometo esteroidal com inversão por deslocamento com NaCN. O grupo cianeto pode ser hidrolisado à amida ou ao ácido. O ácido é esterificado ou tratado por reacções de

acoplamento peptídico correntes com um aminoácido O-protegido na presença de agentes activadores de carboxilo adequados tais como diciclo-hexilcarbodiimida (DCC) para formar esteróide-C(O)-NH-CHY-C(O)-OR, em que Y é a cadeia lateral de um aminoácido ou uma unidade orgânica em C₁-C₁₀ e R é um grupo protector (ou hidrogénio quando desprotegido).

As aminas e derivados de aminas, e.g., R⁸NH-, R⁸-C(O)NH-, R⁸OC(O)-NH- ou R⁸O-C(O)-CHR⁸-NH- ligados aos átomos de carbono do esteróide, são tipicamente preparados por métodos correntes. Por exemplo, as aminas (NH₂-esteróide) são geralmente preparadas utilizando o rearranjo de Hoffmann (Br₂, NaOH) a partir da amida (NH₂-C(O)-esteróide) ou o rearranjo de Curtius (NaN₃) a partir do cloreto de ácido do esteróide. O substituinte R⁸ pode subsequentemente ser introduzido por alquilação. Os álcoois esteroidais podem ser utilizados como materiais de partida em condições de Mitsunobu correntes (PPh₃, DEAD) para dar N-Boc sulfonamidas utilizando N-(t-butoxicarbonil)-p-toluenossulfonamida. Pode remover-se selectivamente ambos os grupos protectores. O tratamento com ácido trifluoroacético dá a sulfonamida (R⁸-S(O)(O)-NH-esteróide). Alternativamente, o naftalenido de sódio sofre desprotecção para dar o composto N-Boc. As aminas (NH₂-esteróide) podem ser convertidas em amidas (R⁸NH-C(O)-esteróide) utilizando cloretos de acilo (R⁸-C(O)-Cl). O tratamento com cloroformato de etilo dá o N-carbamato (R⁸O-C(O)-NH-esteróide). A amina (NH₂-esteróide) pode ser alquilada com um α-bromoéster (R⁸-C(O)-CHY-NH₂) para dar o esteróide substituído com o aminoácido (R⁸-O-C(O)-CHY-NH-esteróide).

