



República Federativa do Brasil
Ministério da Economia
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(11) BR 112017002449-7 B1



(22) Data do Depósito: 08/09/2015

(45) Data de Concessão: 09/08/2022

(54) Título: USOS DE ISOPROPIL ÉSTER DE ÁCIDO (S)-(7-CIANO-4-PIRIDIN-2-ILMETIL-1,2,3,4-TETRA-HIDRO-CILOPENTA [B]INDOL-2-I)-CARBÂMICO, OU DE UM SAL FARMACEUTICAMENTE ACEITÁVEL DO MESMO

(51) Int.Cl.: A61K 31/4439; A61P 5/26; A61P 19/08; A61P 21/06; A61P 21/00.

(30) Prioridade Unionista: 11/09/2014 US 62/049,192.

(73) Titular(es): ELI LILLY AND COMPANY.

(72) Inventor(es): CHARLES THOMAS BENSON.

(86) Pedido PCT: PCT US2015048801 de 08/09/2015

(87) Publicação PCT: WO 2016/040234 de 17/03/2016

(85) Data do Início da Fase Nacional: 07/02/2017

(57) Resumo: USOS DE ISOPROPIL ÉSTER DE ÁCIDO (S)-(7-CIANO-4-PIRIDIN-2-ILMETIL-1,2,3,4-TETRA-HIDROCILOPENTA[B]INDOL-2-I)-CARBÂMICO, OU UM SAL FARMACEUTICAMENTE ACEITÁVEL DO MESMO. A presente invenção fornece um método de tratamento de sintomas associados com Terapia de Privação Androgênica, compreendendo administrar a um paciente em necessidade de tal tratamento uma quantidade eficaz de um composto de Fórmula I: Fórmula I, ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo.

Relatório Descritivo da Patente de Invenção para **"USOS DE ISOPROPIL ÉSTER DE ÁCIDO (S)-(7-CIANO-4-PIRIDIN-2-ILMETIL-1,2,3,4-TETRA-HIDRO-CILOPENTA[B]INDOL-2-I)-CARBÂMICO, OU DE UM SAL FARMACEUTICAMENTE ACEITÁVEL DO MESMO"**.

[001] A presente invenção se refere ao tratamento de sintomas associados com Terapia de Privação androgênica usando isopropil éster de ácido (S)-(7-ciano-4-piridin-2-ilmetil-1,2,3,4-tetra-hidro-ciclopenta[b]indol-2-il)-carbâmico, ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo.

[002] A presente invenção é no campo de tratamento de sintomas associados com Terapia de Privação androgênica (ADT). A terapia de privação androgênica ou terapia de supressão de androgênio é uma terapia comum usada para diminuir a agressividade do câncer de próstata em conjunto com outras opções terapêuticas focadas na erradicação do câncer. Durante a ADT, os níveis de androgênio, ou hormônios masculinos, são reduzidos no corpo para preveni-lo de alcançar as células de câncer de próstata. Os androgênios, tais como testosterona e di-hidrotestosterona (DHT), estimulam o crescimento de células de câncer de próstata. Entretanto, constatou-se que os cânceres de próstata podem desenvolver-se mais lentamente ou ainda escolher se os níveis de androgênio reduzirão. Nos Estados Unidos, estima-se que aproximadamente um terço dos pacientes de câncer de próstata teriam recebido ADT em algum momento durante o tratamento de sua doença.

[003] Há várias opções de tratamento disponíveis para baixar os níveis de androgênio, tal como orquiectomia ou castração cirúrgica, análogos de hormônio de liberação de hormônio luteinizante (LHRH), tais como leuprolida (comercializada nos Estados Unidos como Lupron®, Eligard®), goserelina (comercializada nos Estados Unidos

como Zoladex®), triptorelina (comercializada nos Estados Unidos como Trelstar®), e histrelina (comercializada nos Estados Unidos como Vantas®), e antagonistas de LHRH, tais como degarelix (comercializado nos Estados Unidos como Firmagon®) e abiraterona (comercializada nos Estados Unidos como Zytiga®).

[004] A maioria dos homens com câncer de próstata avançado responde bem à ADT. A ADT é tipicamente indicada quando os cânceres de próstata se prolongam para além da cápsula de próstata com base no estágio clínico (doença de T3), quando a primeira linha em câncer de próstata metastática com agonistas/antagonistas de GnRH ou castração química.

[005] Existem efeitos colaterais potenciais associados com a terapia de hormônio que podem ter efeitos prejudiciais sobre a qualidade de vida e aumentam o risco da descontinuação da terapia ADT no paciente. Por exemplo, os efeitos colaterais podem incluir redução ou ausência de libido, disfunção erétil, encolhimento dos órgãos sexuais masculinos, fogachos, osteoporose, anemia, massa muscular reduzida, força muscular diminuída, aumento da gordura corporal, e ganho de peso, devido às mudanças nos níveis dos hormônios testosterona e estrogênio. Os tratamentos atuais para os efeitos colaterais associados com ADT são conhecidos na técnica. Veja US 2009/0143344 (fogachos – antagonista de 5HT2A ou D2R); US 2007/0281977 (fogachos – antagonista de receptor muscarínico); US 2008/0080143 (osteoporose, fraturas ósseas, perda de BMD, ginecomastia fogachos, perda de cabelo – torimifeno). Entretanto, permanece uma necessidade na técnica de terapias alternativas, em que certos efeitos colaterais de ADT possam ser reduzidos. De fato, até recentemente, a privação androgênica intermitente (IAD) foi recomendada para tentar minimizar os efeitos adversos da castração médica retirando-se o tratamento em pacientes que têm respondido à

ADT e em seguida restituindo a ADT quando existir a evidência de doença recorrente aqui ou progressiva. Entretanto, um teste de 1749 pacientes randomizados para ADT contínua versus IAD durante um acompanhamento médio de 9,8 anos demonstrará que a ADT contínua é superior à IAD. Uma terapia para melhorar a tolerabilidade dos efeitos colaterais de ADT levaria a melhorias na complacência e resultaria em melhores resultados para os pacientes.

[006] Os moduladores de receptor de androgênio seletivos (SARMs) foram constatados apresentar um perfil diferenciado de atividade em tecidos androgênicos. Em particular, tais agentes preferivelmente apresentam atividade de agonista de androgênio em tecidos anabólicos tal como músculo ou osso, ainda são apenas agonistas parciais ou mesmo antagonistas em outros tecidos androgênicos tais como a próstata ou vesículas seminais. Desse modo, o uso de um modulador de receptor de androgênio (AR) pode aliviar os sintomas de ADT para pacientes de câncer de próstata.

[007] A Figura 1 ilustra que o Exemplo 1 não resultou em nenhum acréscimo significativo de peso de vesícula seminal após tratamento de 8 semanas em um rato orquidectomizado durante 8 semanas e que era hiper-responsivo a qualquer estímulo androgênico.

[008] A figura 2 ilustra que o Exemplo 1 resultou em acréscimo significativo de densidade mineral óssea trabecular da vértebra lombar (LV-TBMD) e mostrou uma tendência para o aumento no teor mineral ósseo trabecular da vértebra lombar (LV-TBMC), e área transversal (LV-TA) após tratamento de 8 semanas em um rato orquidectomizado durante 8 semanas.

[009] A Figura 3 ilustra que a combinação com enantato de testosterona (TE) (1 mg/Kg por dia) e várias doses de Exemplo 1 sugere um aumento no peso úmido da vesícula seminal no mg normalizado em gramas ao peso corporal, que é induzido por TE

sozinho.

[0010] A Figura 4 ilustra que o cotratamento de Exemplo 1 para ratos de SD juntamente com 1 mg/Kg de TE resultou em uma diminuição dependente de dose em peso úmido de próstata em miligramas normalizados em gramas ao peso corporal.

[0011] A Figura 5 ilustra que a combinação com TE (1 mg/Kg por dia) e várias doses de Exemplo 1 sugerem uma tendência ao aumento no peso úmido da vesícula seminal em miligramas normalizados em gramas ao peso corporal, que é induzido por TE apenas.

[0012] A Figura 6 ilustra que o cotratamento de Exemplo 1 para ratos SD juntamente com 1 mg/Kg de TE resulta em um decréscimo dependente de dose no peso úmido da próstata em miligramas normalizados ao peso corporal em gramas.

[0013] A Figura 7 ilustra um aumento na área do músculo da panturrilha como medido por imageamento baseado em tomografia computadorizada periférica no feixe gastrocnêmio (área do músculo da panturrilha) após administração de Exemplo 1 a voluntários humanos saudáveis.

[0014] A Figura 8 ilustra um aumento na massa muscular magra total do corpo após administração de Exemplo 1 a voluntários seres humanos saudáveis como medido por DEXA. O efeito sobre machos (barra azul) no nível de dose de 5 mg é estatisticamente significativo em comparação com a dose de placebo de 0 mg, usando um teste de Dunnett ($p < 0,05$).

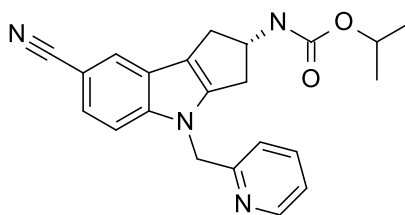
[0015] A Figura 9 ilustra que não houve nenhuma mudança significativa de linha de base em níveis de antígeno específico de próstata em comparação com placebo em qualquer momento ou qualquer dose de Exemplo 1.

[0016] A Figura 10 ilustra um decréscimo em níveis séricos de testosterona após administração de Exemplo 1 a voluntários seres

humanos eugonadaís. O decréscimo após o tratamento é mais acentuado em machos com seus níveis séricos de testosterona relativamente superiores. A tabela à direita reflete a avaliação de exposição após o estudo de Ph1a na dose de 5 mg.

[0017] A Figura 11 ilustra uma relação exposição-resposta positiva para propédeo de terminal de N de procolágeno tipo 1 (P1NP), um biomarcador para anabolismo ósseo, após administração de Exemplo 1 a voluntários seres humanos eugonadaís.

[0018] O composto modulador de AR isopropil éster de ácido (S)-(7-ciano-4-piridin-2-ilmetil-1,2,3,4-tetra-hidro-ciclopenta[b]indol-2-il)-carbâmico, alternativamente representado como ácido carbâmico, *N*-[(2S)-7-ciano,-1,2,3,4-tetra-hidro-4-(2-piridinilmetil)ciclopent[b]indol-2-il]-, 1-metiletil éster, representado pela fórmula estrutural I, mostrou aumentar a massa muscular magra e diminuir a massa gorda em voluntários seres humanos. Além disso, nenhuma mudança significativa no hematócrito ou mudança no antígeno da próstata (PSA) foi observada após o tratamento com isopropil éster de ácido (S)-(7-ciano-4-piridin-2-ilmetil-1,2,3,4-tetra-hidro-ciclopenta[b]indol-2-il)-carbâmico após 12 semanas em voluntários seres humanos. Além disso, o tratamento de ratos orquidectomizados com isopropil éster de ácido (S)-(7-ciano-4-piridin-2-ilmetil-1,2,3,4-tetra-hidro-ciclopenta[b]indol-2-il)-carbâmico não mostra nenhum acréscimo significativo de peso de vesícula seminal.



Fórmula I

[0019] Consequentemente, a presente invenção fornece um método de tratamento dos sintomas como um resultado de

hipogonadismo secundário induzido por ADT, compreendendo a administração a um paciente com necessidade de tal tratamento de uma quantidade eficaz do composto de Fórmula I. Em outra modalidade, o paciente é um paciente de câncer de próstata. Em outra modalidade, a presente invenção fornece um método de tratar a perda em massa óssea, força óssea, massa muscular, ou força muscular como um resultado de hipogonadismo secundário induzido por ADT. Em outra modalidade adicional, a presente invenção fornece um método de tratar a perda de libido e fogachos como um resultado de hipogonadismo secundário induzido por ADT.

[0020] Além disso, a presente invenção fornece o uso de um composto de Fórmula I, ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo, em terapia, em particular, para tratar os sintomas de ADT para pacientes com necessidade do mesmo. Em outra modalidade, o paciente é um paciente de câncer de próstata. Além disso, a presente invenção fornece o uso de um composto de Fórmula I, ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo, no tratamento dos sintomas como um resultado de hipogonadismo secundário induzido por ADT. Ainda, além disso, a presente invenção fornece o uso de um composto de Fórmula I, ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo, no tratamento dos sintomas de ADT para pacientes de câncer de próstata. Em outra modalidade, a presente invenção fornece o uso de um composto da invenção, ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo, para a fabricação de um medicamento para tratar os sintomas de ADT para pacientes de câncer de próstata. Em outra modalidade, a presente invenção fornece o uso de um composto da invenção, ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo, para a fabricação de um medicamento para tratamento dos sintomas como um resultado de hipogonadismo secundário induzido por ADT.

[0021] Além disso, a presente invenção fornece o uso de um

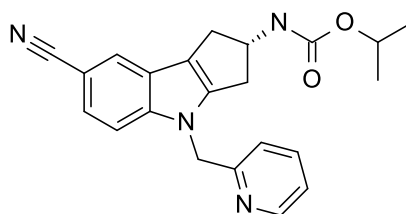
composto de Fórmula I, ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo, em terapia, em particular, para tratamento da perda em massa óssea, em força óssea, massa muscular, ou força muscular como um resultado de hipogonadismo secundário induzido por ADT. Ainda, além disso, a presente invenção fornece o uso de um composto de Fórmula I, ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo, no tratamento da perda em massa óssea, em força óssea, massa muscular, ou força muscular como um resultado de hipogonadismo secundário induzido por ADT. Em outra modalidade, a presente invenção fornece o uso de um composto da invenção, ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo, para a fabricação de um medicamento para tratamento da perda em massa óssea, em força óssea, massa muscular, ou força muscular como um resultado de hipogonadismo secundário induzido por ADT.

[0022] Além disso, a presente invenção fornece o uso de um composto de Fórmula I, ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo, em terapia, em particular, para tratar a perda de libido e fogachos como um resultado de hipogonadismo secundário induzido por ADT. Ainda, além disso, a presente invenção fornece o uso de um composto da invenção, ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo, no tratamento da perda de libido e fogachos como um resultado de hipogonadismo secundário induzido por ADT. Em outra modalidade, a presente invenção fornece o uso de um composto da invenção, ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo, para a fabricação de um medicamento para tratamento da perda de libido e fogachos como um resultado de hipogonadismo secundário induzido por ADT.

[0023] Um composto modulador de receptor de androgênio de Fórmula I e métodos de fazer e usar os referidos compostos como agentes terapêuticos úteis para indicações terapêuticas tais como

hipogonadismo, massa ou densidade óssea reduzida, e massa ou força muscular reduzida são recitados no US-2010-0069404, publicado em 18 de março de 2010, incorporado aqui por referência. Veja também WO 2008/063867. Um composto modulador de receptor de androgênio (AR) de Fórmula I é um modulador potente e seletivo do receptor de androgênio.

[0024] Mais especificamente, a presente invenção fornece um método de tratamento dos sintomas de ADT para pacientes de câncer de próstata, compreendendo a administração a um paciente com necessidade de tal tratamento de uma quantidade eficaz de um composto de Fórmula I, representado estruturalmente como:



ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo.

[0025] Como usado aqui, o termo "paciente" se refere a um ser humano.

[0026] Como utilizados aqui, os termos "tratando", "tratar" ou "tratamento" incluem restringindo, retardando, parando, reduzindo ou revertendo a progressão ou gravidade de um sintoma, distúrbio, condição ou doença existente.

[0027] Como utilizados aqui, os termos "T1 a T4" referem-se à categoria T do sistema de estágio de TNM do American Joint Committee on Cancer (AJCC) para descrever até que ponto um câncer se espalhou. A categoria T indica a presença de tumores e descreve a extensão do tumor primário. Os números maiores indicam tamanho, extensão ou grau aumentado de penetração. Cada tipo de câncer tem especificidades para classificá-lo sob o número. Para câncer de próstata, o T1 indica que o médico não consegue sentir o tumor ou vê-

lo com imageamento tal como ultrassom transretal. T2 indica que o doutor pode sentir o câncer com um exame digital retal (DRE) ou vê-lo com imageamento tal como ultrassom transretal, mas ainda parece estar confinado à próstata. T3 indica que o câncer começou a crescer e a se espelhar para fora da próstata e pode ter se espalhado nas vesículas seminais. O T4 indica que o câncer se desenvolveu em tecidos próximos da próstata (diferentes das vesículas seminais), tais como o esfíncter uretral (músculo que ajuda no controle da micção), o reto, a bexiga e/ou a parede da pélvis.

[0028] Como usado aqui, o termo "quantidade eficaz" se refere à quantidade ou dose de composto de Fórmula I, ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo, na administração ao paciente, fornece o efeito desejado no paciente sob diagnóstico ou tratamento. Na determinação da quantidade eficaz para um paciente, vários fatores são considerados pelo médico assistente, incluindo, porém não limitados a, tamanho do paciente, idade e saúde geral; a doença ou distúrbio específico envolvido; o grau ou envolvimento ou a gravidade da doença ou distúrbio; a resposta do paciente individual; o composto particular administrado; o modo de administração; as características de biodisponibilidade da preparação administrada; o regime de dose selecionado; o uso de medicação concomitante; e outras circunstâncias relevantes.

[0029] O composto de Fórmula I e seus sais farmaceuticamente aceitáveis são geralmente eficazes sobre uma ampla faixa de dosagem. Por exemplo, as dosagens por dia de agentes individuais normalmente caem dentro da faixa de cerca de 1 mg/dia a cerca de 1000mg/dia, preferivelmente cerca de 1 mg/dia a cerca de 500 mg/dia, cerca de 1 mg/dia a cerca de 250 mg/dia, cerca de 1 mg/dia a cerca de 100 mg/dia, 1 mg/dia a cerca de 75 mg/dia, e 1 mg/dia a cerca de 25 mg/dia. Mais preferivelmente, as dosagens por dia de agentes

individuais normalmente caem dentro da faixa de cerca de 1 mg/dia a cerca de 5 mg/dia. Mais preferivelmente, o composto de Fórmula I é usado em uma dose por dia selecionada de 1 mg, 5mg, 25 mg, e 75 mg por dia.

[0030] Um composto modulador de receptor de androgênio de Fórmula I é preferivelmente formulado como uma composição farmacêutica administrada por qualquer rotina que torne o composto biodisponível. A rotina de administração pode ser variada de qualquer maneira, limitada por propriedades físicas dos fármacos e pela conveniência do paciente e do cuidador. Preferivelmente, um composto modulador de receptor de androgênio de Fórmula I é formulado para administração oral ou parenteral, incluindo administração intravenosa ou subcutânea. Tais composições farmacêuticas e processos para preparação das mesmas são bem conhecidos na técnica. (Veja, por exemplo, Remington: The Science and Practice of Pharmacy (D.B. Troy, Editor, 21ª Edição, Lippincott, Williams & Wilkins, 2006).

[0031] Pse refere que o composto de Fórmula I seja a base livre.