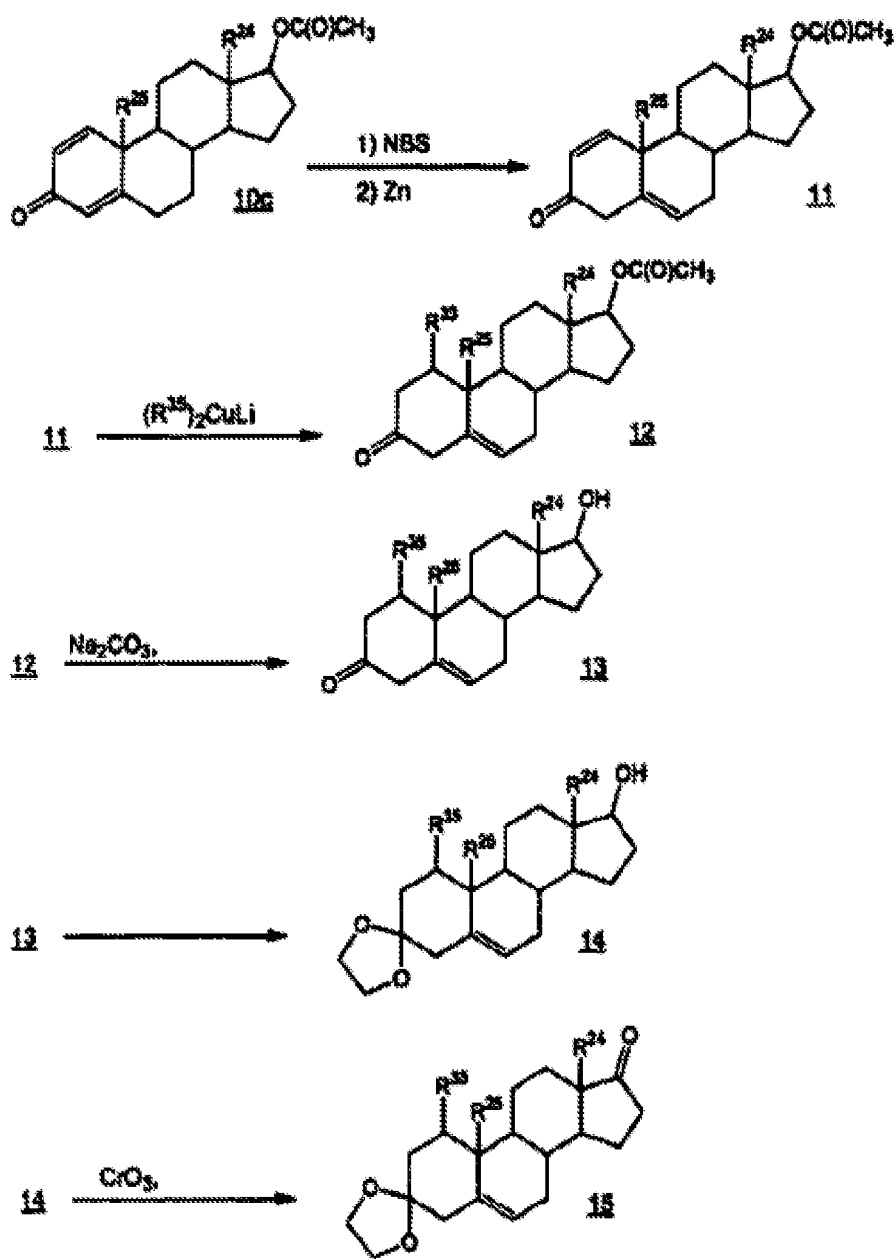
Quando reacções como as substituições dão uma mistura de produtos, o intermediário desejado é opcionalmente separado de outros produtos ou pelo menos parcialmente enriquecido (e.g., enriquecido pelo menos cerca de 10 vezes, normalmente pelo menos cerca de 50-100 vezes) em relação a outros produtos antes de serem realizadas reacções subsequentes. A substituição nos átomos de carbono do esteróide vão geralmente decorrer com a máxima eficiência na posição 3, que está relativamente estereoquimicamente desobstruída e a posição C-17 está geralmente um tanto menos acessível do que a posição C-3. As reactividades relativas das posições C-3, C-7, C-17 e C-16 permite utilizar as suas reactividades para controlar a introdução sequencial de diferentes grupos funcionais na mesma molécula de esteróide. Além disso, grupos como hidroxilo em posições mais reactivas, C-3 ou C-17, podem ser sequencialmente protegidos ou desprotegidos para permitir a introdução de grupos funcionais noutras posições, tais como C-7 ou C-16. Polímeros tais como PEG são ligados aos compostos essencialmente tal como descrito acima. Por exemplo, PEG 200 ou PEG 300 é ligado ao esteróide nas posições 3, 7, 16, 17 ou outras por uma ligação éter (PEG-O-esteróide) utilizando um alcóxido de PEG (PEG-ONa), para deslocar o brometo do esteróide. Alternativamente, o PEG-Br pode ser tratado com o alcóxido do esteróide. Os éteres de polietileno glicol tais como os descritos na patente U.S. 5681964 também podem ser preparados utilizando um composto de fórmula 1 adequado e

os métodos aí descritos. Monossacáridos ou polissacáridos e oligonucleótidos são ligados aos grupos hidroxilo dos esteróides utilizando métodos conhecidos, ver e.g., patente U.S. 5627270.

Esquema 11. Os compostos de fórmula 1 ou 2 que contêm uma unidade orgânica que está ligada à posição 1 são preparados essencialmente como a seguir. A reacção de bromação alílica para produzir 11 pode utilizar qualquer reagente adequado, e.g., N-bromossuccinimida ("NBS") para dar o derivado 1-bromo. Este intermediário é tratado com zinco para dar o derivado alquilado 12. As moléculas orgânicas são introduzidas na posição 1 utilizando um reagente correspondente, e.g., e.g., $(R^{35})_2CuLi$, em que R^{35} é uma unidade orgânica em C_1-C_{25} que pode compreender 1, 2, 3, 4 ou mais substituintes, e.g., -O-, -S-, -NH-, $-OR^{PR}$, cetona protegida (e.g., etileno cetal), $-SR^{PR}$ ou $-N(R^{PR})_2$. Noutras formas de realização, R^{35} é R^1 . Assim, quando R^{35} é metilo, um grupo metilo é introduzido na posição 1, ou quando R^{35} é $-CH_2-OR^{PR}$, o grupo $-CH_2-OR^{PR}$ é introduzido na posição 1. O composto 12 é convertido no derivado 17-hidroxilado 13 por hidrólise utilizando métodos correntes, e.g., tratamento com carbonato de sódio em metanol. O composto 15 é convertido no derivado 17-hidroxilado por redução da cetona, e.g., utilizando $LiBH_4$ ou $NaBH_4$ em etanol ou por hidrogenação catalítica com H_2/Ni , H_2/Pt ou H_2/Pd . A hidrogenação catalítica também vai resultar na redução da ligação dupla em 12, 13, 14 ou 15.