Preparações e Exemplo

[0032] Os métodos, preparações e exemplos seguintes também ilustram a invenção e representam a síntese típica do composto da invenção. Os reagentes e materiais de partida estão facilmente disponíveis ou podem ser facilmente sintetizados por alguém versado na técnica. Deve-se entender que as preparações e os exemplos representados por meio de ilustração e não limitação, e que várias modificações podem ser feitas por alguém versado na técnica. As etapas sintéticas específicas para cada das rotinas descritas podem ser combinadas em diferentes meios, ou em conjunção com etapas de diferentes procedimentos, para preparar um composto de Fórmula I, ou sais dos mesmos. Os produtos de cada etapa podem ser recuperados por métodos convencionais bem conhecidos na técnica,

incluindo extração, evaporação precipitação, cromatografia, filtração, trituração, e cristalização. Além disso, todos os substituintes, a menos que de outro modo indicado, são como previamente definidos.

[0033] A menos que indicados ao contrário, os compostos ilustrados aqui podem ser nomeados e numerados usando Accelrys® Draw versão 4.0 (Accelrys, Inc., San Diego, CA.), IUPACNAME ACDLABS, ou ChemDraw® Ultra 12.0. A configuração R ou S do composto da invenção pode ser determinada por técnicas padrão tais como análise de raio X e correlação com tempo de retenção de HPLC quiral. Os isômeros, enantiômeros e diastereômeros individuais podem ser separados ou resolvidos por alguém versado na técnica em qualquer ponto conveniente na síntese de composto de Fórmula I por métodos tais como técnicas de cristalização seletiva ou cromatografia quiral (Veja, por exemplo, J. Jacques, et al., "Enantiomers, Racemates, and Resolutions", John Wiley and Sons, Inc., 1981, e E.L. Eliel and S.H. Wilen, "Stereochemistry of Organic Compounds", Wiley-Interscience, 1994). As designações "isômero 1" e "isômero 2" referem-se aos compostos que eluem a partir da cromatografia quiral primeira e segunda, respectivamente, e se a cromatografia quiral é iniciada precocemente na síntese, a mesma designação é aplicada aos intermediários e exemplos subsequentes. Além disso, certos intermediários descritos nos esquemas seguintes podem conter um ou mais grupos de proteção de nitrogênio. O grupo de proteção variável pode ser igual ou diferente em cada ocorrência dependendo das condições de reação particulares e das transformações particulares a serem realizadas. As condições de proteção e desproteção são bem conhecidas pelo técnico versado e são descritas na literatura (Veja, por exemplo, "Greene's Protective Grupos in Organic Synthesis", Quarta Edição, por Peter G.M. Wuts and Theodora W. Greene, John Wiley and Sons, Inc. 2007).

[0034] Os reagentes e materiais de partida estão facilmente disponíveis a alguém versado na técnica. Patente dos Estados Unidos nº 7.968.587, incorporado aqui por referência, descreve a síntese de isopropil éster de ácido (S)-(7-ciano-4-piridin-2-ilmetil-1,2,3,4-tetra-hidro-ciclopenta[b]indol-2-il)-carbâmico.

[0035] Como utilizados aqui, os seguintes termos têm os significados indicados: "ADME" se refere à absorção, distribuição, metabolismo e excreção; "DMAC" se refere à *N,N*-dimetilacetamida; "DMF" se refere à dimetilformamida; "ECG" se refere a electrocardiográfico; "EDTA" se refere a ácido etilenodiaminatetra-acético; "ee" se refere a excesso enantiomérico; "EtOAc" se refere a acetato de etila; "EtOH" se refere a etanol; "HOAc" se refere a ácido acético; "HPLC" se refere à cromatografia líquida de alto desempenho; "LCMS" se refere à espectrometria de massa de cromatografia líquida; "LY" se refere a Exemplo 1; "MeOH" se refere a metanol; "min" se refere a minutos; "MS" se refere à cromatografia de massa; "MTBE" se refere a éter de terc-butilmetila; "NOAEL" não se refere a nenhum nível de efeito adverso observável; "Orx" se refere a orquidectomizado; "SE" se refere a erro padrão; "TE" se refere a enantato de testosterona; "TFA" se refere a ácido trifluoroacético; "THF" se refere a tetra-hidrofurano; e "UV" se refere a ultravioleta.

Intermediário 1

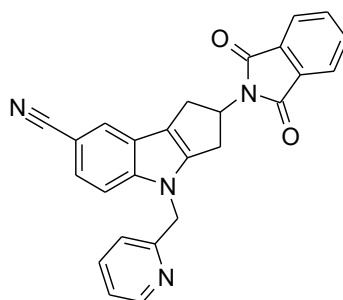
(±)-2-(1,3-dioxo-1,3-di-hidro-isoindol-2-il)-1,2,3,4-tetra-hidro-ciclopenta[b]indol-7-carbonitrila

[0036] Misturar (±)-2-(3-oxo-ciclopentil)-isoindol-1,3-diona (12,7 g, 55,3 mmol) e 4-cianofenilidrazina-HCl (8,53 g, 50,3 mmol) em HOAc (200 mL) e dioxano de HCl a 4N (50 mL). Usando agitação mecânica, aquecer a reação para 90°C durante 18 horas, em seguida adicionar dioxano de HCl a 4N adicional (20 mL). Aquecer a reação para 100 °C durante 18 horas. Diluir a mistura reacional com água (600 mL) e

coletar um sólido preto por filtração a vácuo. Sonicar o sólido com MeOH (200 mL), em seguida coletar e secar em um forno a vácuo para fornecer 10,94 g (66%) de um sólido cinza amarronado. MS (m/z): 328 (M+H), 326 (M-H).

Intermediário 2

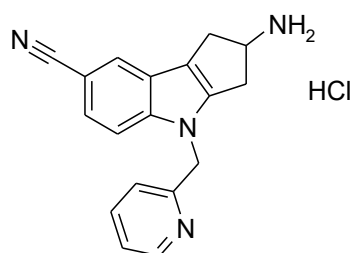
(±)-2-(1,3-dioxo-1,3-di-hidro-isoindol-2-il)-4-piridin-2-ilmetil-1,2,3,4-tetra-hidro-ciclopenta[b]indol-7-carbonitrila



[0037] Aquecer uma mistura de 2-(1,3-dioxo-1,3-di-hidro-isoindol-2-il)-1,2,3,4-tetra-hidro-ciclopenta[b]indol-7-carbonitrila (5 g, 15,3 mmol) em DMF (25 mL) para 40 °C. Adicionar carbonato de cério (10,4 g, 32,4 mmol) e bromidrato de 2-bromometilpiridina (4,05 g, 16 mmol). Agitar a mistura a 40°C durante 24 horas. Adicionar a mistura à água (250 mL) e agitar durante 1 hora. Filtrar os sólidos e secar o material coletado sob vácuo. Adicionar o sólido a EtOH (25 mL) e refluxar durante 30 minutos. Resfriar a mistura para 22 °C e filtrar. Secar o sólido sob vácuo até um peso constante para fornecer 4,8 g (75%) do composto do título. MS (m/z): 419 (M+H).

Intermediário 3

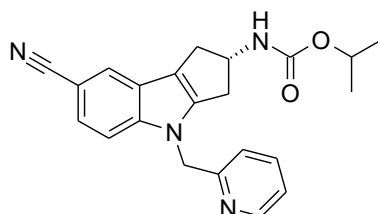
cloridrato de (±)-2-amino-4-piridin-2-ilmetil-1,2,3,4-tetra-hidro-ciclopenta[b]indol-7-carbonitrila



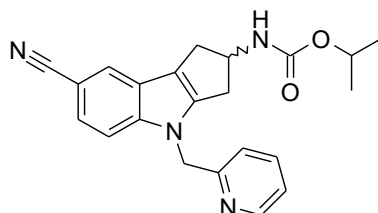
[0038] Adicionar 2-(1,3-dioxo-1,3-di-hidro-isoindol-2-il)-4-piridin-2-ilmetil-1,2,3,4-tetra-hidro-ciclopenta[*b*]indol-7-carbonitrila (77 g, 184 mmol) a THF (1,3 L) e EtOH (230 mL). Agitar a mistura durante 10 minutos e em seguida adicionar mono-hidrato de hidrazina (20 mL, 400 mmol). Agitar a mistura a 22 °C durante 16 horas. Filtrar a mistura e evaporar os lícores mãe. Dissolver o resíduo em diclorometano (300 mL). Adicionar uma solução de HCl a 4M em dioxano (50 mL) e agitar a mistura durante 2 horas. Filtrar e secar o sólido isolado sob vácuo até um peso constante para fornecer 54 g (90%) do composto do título. MS (m/z): 289 (M+H).

Exemplo 1

Isopropil éster de ácido (S)-(7-ciano-4-piridin-2-ilmetil-1,2,3,4-tetra-hidro-ciclopenta[*b*]indol-2-il)-carbâmico



Etapa 1: Isopropil éster de ácido (±)-(7-ciano-4-piridin-2-ilmetil-1,2,3,4-tetra-hidro-ciclopenta[*b*]indol-2-il)-carbâmico



[0039] A uma solução de (±)-2-amino-4-piridin-2-ilmetil-1,2,3,4-tetra-hidro-ciclopenta[*b*]indol-7-carbonitrila (2,32 g, 8,05 mmol) e diisopropiletilamina (9,65 mmol, 1,68 mL) em diclorometano (10 mL), adicionar cloroformiato de isopropila (8,86 mmol, 8,9 mL) e agitar em temperatura ambiente durante a noite. Diluir com acetato de etila e lavagem com solução de K₂CO₃ a 10 % (2×). Secar a porção orgânica sobre Na₂SO₄, filtrar, e concentrar para obter 3,3 g. Purificar por

cromatografia de coluna (0 a 100% de acetato de etila/diclorometano) para obter 2,48 g (82%) do produto racêmico. LCMS 375,2 (M+H).

Procedimento Alternado:

[0040] Adicionar cloridrato de (\pm)-2-amino-4-piridin-2-ilmetil-1,2,3,4-tetra-hidro-ciclopenta[b]indol-7-carbonitrila (35 g, 108 mmol) a uma mistura de diclorometano (350 mL) e piridina (70 mL). Agitar a mistura sob nitrogênio e resfriar para 5 °C. Adicionar cloroformiato de isopropila (solução a 1M em tolueno, 162 mL, 162 mmol). Remover o banho de gelo e agitar a mistura a 22 °C. Após 16 horas evaporar o solvente. Adicionar o resíduo resultante à água (350 mL) e agitar 2 horas. Filtrar e secar o sólido coletado sob vácuo a 45 °C. Adicionar o sólido ao acetato de etila (400 mL) e aquecer a mistura até refluxo. Em seguida, resfriar para 22°C e filtrar o sólido. Adicionar o sólido úmido ao acetato de etila (200 mL) e aquecer até refluxo durante 30 minutos. Resfriar a mistura para 22 °C durante uma hora e em seguida resfriar para 0 a 5°C durante 5 minutos. Filtrar a mistura e secar o sólido isolado sob vácuo até um peso constante para fornecer 23 g (62%) do composto do título. MS (m/z): 374 (M+H).

Etapla 2: isopropil éster de ácido (R)- e (S)-(7-ciano-4-piridin-2-ilmetil-1,2,3,4-tetra-hidro-ciclopenta[b]indol-2-il)-carbâmico

[0041] Separar os enantiômeros de Exemplo 1 por cromatografia quiral preparativa usando coluna Chiralpak AD (8 × 33 cm), eluindo com EtOH a 100 % a 375 mL/min e 250 nm. Isômero 1 (R): 1,14 g, 99,9% de excesso enantiomérico (condições analíticas: coluna Chiralpak AD-H, eluindo com 100% de EtOH/0,2% de dimetiletilamina; LCMS 375,2 (M+H). Isômero 2 (S): 1,67 g, 99,4% de excesso enantiomérico; LCMS 375,2 (M+H).

Rotina alternada para Exemplo 1, Isômero 2: isopropil éster de ácido (S)-(7-ciano-4-piridin-2-ilmetil-1,2,3,4-tetra-hidro-ciclopenta[b]indol-2-il)-carbâmico

[0042] Adicionar isopropil éster de ácido (S)-(7-ciano-1,2,3,4-tetra-hidro-ciclopenta[*b*]indol-2-il)-carbâmico (13 g, 41,3 mmol) a DMF (100 mL) e aquecer a solução para 40 °C. Adicionar carbonato de cério (42 g, 129 mmol) em uma porção e agitar a mistura durante 30 minutos a 40 °C. Adicionar (bromidrato de 2-bromometilpiridina 21 g, 83 mmol) em porções durante 4 horas. Agitar a mistura a 40°C durante 18 horas. Adicionar à mistura a água gelada (1 L) a 0 a 5 °C e agitar durante 30 minutos. Isolar o sólido por filtração e secar sob vácuo até peso constante. Passar o material sobre uma almofada de sílica-gel eluindo com CH₂Cl₂/EtOAc (7/3). Combinar as frações contendo o produto e evaporar o solvente para fornecer um sólido marrom pálido. Recristalizar de acetato de etila para fornecer 15,3 g (77%) dos compostos do título. LC/MS (m/z) 375 (M+H).

Segunda rotina alternada:

[0043] (condições de HPLC - coluna: Zorbax® SB-Phenyl, Rápida Resolução, 4,6 × 75 mm, 3,5 mícrons; solvente: 10 % de acetonitrila/ 90% de água com 0,05% de TFA; UV a 230 nm)

Etapas 1: Terc-butil éster de ácido (±)-(7-ciano-1,2,3,4-tetra-hidro-ciclopenta[*b*]indol-2-il)-carbâmico

[0044] Equipar um frasco de fundo redondo de 3 gargalos de 12 L com agitação aérea, par térmico, funil de adição, entrada de nitrogênio, e banho de resfriamento. Carregar o frasco com (±)-2-(1,3-dioxo-1,3-di-hidro-isoindol-2-il)-1,2,3,4-tetra-hidro-ciclopenta[*b*]indol-7-carbonitrila (500 g, 1,53 mol) e THF (5 L). Agitar a suspensão resultante em temperatura ambiente. Adicionar mono-hidrato de hidrazina (185,6 mL, 3,82 moles) em um fluxo lento a partir de um funil de adição durante 10 minutos. Agitar a mistura resultante em temperatura ambiente durante a noite (cerca de 18 horas). Adicionar água gelada ao banho e carregar o funil de adição com dicarbonato de di-*t*-butila (875,1 g, 4,01 moles; previamente fundido a um líquido). Adicionar à mistura

reacional durante 2 horas, mantendo a temperatura de pote abaixo de 30 °C. Após 15 minutos, analisar por HPLC para constatar consumo completo do intermediário amina. Filtrar a mistura reacional sobre uma mistura de polipropileno em um filtro de bancada de aço inoxidável e lavar a massa filtrada resultante com acetato de etila (2 × 1 L). Concentrar o filtrado a vácuo para remover a maioria do THF. Purificar a mistura resultante (cerca de 1 L) sobre um tampão de sílica-gel (4 Kg de Kieselgel-60), eluindo com acetato de etila. Concentrar o eluente recuperado a vácuo a um óleo escuro. Adicionar heptano (2 L) e acetato de etila (350 mL) e girar os conteúdos em um evaporador giratório em temperatura ambiente durante 2 horas. Adicionar gelo ao banho e girar a suspensão resultante a 5 °C durante mais 2 horas. Filtrar os sólidos, enxaguar com 90/10 heptano/acetato de etila (2 × 500 mL) e secar a vácuo a 35 °C. Obter o composto do título como um sólido castanho claro em 91,6 % de produção.

Etapas 2: terc-butil éster de ácido (±)-(7-ciano-4-piridin-2-ilmetil-1,2,3,4-tetra-hidro-ciclopenta[*b*]indol-2-il)-carbâmico

[0045] Equipar um frasco de 20 mL com saída no fundo com agitação aérea, par térmico, e entrada de nitrogênio. Carregar o frasco com terc-butil éster de ácido (±)-(7-ciano-1,2,3,4-tetra-hidro-ciclopenta[*b*]indol-2-il)-carbâmico (500 g, 1.68 moles) e diclorometano (5 L). Começar a agitação e adicionar sulfato de hidrogênio de tetra *n*-butilamônio (58,9 g, 0,168 mol) seguido por bromidrato de 2-(bromometil)piridina (510,4 g, 2,02 moles). Adicionar água desionizada (2 L) seguida por uma solução de NaOH a 50 % (445,3 mL, 8,41 moles). Agitar a mistura resultante vigorosamente durante a noite (cerca de 21 horas). Interromper a agitação, permitir que as camadas se separem, e descartar a camada aquosa (superior). Lavar os materiais orgânicos com água desionizada (3 × 4 L), secar sobre sulfato de sódio, e concentrar a vácuo a cerca de 500 mL. Purificar o

material bruto sobre um tampão de sílica-gel (7 Kg de Keisegel 60) usando 1:1 de acetato de etila/heptano como eluente. Concentrar o eluente *a vácuo* para fornecer 560 gramas do composto do título como um sólido esbranquiçado (81,4 %).

Etapa 3: Isômero 1, (R)- e Isômero 2, terc-butil éster de ácido (S)-(7-ciano-4-piridin-2-ilmetil-1,2,3,4-tetra-hidro-ciclopenta[b]indol-2-il)-carbâmico

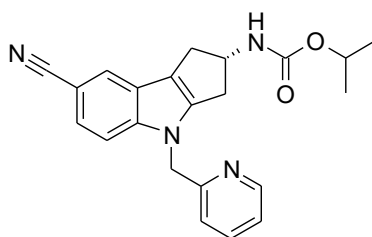
[0046] Usar o seguinte método de HPLC quiral analítico para analisar os enantiômeros: 4,6 × 150 mm de coluna Chiralpak AD-H (Chiral Technologies), 20:80:0,2 de acetonitrila/etanol desnaturado de grau 3A/fase móvel de dimetiletilamina, taxa de fluxo de 0,6 mL/min, detecção de UV em 255 nm. O enantiômero 1 elui em 4,0 min e o enantiômero 2 elui em 5,2 min. Uma impureza de 8 % (255 nm) elui em 3,6 minutos. Purificar terc-butil éster de ácido (±)-(7-ciano-4-piridin-2-ilmetil-1,2,3,4-tetra-hidro-ciclopenta[b]indol-2-il)-carbâmico (528 g) por HPLC quiral preparativa usando as seguintes condições: 8 × 33 cm de coluna Chiralpak AD, a mesma fase quiral que a analítica, 375 mL/min de taxa de fluxo, detecção de UV em 270 nm. Dissolver 108 g de amostra na fase móvel em uma concentração final de 75 mg/mL. Carga de 4,0 g/injeção com fração de enantiômero 1 eluindo entre 3,5 a 5,5 minutos e enantiômero 2 eluindo entre 6 a 10 min. Fixar o tempo de execução final em 7,5 min/injeção com empilhamento parcial do perfil de enantiômero 2 eluindo logo após cada injeção para reduzir o consumo de solvente. Purificar os 420 g restantes sobre um tampão de sílica usando sílica-gel 230-400 malhas Merck 9385 60 Angstrom, eluindo com um sistema de solvente de 1:2:7 de diclorometano/heptano/metil t-butil éter. Usar uma almofada de sílica de 3,5 kg com filtração a vácuo a 140 g de amostra/tampão. O Racemato começa a emergir após 5 volumes de coluna. Usar 100% de metil t-butil éter seguido por 100 % de acetona para empurrar o

racemato restante para fora do tampão. Obter um total de 358,5 g de 98+% de racemato puro desta maneira. Resolver este material como acima por HPLC quiral preparativa. Obter 208,8 g (99,9% de ee) de enantiômero 1 (isômero de R) e 197 g (99,6% de ee) de enantiômero 2 (S isômero).