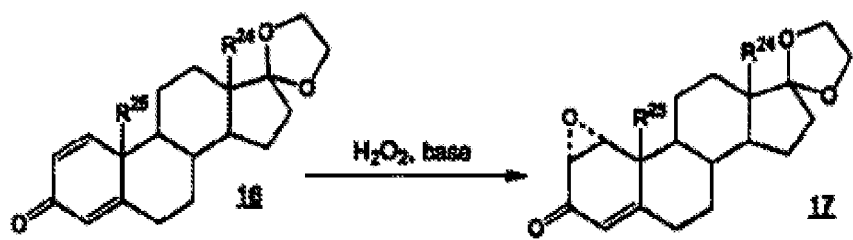
Alternativamente, obtém-se um hidroxilo nas posições 3 e 17 por redução da cetona no composto 12 e remoção do grupo acetato ou por redução directa da 3-cetona no composto 13.

Esquema 11



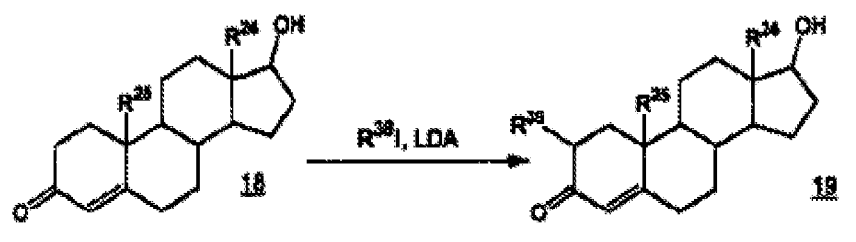
Esquema 12. Os compostos de fórmula 1 ou 2 que contêm um hidroxilo ou éter que está ligado à posição 1 são preparados essencialmente como se segue. Um hidroxilo é introduzido na posição 1 por oxidação de um material de partida adequado utilizando peróxido de hidrogénio alcalino para obter o epóxido 16. O composto 16 é convertido no derivado 1-hidroxilado por tratamento, e.g., com excesso de lítio metálico e excesso de cloreto de amónio em $\text{NH}_4\text{-THF}$ (1:1) a refluxo para dar 17. O grupo cetal é hidrolisado para dar a cetona 17. O grupo hidroxilo em 1 é opcionalmente adicionalmente convertido noutras unidades essencialmente como descrito acima.

Esquema 12



Esquema 13. Os compostos de fórmula 1 ou 2 que contêm uma unidade orgânica que está ligada à posição 2 são preparados essencialmente como a seguir. As unidades orgânicas são introduzidas na posição 2 utilizando um reagente correspondente, e.g., $(\text{R}^{35})_2\text{CuLi}$, em que R^{38} é uma unidade orgânica em $\text{C}_1\text{-C}_{25}$ que pode compreender 1, 2, 3, 4 ou mais substituintes, e.g., -O-, -S-, -NH-, $-\text{OR}^{\text{PR}}$, cetona protegida (e.g., etileno cetal), $-\text{SR}^{\text{PR}}$ ou $-\text{N}(\text{R}^{\text{PR}})_2$. Noutras

formas de realização, R^{38} é R^3 . Assim, quando R^{38} é metilo, um grupo metilo é introduzido na posição 2, ou quando R^{38} é $-\text{CH}_2-\text{OR}^{\text{PR}}$, o grupo $-\text{CH}_2-\text{OR}^{\text{PR}}$ é introduzido na posição 2. O material de partida 18 é testosterona quando R^{24} e R^{25} são ambos metilo. O composto 18 é alquilado utilizando um agente alquilante tal como o iodeto $R^{36}\text{I}$ na presença de uma base forte como diisopropilamida de lítio ("LDA"), n-butil lítio, t-pentóxido de sódio ou $(\text{C}_2\text{H}_5)_2\text{Ni}$ para dar R^{38} ligado ao esteróide nas configurações α e β . O grupo $2\beta\text{-R}^{36}$ é epimerizado à configuração 2 utilizando uma base forte, e.g., um alcóxido de sódio tal como metóxido de sódio num álcool tal como metanol. Alternativamente os dois epímeros são pelo menos substancialmente separados por métodos correntes.

Esquema 13

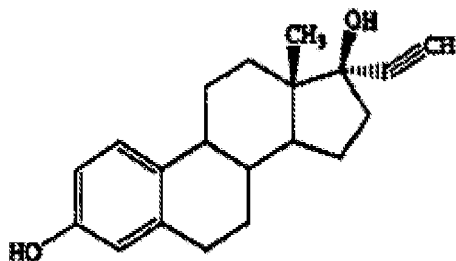
Outros compostos de fórmula 1 e 2 são preparados utilizando métodos semelhantes e.g. aos aqui descritos ou nas referências citadas.