Etapla 4: Cloridrato de (S)-2-amino-4-piridin-2-ilmetil-1,2,3,4-tetra-hidro-ciclopenta[b]indol-7-carbonitrila

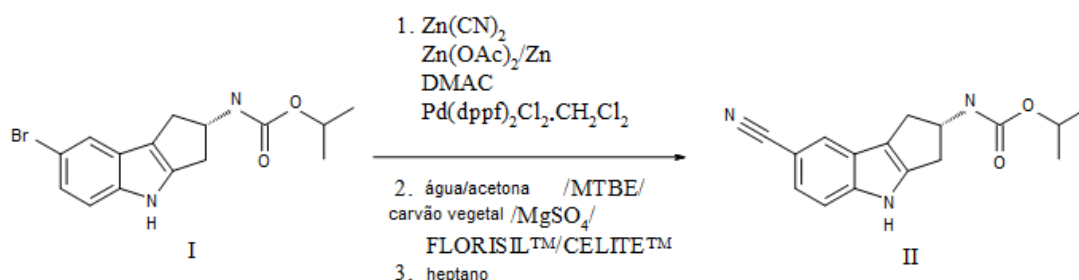
[0047] Equipar um frascote de fundo redondo de 3 gargalos de 3 L com uma manta de aquecimento, um agitador de ar, sonda de temperatura, entrada de nitrogênio, e funil de adição. Carregar o frasco com terc-butil éster de ácido (S)-(7-ciano-4-piridin-2-ilmetil-1,2,3,4-tetra-hidro-ciclopenta[b]indol-2-il)-carbâmico (85,0 g, 0,22 mol), e EtOH (850 mL). Adicionar HCl concentrado (180 mL, 2,20 moles) em uma porção. Aquecer a solução resultante para 45 a 50 °C e agitar durante 90 minutos, após isso analisar por HPLC para indicar consumo completo de material de partida. Transferir a mistura para um frasco de Buchi, diluir com água desionizada (595 mL), e concentrar a vácuo para remover EtOH. Adicionar EtOAc em duas porções (2 x 170 mL) e extrair novamente para remover tanto o EtOAc quanto o EtOH residual. Transferir o concentrado aquoso para um frasco de reação de 5 L, e resfriar para 10 a 15 °C. Ao mesmo tempo em que mantendo a temperatura da reação a < 30 °C, ajustar o pH da solução para 11 a 12 pela adição gota a gota de NaOH a 5 M (950 mL). Extrair a mistura resultante com CH₂Cl₂ (1300 mL, 800 mL). Lavar os extratos de CH₂Cl₂ combinados com água desionizada (500 mL), secar sobre Na₂SO₄, e concentrar a vácuo para fornecer o composto do título como um sólido verde claro (65,0 g, 103 %).

Etapla 5: isopropil éster de ácido (S)-(7-ciano-4-piridin-2-ilmetil-1,2,3,4-tetra-hidro-ciclopenta[b]indol-2-il)-carbâmico

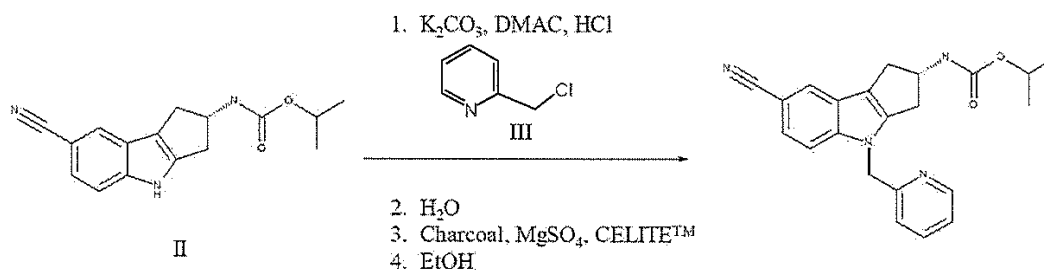


[0048] Equipar um frasco de reação de 2 L com um banho de resfriamento, um agitador de ar, sonda de temperatura, e funil de adição. Carregar o frasco com cloridrato de (S)-2-amino-4-piridin-2-ilmetil-1,2,3,4-tetra-hidro-ciclopenta[b]indol-7-carbonitrila (62,8 g, 0,218 mol), DMF (188 mL), e trietilamina (33,4 mL, 0,240 mol). Resfriar a solução resultante para 0 °C usando um banho de gelo/acetona. Ao mesmo tempo em que mantendo a temperatura a <10 °C, adicionar cloroformiato de isopropila (218 mL, 0,218 mol, 1 M em tolueno) gota a gota por meio de um funil de adição. Quando a adição for concluída, remover o banho de resfriamento e permitir que a mistura aqueça para temperatura ambiente. Após 1 hora, analisar por HPLC para indicar a reação está concluída, e desejar a mistura em uma solução de água desionizada (1256 mL) e EtOAc (1884 mL). Separar as camadas, filtrar a camada orgânica, e lavar novamente com uma solução de 1:1 de água:salmoura, em seguida secar sobre Na₂SO₄. Concentrar a vácuo a 55 °C a cerca de 15 volumes, e permitir que o material resultante esfrie para temperatura ambiente, fornecendo um precipitado branco. Adicionar heptano (628 mL) e agitar durante 20 minutos. Concentrar a mistura novamente em cerca de 15 volumes. Filtrar os sólidos, lavar com heptano, e secar para fornecer o composto do título como um sólido branco fofo (68,9 g, 84,5%). ¹H RMN (500 MHz, DMSO-*d*₆), δ 8,49 (dd, 1H), 7,86 (d, 1H, *J* = 1,5), 7,71-7,75 (m, 1H), 7,60 (d, 1H, *J* = 9,0), 7,57 (d, 1H, *J* = 9,0), 7,36 (dd, 1H), 7,28-7,26 (m, 1H), 7,14 (d, 1H, *J*=7,5), 5,44 (s, 2 H), 4,79-4,72 (m, 1H), 4,71-4,66 (m, 1H), 3,22-3,20 (m, 1H), 3,16-3,12 (m, 1 H), 2,73-2,66 (m, 2 H), 1,16 (dd, 6 H).

3ª Síntese Alternada

Etapas 1

[0049] Tratar isopropil éster de ácido (7-Bromo-1,2,3,4-tetra-hidro-ciclopenta[b]indo-2-il)-carbâmico (I) com $\text{Zn}(\text{CN})_2$, $\text{Zn}(\text{OAc})_2$, Zn, e $\text{Pd}(\text{dppf})_2\text{Cl}_2 \cdot \text{CH}_2\text{Cl}_2$ em DMAC para fornecer o isopropil éster de ácido (7-ciano-1,2,3,4-tetra-hidro-ciclopenta[b]indol-2-il)- água para precipitar o grau técnico II. Redissolver o Intermediário II em uma mistura de MTBE e acetona e filtrar a suspensão resultante para remover os componentes inorgânicos. Tratar o filtrado contendo II com carvão, MgSO_4 , e FLORISIL™ antes do isolamento de II como um sólido de cristal na cristalização de heptano.

Etapas 2

[0050] Reagir o Intermediário II com cloridrato de cloreto de 2-picolila (III) e K_2CO_3 em DMAC para fornecer Exemplo 1 em grau técnico. Isolar Exemplo 1 em grau técnico pela adição de água e filtração. Recristalizar três vezes a partir de EtOH para fornecer Exemplo 1.

Ensaio, Estudos *In Vivo*, e Estudos Clínicos

Ensaio em Rato Orquidectomizado

[0051] Um total de 86 ratos Sprague-Dawley machos virgens (Harlan Sprague Dawley Inc) é usado. 14 ratos são operados por simulação e 72 ratos são castrados em 6 meses de idade. Os ratos são mantidos em um ciclo de 12 horas de luz/escuro a 22 °C com acesso à vontade à comida (TD 89222 com 0,5% de Ca e 0,4% de P, Teklad, Madison, WI) e água. Os ratos Orx são deixados perder osso durante 2 meses, pesados e randomizados em grupos de tratamento, como detalhado na Tabela 1 abaixo. Os grupos 1 e 2 são sacrificados no primeiro dia como os controles de linha de base, os controles de Simulação e Orx dos grupos 3 e 4 são veículo administrado (0,25 % de CMC/Twin80). Ao grupo 5 é fornecido PTH (1-38) sc como uma injeção. Aos grupos 6 a 13 são administrados SARMS oralmente por meio de gavagem. Todos os tratamentos são uma vez por dia durante 2 meses.

Tabela 1

Grupo nº	Grupo de tratamento	8 meses Dia 0	10 meses Dia 60	Rotina de Liberação
1	Simulação		7	Po
2	Orx		6	Po
3	Pré-Simulação		7	Po
4	Pré-Orx		7	Po
5	Orx + PTH (10 ug/Kg/d)		6	Sc
6	Orx + Exemplo 1 (1 mg/Kg/d)		6	Po
7	Orx + Exemplo 1 (3 mg/Kg/d)		7	Po
8	Orx + Exemplo 1 (10 mg/Kg/d)		7	Po
9	Orx + Exemplo 1 (20 mg/Kg/d)		7	Po

[0052] Para histomorfometria dinâmica, todos os ratos, exceto linhas de base, recebem xilenol laranja 90 mg/kg sc no primeiro dia do início do tratamento. A todos os ratos são fornecidos calceína em

10mg/kg s.c nos dias 14, 13 e nos dias 4, 3 antes do sacrifício.

Preparações de amostra:

[0053] PTH (1-38) (Zeneca (Cambridge Research Biochemicals) Ref # - DG-12-14071, Batch 14071): veículo de salina acidificada com 2 % de soro de rato inativado

EXEMPLO 1: 1 % de CMC/0,25% de Tween 80 0,5mL/rato com base no peso corporal.

Finalidades & Parâmetros Medidos

[0054] 1. Peso corporal: antes e bissemanalmente, volume de dosagem ajustado consequentemente

[0055] 2. RMN: no início e no final do estudo

[0056] 3. Músculo: os pesos úmidos são obtidos a partir do gastrocnêmio esquerdo, quadríceps, sóleo, levantador do ânus, Vesícula Seminal (SV), próstata, e coração, em seguida coletados para análise de RNA ou histologia.

[0057] 4. As amostras de soro terminais são coletadas de todos os animais e armazenadas a -80 °C em 1x100 µL (OCN), 2x 150 (IGF-1 e armazenamento) , 1x 300 µL (Chem 18) , 2x500 µL (um para BSALP, e armazenamento).

[0058] 5. Coleta de osso: um fêmur e as vértebras lombares são fixados (em 50/50 de etanol/salina) para teste de CT e biomecânico; uma tíbia é coletada para análise de PALP/calceína com desgaste da epífise (em 70% de etanol), outra tíbia é coletada para análises histomorfométricas (70% de etanol).

[0059] 4. Determinação de PK: alguns dias antes da retirada, 3 ratos em cada grupo de dose (n=3 de artigos de teste apenas) são submetidos a sangramento da cauda para obter aproximadamente 0,2 mL de sangue em tubos de EDTA nos seguintes pontos de tempo: 0,25, 0,5, 1, 2, 3, 4, 8 e 24 horas. As amostras são transferidas para ADME para análise de concentração de plasma.

Tabela 2

Grupo nº	Grupo de Tratamento	Peso de SV, % de Simulação
2	Orx	5,7
5	Orx + PTH (10 ug/Kg/d)	5,6
6	Orx + Exemplo 1 (1 mg/Kg/d)	5,6
7	Orx + Exemplo 1 (3 mg/Kg/d)	5,5
8	Orx + Exemplo 1 (10 mg/Kg/d)	6,0
9	Orx + Exemplo 1 (20 mg/Kg/d)	6,1

[0060] Após um protocolo essencialmente como descrito acima, o Exemplo 1 não resultou em nenhum acréscimo significativo de peso de vesícula seminal após tratamento de 8 semanas em um rato orquidectomizado durante 8 semanas e que foi hiper-responsivo a qualquer estimulação androgênica.

Tabela 3

Grupo nº	Grupo de Tratamento	LV-TBMC (mg) ±SD	LV-TBMD (mg/cm³) ±SD	LV-TA (cm²) ±SD
1	Simulação	1,7871 ± 0,0509	574,471 ± 13,385	0,3463 ± 9,71E-03
2	Orx	1,5814 ± 0,0521	508,314 ± 13,037	0,3456 ± 7,61E-03
3	Orx + Exemplo 1 (1 mg/Kg/d)	1,54 ± 0,0256	507,4 ± 6,931	0,3378 ± 7,08E-03
4	Orx + Exemplo 1 (3 mg/Kg/d)	1,79 ± 0,095	549 ± 15,965	0,362 ± 0,0138
5	Orx + Exemplo 1 (10 mg/Kg/d)	1,7757 ± 0,0607	562,843 ± 16,104	0,3521 ± 0,0125
6	Orx + Exemplo 1 (20 mg/Kg/d)	1,6943 ± 0,0264	529,357 ± 10,052	0,3563 ± 0,0102

[0061] O tratamento com Exemplo 1 resultou em acréscimo significativo de densidade mineral óssea trabecular da vértebra lombar

(LV-TBMD) e mostrou uma tendência ao aumento em teor mineral ósseo trabecular da vértebra lombar (LV-TBMC), e área transversal (LV-TA) após tratamento de 8 semanas em um rato orquidectomizado durante 8 semanas com mostrando na Figura 2 e Tabela 3.

Estudo *in vivo* para explorar o efeito de antagonista direto do Exemplo 1 na presença de TE

[0062] Um total de 36 ORX e 6 ratos machos Wistar operados por simulação é usado (orquidectomizado em 8 semanas de idade e deixado com resíduo durante 4 semanas). Os ratos são mantidos em um ciclo de 12 horas luz/escuro a 22 °C com acesso à vontade a comida (TD 5001 com 0,95% de Ca e 0,67% de P, Teklad, Madison, WI) e água. Os ratos são randomizados e colocados em grupos de tratamento (n=6) com base em peso corporal. A rotina de administração para todos os grupos, exceto TE, é oral. O TE é administrado subcutaneamente. No final de 8 semanas de dosagem diária, os ratos são sacrificados, pesados e o tecido colhido. Levantador do ânus, próstatas, e vesículas seminais são coletados de cada animal. Os resultados são plotados como médias \pm SE.

Tabela 4

Grupo nº	Grupo de Tratamento	3 meses Dia 0	5 meses Dia 60	Rotina de Liberação, Ex. 1	Rotina de Liberação, TE
1	Simulação		6	Po	Sc
2	ORX + TE, 1 mg/kg/d		6	Po	Sc
3	ORX + TE, 1 mg/kg/d + Exemplo 1, 3 mg/kg/d		6	Po	Sc
4	ORX + TE, 1 mg/kg/d + Exemplo 1, 10 mg/kg/d		6	Po	Sc
5	ORX + TE, 1 mg/kg/d + Exemplo 1, 30 mg/kg/d		6	Po	Sc

[0063] A combinação com enantato de testosterona (1 mg/Kg por

dia) e várias doses de Exemplo 1 sugerem uma tendência no decréscimo do peso úmido da vesícula seminal em mg normalizado ao peso corporal em gm, que é induzido por TE apenas como mostrando na Figura 3 e Tabela 4.

Comparação de médias de pesos úmidos da vesícula seminal

Comparação com um controle usando Método de Dunnett

Grupo de Controle = d-ORX + TE, 1 mg/kg/d

|d| Alfa

2,69715 0,05

Tabela 5

Grupo nº	Grupo	Abs(Dif)-LSD	p-Valor
1	Simulação	0,979	<0,0001
2	ORX + TE, 1 mg/kg/d	-0,52	1,0000
3	ORX + TE, 1 mg/kg/d + Exemplo 1, 3 mg/kg/d	-0,34	0,8628
4	ORX + TE, 1 mg/kg/d + Exemplo 1, 10 mg/kg/d	0,078	0,0187
5	ORX + TE, 1 mg/kg/d + Exemplo 1, 30 mg/kg/d	0,536	<0,0001
6	ORX + Exemplo 1, 10 mg/kg/d	1,411	<0,0001
7	ORX, Veículo	1,422	<0,0001

[0064] Os valores positivos mostram pares de médias que são significativamente diferentes.

[0065] O cotratamento de Exemplo 1 a ratos SD junto com 1 mg/Kg de TE resultou em um decréscimo dependente de dose no peso úmido da próstata em mg normalizado ao peso corporal em gramas como mostrando na Figura 4 e Tabela 5.

Comparação das médias dos pesos de próstata

Comparação com um controle usando Método de Dunnett

Grupo de Controle = d-ORX + TE, 1 mg/kg/d

|d| Alfa

2,69715 0,05

Tabela 6

 d 	Alfa		
Grupo nº	Grupo	Abs(Dif) -LSD	p-Valor
1	Simulação	0,509	<0,0001*
2	ORX + TE, 1 mg/kg/d	-0,15	1,0000
3	ORX + TE, 1 mg/kg/d + Exemplo 1, 3 mg/kg/d	-0,11	0,9774
4	ORX + TE, 1 mg/kg/d + Exemplo 1, 30 mg/kg/d	0,025	0,0167*
5	ORX + TE, 1 mg/kg/d + Exemplo 1, 10 mg/kg/d	0,036	0,0099*
6	ORX, Veículo	0,356	<0,0001*
7	ORX + Exemplo 1, 10 mg/kg/d	0,357	<0,0001*

[0066] Os valores positivos mostram pares de médias que são significativamente diferentes do grupo de TE sozinho.

Tabela 7

Grupo nº	Grupo de Tratamento	Peso de SV, % Simulação	Peso de Próstata, % Simulação
2	ORX + TE, 1 mg/kg/d	58,5	45,5
3	ORX + TE, 1 mg/kg/d + Exemplo 1, 3 mg/kg/d	53,5	42,7
4	ORX + TE, 1 mg/kg/d + Exemplo 1, 10 mg/kg/d	42,0	30,3
5	ORX + TE, 1 mg/kg/d + Exemplo 1, 30 mg/kg/d	29,2	31,2

Tabela 8

	hAR Ki (nM)	EC50 de Expressão de Gene de LnCAP (nM)		
		PSA	AR	CLUSTERINA
R1881	0,38	0,034	0,035	0,37
Exemplo 1	1,95	2,64	1,64	>100

[0067] As comparações do Exemplo 1 com a testosterona sintética, R1881, mostram que, usando células de câncer *in vitro* de próstata humana, o Exemplo 1 é menos androgênico do que R1881. Em contraste, a afinidade de ligação bioquímica com o receptor de androgênio humano (Ki em nM) é apenas modestamente reduzida.