Os seguintes exemplos de referência ilustram adicionalmente a invenção.

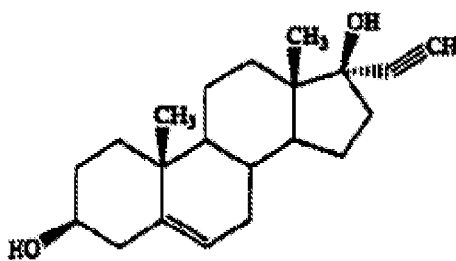
Exemplo de referência 1. Doseamento da actividade de AR. Uma função biológica do AR é actuar como um factor de transcrição, que pode modular a transcrição de genes alvo. AED, 5 α -di-hidrotestosterona (DHT), 17 β -estradiol (E2) e progesterona foram comprados a Sigma. Os esteróides derivatizados com etinilo foram adquiridos a Steraloids. O plasmídeo de AR de tipo selvagem pSG5 (pSG5) e vírus de tumor de mamífero de murganho (MMTV)-cloranfenicol acetiltransferase (CAT) foram construídos como descrito (6). Os números entre parênteses, e.g., (6) na frase anterior, referem-se às referências listadas na secção de referências adiante. Outros compostos esteróides foram sintetizados utilizando protocolos correntes e outros estavam descritos (19, 20). A linha celular de cancro da próstata humano, PC-3, e a linha celular de cancro da mama humano, MCF-7, foram mantidas em meio Eagle de Dulbecco modificado (DMEM) contendo 10% de soro fetal de vitelo. A transfecção de ADN e doseamentos de CAT foram realizados essencialmente como descrito (4, 6, 7). Resumidamente, 4 x 10⁵ células foram aplicadas em placas de 60 mm 24 h antes da transfecção e o meio foi mudado para DMEM (sem vermelho de fenol) com 10% de soro fetal de vitelo tratado com carvão activado 1 hora antes da transfecção. As células foram transfectadas utilizando o método de precipitação com fosfato de cálcio. A quantidade total de AND foi ajustada para 8,5 g com pSG5 em cada ensaio de transfecção. Após a transfecção das células durante 24 horas, removeu-se o meio de transfecção, adicionou-se DMEM fresco e adicionou-se os esteróides. As células foram então incubadas em DMEM com esteróides durante 24 horas. Após a incubação, as células

foram colhidas e os extractos das células totais foram utilizados para o doseamento de CAT. A eficiência da transfecção foi normalizada por cotransfecção com um vector de β -galactosidase, que actuou como um controlo interno. A actividade enzimática de CAT foi quantificada por PhosphorImager de acordo com as instruções do fabricante (Molecular Dynamics).

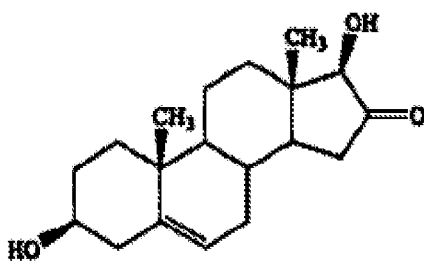
número do composto de referência	nome do composto de referência
0	7-oxo-desidroepiandrosterona
1	17 α -etinil-17 β -hidroxi-4-estreno-3-ona
2	17 α -etinil-17 β -hidroxi-4-estreno-3-ona
3	17 α -etinil-17 β -hidroxi-5(10)-estreno-3-ona
4	1,3,5(10)-estratrieno-17 α -etinil-3 β ,17 β -diol
5	androst-5-ona-3 β ,11 β ,17 β -triol
6	17 α -etinil-androst-5-eno-3 β ,17 β -diol
7	17 α -etinil-17 β -hidroxi-4-androsten-3-ona
8	3 β ,17 β -di-hidroxi-androst-5-en-16-ona
9	3 β ,17 β -dihidroxi-androst-4-eno
10	3 β -metilcarbonato-androst-5-eno-7,17-diona
11	3 β ,17 β -di-hidroxi-androst-5-eno-11-ona
13	3 β ,17 β -diacetoxi-androst-5-eno-7 α ,17 β -diol
14	3 β ,17 β -diacetoxi-androst-5-eno-7-ona
15	3 β -metoxi-17 β -hidroxi-androst-5-en-7-ona
16	3 β -metoxi-androst-5-eno-?,17 β -diol
17	17 β -metoxi-androst-3,5-dieno-7-ona
18	ácido 17-metil-marrianólico
19	17 β -hidroxi-androsta-3,5-dieno-7-ona
21	5 α -androstano-3 α ,17 β -diol
22	7-oxo-androsteno-3 β ,17 β -diol