Estudo de toxicidade oral de quatro semanas em ratos

[0068] Este estudo é conduzido para avaliar a toxicidade potencial e toxicocinética de Exemplo 1 em ratos após 4 semanas de exposição. A três grupos de tratamento de 10 ratos CD® [Crl:CD®(SD)] machos e fêmeas são administrados o artigo de teste em respectivos níveis de dose de 15, 150, e 1500 mg/kg/dia. Um grupo adicional de 10 animais/sexos serve como o controle e recebe o veículo, 5 % de TPGS de vitamina E, 1 % de hidroxietilcelulose, 0,05% de Antiespuma Dow Corning 1510-US em água purificada derivada de osmose reversa. O artigo ou veículo de teste é administrado a todos os grupos por meio de gavagem oral, uma vez por dia durante 28 dias consecutivos, em um volume de dose de 15 mL/kg. Além disso, três grupos de 18 animais/sexo/grupo servem como animais toxicocinéticos (TK) e recebem o artigo de teste da mesma maneira e o volume de dose como os grupos do estudo principal nos respectivos níveis de dose de 15, 150, e 1500 mg/kg/dia. Um grupo adicional de três animais/sexos serve como controle toxicocinético e recebe o veículo da mesma maneira e o volume de dose como os grupos tratados.

[0069] Observações quanto à morbidade, mortalidade, lesão, e a disponibilidade de alimento e água são conduzidas duas vezes diárias para todos os animais. As observações para sinais clínicos são conduzidas semanalmente para os animais do estudo principal. Ambos os pesos foram medidos e registrados semanalmente para todos os animais e o consumo de alimento é medido e registrado semanalmente para os animais do estudo principal. Exames oftalmoscópicos são conduzidos em pré-teste em todos os animais e antes da necropsia terminal para os animais do estudo principal. Amostras de sangue para avaliações de patologia clínica são coletadas de todos os animais do estudo principal em necropsia. Amostras de urina são coletadas no último dia de dosagem. As amostras de sangue para determinação das concentrações de plasma

do artigo de teste são coletadas de animais TK em pontos de tempo determinados nos dias 1 e 28. Após a coleta de sangue final, os animais TK são sacrificados e as carcaças são descartadas sem outra avaliação. As amostras de fígado para análise de indução de enzima hepática são coletadas em necropsia terminal dos animais do estudo principal. Ao término do estudo, os exames de necropsia são realizados, os pesos de órgão são registrados, e os tecidos de vesícula seminal e de próstata são microscopicamente examinados. O exame microscópico adicional é realizado no testículo esquerdo dos primeiros cinco ratos machos/grupo em necropsia. O ovário, o útero com cervix, a vagina, e a glândula mamária das fêmeas são determinados ser órgãos alvo.

[0070] Seguindo um protocolo essencialmente como descrito acima, a exposição sistêmica (AUC₀₋₂₄ horas) foi altamente variável e aumentou de uma maneira menos proporcional do que a dose com a exposição em fêmeas excedendo a observada nos machos. Não houve evidência de indução de enzima microssômica hepática após os 28 dias de dosagem.

[0071] Não houve nenhuma morte não programada durante o estudo, e nenhum sinal clínico relacionado com o artigo de teste. O peso corporal e o consumo de alimento foram maiores entre as fêmeas que receberam ≥ 150 mg/kg/dia em relação aos controles. Estes efeitos não impactaram a saúde geral dos animais e não são considerados adversos. Não houve nenhum efeito de peso corporal ou consumo de alimento evidente nos machos.

[0072] Não houve nenhum efeito relacionado ao artigo de teste sobre os parâmetros de hematologia, coagulação, ou urinálise em nenhum dos dois sexos e nenhum efeito relacionado com o artigo de teste sobre os parâmetros químicos clínicos nos machos. Os efeitos relacionados com artigo de teste sobre os parâmetros de química

clínicos nas fêmeas foram limitados a aumentar em fosfatase alcalina em dosagens de 150 e 1500 mg/kg/dia (aumentos de 1,33 e 1,45 vezes, respectivamente), diminuir em proteína total em dosagens de 150 e 1500 mg/kg/dia (decréscimos de 9% e 10%, respectivamente), diminuir em albumina em dosagens de 150 e 1500 mg/kg/dia (decréscimo de 12 % em ambas as dosagens) e diminuir em globulinas a 1500 mg/kg/dia apenas (decréscimo de 11% em relação aos controles). Estas mudanças são de magnitude mínima e não são consideradas adversas.

[0073] Não houve nenhuma mudança de peso de órgão ou macroscópica relacionada com artigo de teste em nenhum dos dois sexos e nenhuma mudança microscópica relacionada com artigo de teste nas fêmeas. As mudanças microscópicas relacionadas com artigo de teste estavam presentes nas fêmeas na glândula mamária e ovários nos níveis de dose ≥ 15 mg/kg/dia e no útero (com cervix) e vagina em níveis de dose ≥ 150 mg/kg/dia. Estas mudanças microscópicas, que são consistentes com um prolongamento relacionado com dose do ciclo reprodutivo em ratos fêmeas em níveis de dose ≥ 150 mg/kg/dia, são consideradas ser relacionadas à farmacologia do artigo de teste e não são consideradas adversas.

[0074] Com base nos resultados delineados acima, o NOAEL para este estudo é considerado ser 1500 mg/kg/dia, a dose mais elevada administrada. A exposição sistêmica média de estado estável (AUC_{0-24} horas) na dose de NOAEL de 1500 mg/kg/dia foi 102337 ng*hr/mL em machos e 216853 ng*hr/mL nas fêmeas.

Estudo de toxicidade oral de seis meses em ratos

[0075] O propósito deste estudo é investigar a toxicidade e determinar a farmacocinética de Exemplo 1 no rato Sprague-Dawley após gavagem oral diária durante 26 semanas e avaliar a reversibilidade de quaisquer resultados após um período de

recuperação de 12 semanas. Os animais tratados recebem Exemplo 1 em 5 % de TPGS de vitamina E, 1 % de hidroxietilcelulose, 0,05% de Antiespuma Dow Corning 1510-US em água purificada por gavagem oral em doses diárias de 15, 150, ou 1500 mg/kg/dia. Aos controles de veículo (15 ratos/sexo no estudo principal e 5 ratos/sexo em estudo de recuperação) são fornecidos diariamente dose de gavagem oral de 5 % de TPGS de vitamina E, 1 % de hidroxietilcelulose, 0,05% de Antiespuma Dow Corning 1510-US em água purificada. Quinze machos e 15 fêmeas são atribuídos a cada grupo de estudo principal de tratamento. Cinco machos e cinco fêmeas são atribuídos ao estudo de recuperação para o controle de veículo e grupos de 150 mg/kg/dia. Os grupos satélites adicionais de 6 ratos/sexo para o grupo de controle de veículo e 12 ratos/sexo para os grupos tratados com Exemplo 1 são avaliados quanto à toxicocinética. Todas as administrações são fornecidas em um volume de 15 mL/kg.

[0076] Após a administração de gavagem oral diária, a exposição ao Exemplo 1 é altamente variável em todas as doses, embora os valores de AUC(0-24h) médios não sobreponíveis são observados tanto em machos quanto em fêmeas entre as doses mais baixas e mais elevadas, particularmente nos dias 91 e 182. Geralmente, as exposições de dose única ou múltiplas doses (C_{max} e AUC(0-24h)) aumentam menos do que proporcionalmente de 15 para 1500 mg/kg/dia tanto para machos quanto para fêmeas. As fêmeas exibem exposições mais altas do que os machos em todos os dias. No dia 1, a exposição de +-fêmea é até 7 vezes maior do que dos machos, porém esta diferença diminui para 1 a 3 vezes no Dia 182. Após as doses múltiplas, o acúmulo de Exemplo 1 não é observado para qualquer grupo de dose até o Dia 182.

[0077] Após um protocolo essencialmente como descrito acima, não houve nenhuma mortalidade atribuída à administração de

Exemplo 1 durante o decorrer do estudo. Não houve nenhum efeito relacionado ao composto sobre a oftalmologia, ou parâmetros de urinálise.

[0078] Os sinais clínicos relacionados ao Exemplo 1 foram observados em um modelo dependente de dose nas fêmeas tratadas e consistiram em um aumento na incidência de pele oleosa e um decréscimo na incidência de cobertura fina da pele. Durante as primeiras 6 semanas do período de recuperação, a pele oleosa foi também observada nas fêmeas previamente tratadas com 150 mg/kg/dia, porém já não estava presente nestes animais na última metade do período de recuperação de 12 semanas. Não existe nenhuma diferença na incidência de cobertura fina da pele nas fêmeas tratadas e de controle no final do período de recuperação.

[0079] Nas fêmeas tratadas com Exemplo 1, houve um decréscimo no peso corporal em todos os níveis de dose, alcançando -12% quando comparado aos machos de controle no final do período de tratamento. Nas fêmeas, houve uma tendência oposta, com fêmeas tratadas alcançando um peso corporal de 22 % maior do que dos controles concorrentes no final do período de tratamento. A mudança nos machos foi ainda observada no final do período de recuperação, porém não nas fêmeas.

[0080] Os machos tratados mostraram consumo de alimento inferior, e as fêmeas tratadas geralmente mostraram consumo de alimento maior do que o dos controles durante todo o estudo, correlacionado aos efeitos relacionados com tratamento sobre o peso corporal. O consumo de alimento para machos tratados permaneceu menor do que o dos controles durante o período de recuperação, porém a magnitude da diferença torna-se insignificante no final do período de 12 semanas. Não existe nenhuma diferença no consumo de alimento das fêmeas tratadas em comparação com os controles

durante o período de recuperação.