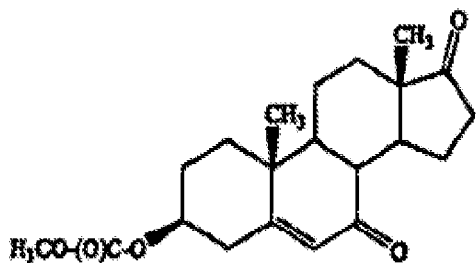
composto de referência 4



composto de referência 6



composto de referência 8



composto de referência 10

Exemplo 2. Actividade de transcrição mediada por indução de AR. Os compostos esteróides foram rastreados

quanto à sua aptidão para induzir a actividade de transcrição de AR na linha celular PC-3 negativa a AR. Os resultados do doseamento de CAT foram obtidos por co-transfecção transitória de plasmídeo de AR e um plasmídeo repórter (MMTVCAT) contendo o gene CAT ligado ao elemento de resposta a androgénios (ARE). Após a transfecção, as células foram tratadas com vários derivados de DHEA a 1000, 10 e 0,1 nM. Tal como ilustrado na figura 1, os compostos de referência 0, 4, 5, 6, 8, 10, 13, 15, 16, 18 e 22 tinham pouca actividade androgénica mas induziram um nível baixo de transactivação do gene CAT mediada por AR. O AED (composto de referência 21) tinha cerca da mesma capacidade que a DHT para estimular a transcrição do gene CAT mediada por AR.

Exemplo 3. Identificação da actividade anti-diol de esteróides com efeitos androgénicos baixos. Vários compostos foram rastreados quanto à sua capacidade para modular os efeitos da AED sobre a activação mediada por AR da transcrição de genes em células PC-3. As estruturas químicas dos compostos de referência 4, 6, 8 e 10 estão apresentadas na figura 2A. As células PC-3 foram co-transfectadas com pSG5 e o vector repórter MMTV-CAT na presença de 50 nM de AED e cada composto numa concentração de 10, 100 ou 1000 nM. Tal como ilustrado na figura 2B, os compostos de referência 4, 6, 8 e 10 antagonizaram a actividade de transcrição de AR mediada por AED. Em concentrações de 0,1 M e 1 M, os compostos de referência 4 e 6 suprimiram a transactivação de AR induzida por AED para

menos de 30%. Os compostos de referência 0, 5, 13, 15, 18 e 22 apresentam activação da actividade de transcrição de AR mediada por AED ou não têm efeito.

Exemplo 4. Identificação de efeitos anti-DHT de esteróides. Os compostos de referência 4, 6, 8 e 10 foram examinados para determinar se estes antagonistas de AED tinham a capacidade de reprimir a transactivação de AR induzida por DHT. As células PC-3 foram co-transfectadas com pSG5 e o plasmídeo repórter MMTV-CAT na presença de 1 nM de DHT e cada composto de referência a 10, 100 ou 1000 nM. O composto de referência 4 reprimiu a transactivação de AR induzida por DHT para menos de 40% a 1 μ M (figura 3).

Exemplo 5. Supressão da actividade de transcrição de AR induzida por AED na presença de HF. Para imitar a patologia *in vivo* de bloqueio androgénico total em doentes com cancro da próstata, os compostos 4, 6, 8 e 10 foram examinados quanto à sua capacidade para antagonizar a transactivação de AR induzida por AED na presença de HF. Na presença de 1 μ M de HF, 50 nM de AED, e cada composto a 0,01, 0,1 ou 1 μ M, células PC-3 foram tansfectadas transitoriamente com pSG5 e o plasmídeo repórter MMTV-CAT. Tal como ilustrado na figura 4, o HF suprimiu a actividade de transcrição de AR mediada por AED em cerca de 40%. Os compostos testados diminuíram a actividade de transcrição de AR mediada por AED em cerca de 75%.

Exemplo 6. Especificidade da actividade hormonal

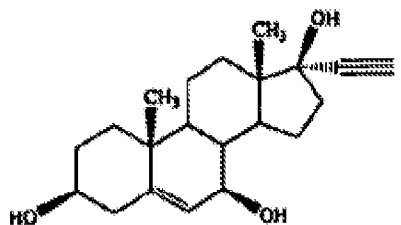
esteróide dos metabolitos de DHEA (No. 4, 6, 8 & 10). A linha celular MCF-7 positiva a receptores de estrogénios (ER) foi transfectada com um plasmídeo repórter de CAT contendo um elemento de resposta a estrogénios ligado ao gene CAT. Células PC-3 foram transfectadas com repórter MMTV-CAT e receptor de progesterona (PR) ou receptor de glucocorticóides (GR) para testar a especificidade da actividade hormonal esteróide dos compostos de referência 4, 6, 8 e 10. Todos os 4 compostos de referência tinham alguma actividade estrogénica e só o composto de referência 4, que tem um grupo 17α -etinilo, mostra alguma actividade de PR fraca. Nenhum destes quatro compostos de referência apresentou qualquer actividade de GR.

Lisboa, 27 de Abril de 2011

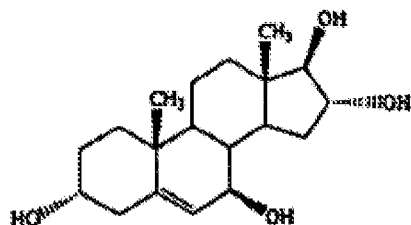
REIVINDICAÇÕES

1. Utilização de um composto, em que

(a) o composto é 17 α -etinilandrost-5-eno-3 β , 7 β , 17 β -triol (composto 1.2.1.3), que tem a estrutura

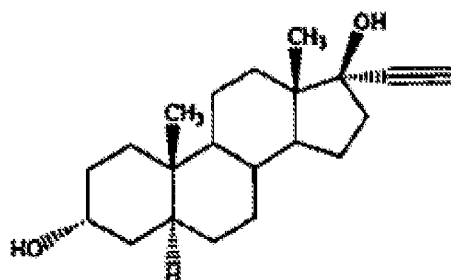


(b) o composto é androst-5-eno-3 α , 7 β , 16 α , 17 β -tetrol (composto 2.2.6.1), que tem a estrutura

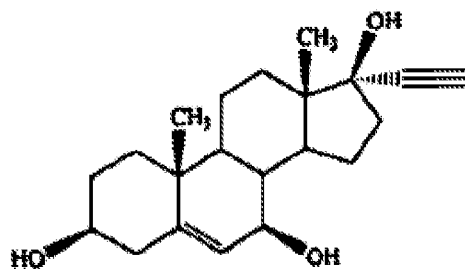


ou

(c) o composto é 17 α -etinilandrostano-3 α , 17 β -diol (composto 2.1.1.3), que tem a estrutura

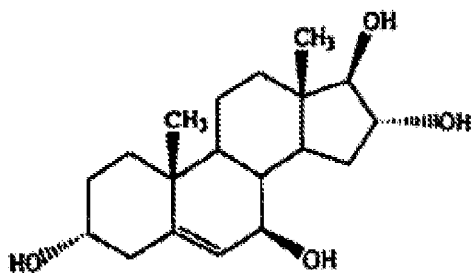


2. Utilização de acordo com a reivindicação 1 em que o composto tem a estrutura



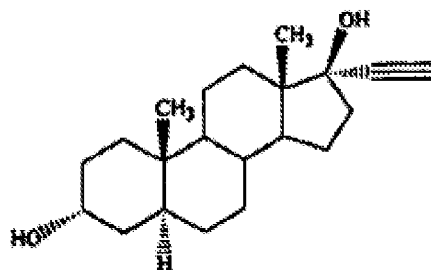
(composto 1.2.1.3).

3. Utilização de acordo com a reivindicação 1 em que o composto tem a estrutura



(composto 2.2.6.1).

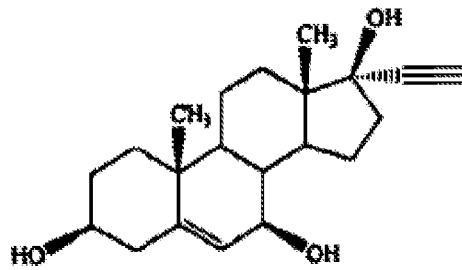
4. Utilização de acordo com a reivindicação 1 em que o composto tem a estrutura



(composto 2.1.1.3).

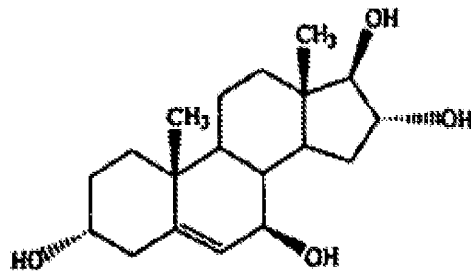
5. Utilização de um composto para a preparação de um medicamento para o tratamento de hiperplasia benigna da próstata, cancro da próstata ou cancro da mama, em que

(a) o composto tem a estrutura



(composto 1.2.1.3),

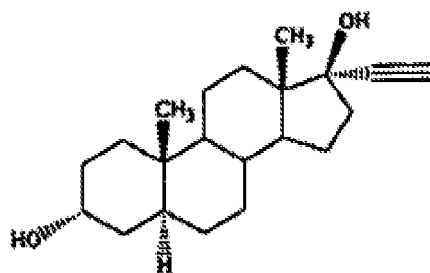
(b) o composto tem a estrutura



(composto 2.2.6.1).

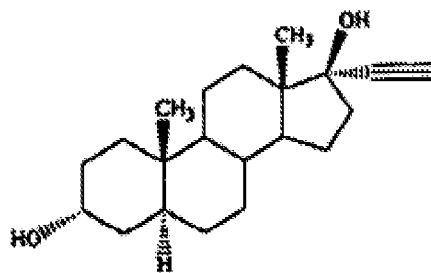
ou

(c) o composto tem a estrutura



(composto 2.1.1.3).

6. Utilização de acordo com a reivindicação 5 em que o composto tem a estrutura



(composto 2.1.1.3).

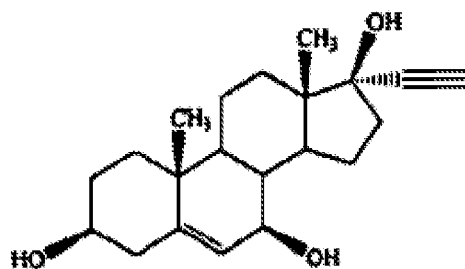
7. Utilização de acordo com a reivindicação 6 em que o medicamento é para o tratamento de hiperplasia benigna da próstata.

8. Utilização de acordo com a reivindicação 6 em que o medicamento é para o tratamento de cancro da próstata.

9. Utilização de acordo com a reivindicação 6 em que o medicamento é para o tratamento de cancro da mama.

10. Composto de estrutura

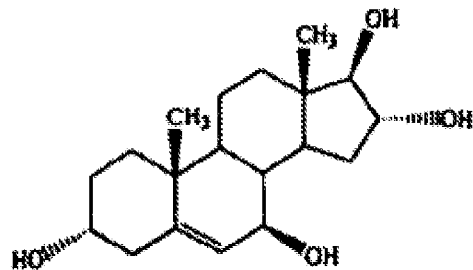
(a)



(composto 1.2.1.3),

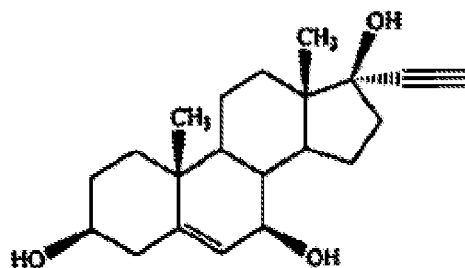
ou

(b)



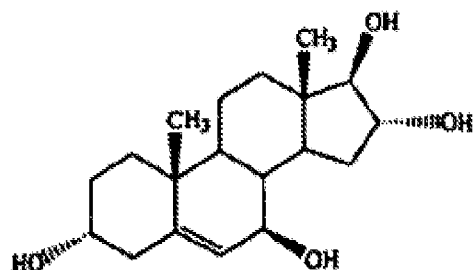
(composto 2.2.6.1).

11. Composto de acordo com a reivindicação 10 em que o composto tem a estrutura



(composto 1.2.1.3).

12. Composto de acordo com a reivindicação 10 em que o composto tem a estrutura

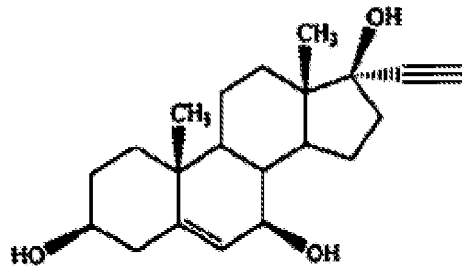


(composto 2.2.6.1).

13. Composto de acordo com a reivindicação 11 ou 12 em que o composto é um pó ou grânulos.

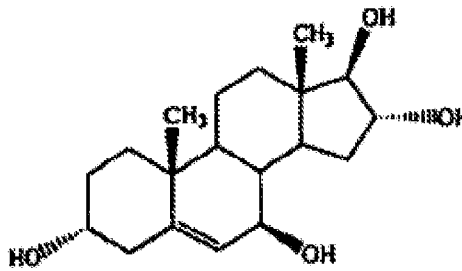
14. Formulação compreendendo um ou mais excipientes e um composto em que o composto tem a estrutura

(a)



(composto 1.2.1.3),

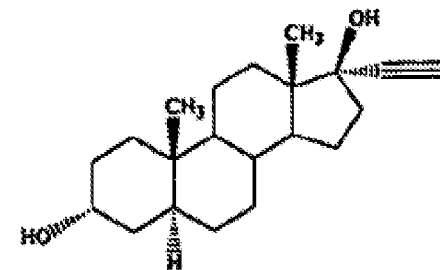
(b)



(composto 2.2.6.1),

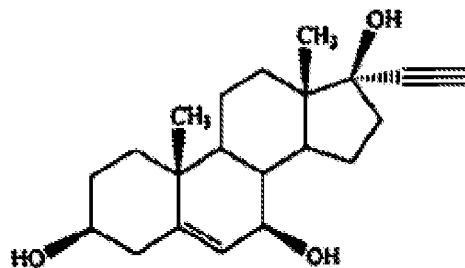
ou

(c)



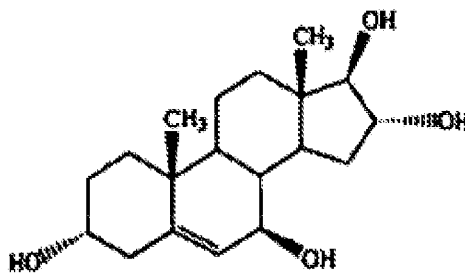
(composto 2.1.1.3).

15. Formulação de acordo com a reivindicação 14 em que o composto tem a estrutura



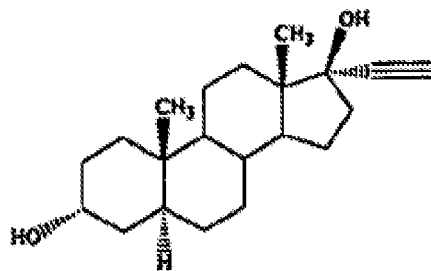
(composto 1.2.1.3).

16. Formulação de acordo com a reivindicação 14 em que o composto tem a estrutura



(composto 2.2.6.1).

17. Formulação de acordo com a reivindicação 14 em que o composto tem a estrutura



(composto 2.1.1.3).

Lisboa, 27 de Abril de 2011

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 4056630 A
- US 4310523 A
- US 4859695 A
- US 4970294 A
- US 5137882 A
- US 5372996 A
- US 5494914 A
- US 5581124 A
- US 5593981 A
- US 5994334 A
- US 5994335 A
- US 5996377 A
- US 6015608 A
- US 6093722 A
- US 8110906 B
- EP 0401653 A
- US 2833793 A
- US 2911418 A
- US 3148196 A
- US 3471480 A
- US 3710795 A
- US 3711696 A
- US 3976691 A
- US 4268441 A
- US 4427649 A
- US 4542129 A
- US 4666896 A
- US 4898694 A
- US 4956355 A
- US 4978532 A
- US 5001119 A
- US 5043165 A
- US 5077284 A
- US 5028631 A
- US 5110810 A
- US 5157031 A
- US 5162198 A
- US 5175154 A
- US 5206008 A
- US 5277907 A
- US 5292730 A
- US 5296481 A
- US 5387583 A
- US 5407654 A
- US 5424463 A
- US 5461042 A
- US 5478566 A
- US 5506223 A
- US 5518725 A
- US 5527788 A
- US 5527789 A
- US 5532230 A
- US 5559107 A
- US 5562910 A
- US 5583126 A
- US 5585371 A
- US 5587369 A
- US 5591736 A
- US 5610150 A
- US 5635496 A
- US 5641768 A
- US 5656621 A
- US 5660635 A
- US 5677366 A
- US 5686438 A
- US 5696106 A
- US 5700793 A
- US 5707953 A
- US 5709878 A
- US 5710143 A
- US 5714481 A
- US 5728668 A
- US 5736537 A
- US 5744462 A
- US 5753237 A
- US 5756482 A
- US 5776921 A
- US 5776923 A
- US 5780460 A
- US 5795880 A
- US 5798347 A
- US 5798348 A
- US 5804576 A
- US 5807846 A
- US 5807846 A
- US 5811418 A
- US 5824313 A
- US 5824668 A
- US 5824871 A
- US 5827841 A
- US 5837269 A
- US 5837700 A
- US 5843932 A
- US 5846963 A
- US 5856340 A
- US 5859000 A
- US 5869090 A
- US 5863910 A

- US 5872114 A
- US 5872147 A
- US 5810407 A
- GB 2035738 A
- GB 2705917 A
- WO 9521617 A
- WO 9748367 A
- WO 9805338 A
- WO 9850040 A
- WO 9850041 A
- WO 9858650 A
- EP 0020029 A
- US 5789170 A
- US 5614620 A
- WO 0004152 A
- US 4602006 A
- US 4989694 A
- US 5571795 A
- US 5627270 A
- US 5681984 A
- US 5744453 A
- US 5939545 A
- US 5939570 A
- US 5962442 A
- US 5962443 A
- US 5994566 A
- WO 9408588 A
- WO 9508558 A
- WO 9508559 A
- WO 9638466 A
- WO 9809450 A
- EP 232788 A
- EP 430076 A
- US 5681954 A

Literatura que não é de patentes citada na Descrição

- *Proceedings Chromatographic Society - international Symposium on Chiral Separations, 03 September 1987*