[0081] A administração de Exemplo 1 em dosagens ≥ 150 mg/kg/dia foi associada com contagem de neutrófilo aumentada, contagem de reticulócito absoluta, fosfatase alcalina, potássio e globulinas diminuídas nas fêmeas. Houve um aumento em aspartato aminotransferase, alanina aminotransferase, gama glutamil transferase, fosfatase alcalina e bilirrubina total em 1500 mg/kg/dia nos machos. A proteína e albumina mínima foram observadas em fêmeas em todos os níveis de dose. Após um período de recuperação de 12 semanas, não houve nenhuma diferença na hematologia, bioquímica clínica e parâmetros de urinálise em ratos que recebem 150 mg/kg/dia indicando reversibilidade daqueles resultados.

[0082] Os resultados relacionados ao tratamento com Exemplo 1 foram primeiramente associados com tecidos reprodutores de macho e fêmea e foram, em geral, atribuídos à farmacologia da molécula. Os resultados adversos foram confinados aos testículos e ocorreram em todos os grupos tratados com Exemplo 1. Houve um decréscimo no peso dos testículos e epidídimos no grupo de 1500 mg/kg/dia, e em indivíduos machos com 15 ou 150 mg/kg/dia que tinham lesões testiculares. Os resultados macroscópicos em tecidos reprodutores em machos relacionadas à administração de Exemplo 1 foram observados nos testículos e epidídimos. Testículos suaves e/ou pequenos e epidídimos pequenos foram observados em machos que receberam ≥ 50 mg/kg/dia e um macho único com 15 mg/kg/dia. Os resultados microscópicos nestes testículos foram vistos em todos os níveis de dose, eram degenerativos na natureza e incluíam esgotamento de alongamento de espermátides, atrofia celular intersticial, e necroses de célula única de espermatócitos. Os resultados testiculares foram consistentes com o hormônio leuteinizante circulante diminuído (LH) resultando em sinalização de LH diminuído no nível das células

intersticiais. Além disso, o decréscimo nos níveis de LH circulante resultou na secreção de testosterona diminuída dos testículos, desse modo, reduzindo a sinalização de androgênio no nível dos túbulos seminíferos. O tratamento com Exemplo 1 foi também associado com peso de próstata diminuído observado em machos que receberam ≥ 150 mg/kg/dia. Estas mudanças endócrinas e reprodutivas em machos podem estar relacionadas à atividade farmacológica de Exemplo 1, porém não foram previamente identificadas em um estudo de 4 semanas. Embora consistentes com a farmacologia relacionada com Exemplo 1, com base na magnitude, os resultados farmacológicos nestes testículos vistos em todos os níveis de dose foram considerados adversos. Os efeitos sobre tecidos reprodutores machos e LH e testosterona foram revertidos no final do período de recuperação de 12 semanas.

[0083] A administração de Exemplo 1 foi associada com peso diminuído de ovário e ovários macroscopicamente pequenos em fêmeas em todos os níveis de dose. Uma diminuição do peso pituitário e nos níveis circulantes de LH foi observada em fêmeas que receberam ≥ 150 mg/kg/dia. Os resultados microscópicos foram observados em tecidos reprodutores de fêmeas relacionadas à administração de Exemplo 1. Os resultados microscópicos no útero e na vagina foram observados em níveis de dose ≥ 150 mg/kg/dia, enquanto os resultados em ovário e glândula mamária foram observados em todos os níveis de dose. Os resultados microscópicos observados nos tecidos reprodutores em fêmeas e o decréscimo nos níveis de LH circulante foram igualmente relacionados à atividade farmacológica de Exemplo 1. Os resultados nos tecidos reprodutores em fêmeas, incluindo glândula mamária, foram consistentes com aqueles previamente reportados no estudo de toxicidade de dose repetida de 4 semanas. As mudanças reprodutivas nas fêmeas podem

também ter afetado a capacidade reprodutiva, porém não a saúde geral dos animais. Os efeitos sobre os tecidos reprodutores em fêmeas e LH foram revertidos no final do período de recuperação de 12 semanas.

[0084] A administração de Exemplo 1 foi associada com peso diminuído do timo em fêmeas em todos os níveis de dose e em machos que receberam ≥ 150 mg/kg/dia. As constatações macroscópicas de timo pequeno foram observadas em machos que receberam 1500 mg/kg/dia. Os resultados microscópicos adicionais relacionados à administração de Exemplo 1 foram observados no fígado, baço, timo (machos), e pele (fêmeas), em níveis de dose ≥ 150 mg/kg/dia. Os resultados microscópicos na pele foram observados em todos os níveis de dose. Todas estas mudanças não estavam mais presentes no final do período de recuperação de 12 semanas. Não houve nenhuma outra constatação microscópica, mudança de peso de órgão e constatação macroscópica relacionada à administração do Exemplo 1.

[0085] Na conclusão, a administração de Exemplo 1 por gavagem oral diária em níveis de dose de 0, 15, 150 e 1500 mg/kg/dia durante 26 semanas foi associada com mudanças hormonais e morfológicas em tecidos reprodutores em machos e fêmeas que foram, em geral, atribuídos à farmacologia da molécula, e foram reversíveis após 12 semanas em animais previamente tratados com 150 mg/kg/dia. Os resultados adversos foram confinados aos testículos e ocorreram em todos os grupos tratados com Exemplo 1. Com base na magnitude destas mudanças testiculares degenerativas, um nível de efeito adverso não observável (NOAEL) pode não ser estabelecido neste estudo e é consequentemente considerado <15 mg/kg/dia.

Fertilidade Masculina e Estudo Toxicocinético em Ratos

[0086] O propósito deste estudo é determinar os efeitos adversos

potenciais no processo reprodutivo que resulta de tratamento de ratos machos antes e durante o período do período de acasalamento. Este inclui a identificação de efeitos reprodutores funcionais nos machos. Além disso, uma avaliação toxicocinética de níveis de plasma de Exemplo 1 é realizada em animais satélites.

[0087] O Exemplo 1 é fornecido oralmente por gavagem em doses de 0, 3, 30, e 1000 mg/kg. Os ratos machos (20/grupo) são tratados diariamente durante 10 semanas antes do acasalamento, ao longo do período de acasalamento de 3 semanas, e continuando até o dia anterior à eutanásia (em um total de 100 a 101 doses). Os ratos fêmeas não são tratados. Todos os animais são observados duas vezes diárias quanto à moribundidade e mortalidade. As observações clínicas são registradas diariamente para ratos machos; os pesos corporais e consumo de alimento são registrados para machos duas vezes semanalmente. Todos os machos são sacrificados 1 dia após a última administração de dose. As avaliações de finalidade espermatogênica conduzidas em todos os machos incluem motilidade e morfologia e concentração epidérmica de esperma. Os testículos, epidídimo, próstata e vesícula seminal/glândula coagulante/fluido de todos os machos são pesados e retidos. Os testículos, epidídimo, próstata, vesículas seminais e glândulas coagulantes dos machos sobreviventes são examinados microscopicamente. Uma laparoisterectomia é realizada no dia 15 da gestação em cada fêmea com evidência de acasalamento. Aos 3, 18, 18, e 18 machos adicionais atribuídos à fase toxicocinética é fornecido o composto em doses de 0, 3, 30, e 1000 mg/kg, respectivamente, e estes são amostrados para avaliação toxicocinética em intervalos apropriados após administração de dose nos dias de estudo 0 e 70.

[0088] Após a administração de dose diária de Exemplo 1 aos ratos machos, o tempo até C_{max} é entre 2 e 8 horas no dia 0 e 0,5 a 2

horas no dia 70. As exposições médias (medidas por AUC0-24 horas) aumentam entre 3 e 30 mg/kg por aproximadamente 7,8 vezes e 4,5 e vezes nos dias 0 e 70, respectivamente, porém permanecem similares entre 30 e 1000 mg/kg doses sugerindo um patamar de exposição acima de 30 mg/kg. As exposições são geralmente similares entre doses únicas e múltiplas.

[0089] Após um protocolo essencialmente como descrito acima, um macho no grupo de 30 mg/kg da fase toxicocinética e 1 macho no grupo de controle de veículo da fase principal foram encontrados mortos nos dias de estudo 24 e 70, respectivamente. Na ausência de mortalidade no grupo de 1000 mg/kg, a morte em 30 mg/kg não foi considerada relacionada com o composto. Nos exames diários, uma incidência aumentada de material vermelho em torno de 1 ou ambos os olhos foi observada quanto a 4 machos no grupo de 30 mg/kg e 3 machos no grupo de 1000 mg/kg começando logo nos dias de estudo 8 e 20, respectivamente. Nenhum outro resultado clínico relacionado ao composto foi observado quanto aos machos nos grupos de 3, 30, e 1000 mg/kg nos exames diários ou aproximadamente 1 hora após a administração de dose. Os pesos corporais médios, ganhos de peso corporal, e consumo de alimento não foram afetados pela administração do composto em todos os níveis de dosagem.

[0090] Os pesos de órgão reprodutor em machos relativos e absolutos inferiores dependentes de dosagem (para peso corporal e cerebral) incluindo testículos, epidídimos (intactos e caudais), próstata, e vesículas seminais/glândula coagulante/fluidos acessórios foram observados nos grupos de 30 e 1000 mg/kg. Os efeitos do peso de órgão observados nestes testículos corresponderam a mudanças histológicas caracterizadas por atrofia das células Leydig intersticiais e epitélio germinal. Estes resultados juntamente com populações reduzidas de espermatozoides nos epidídimos em ambos os grupos e

secreções reduzidas em glândulas sexuais acessórias observadas no grupo de 1000 mg/kg foram considerados consistentes com a sub-regulação de síntese e/ou secreção de androgênio (testosterona) por células Leydig ou inibição de receptores de hormônio em órgãos alvos. Os efeitos observados nos órgãos reprodutores no grupo de 1000 mg/kg corresponderam à função reprodutiva reduzida. Nos grupos de 30 e 1000 mg/kg, os efeitos de peso de órgão observados nas glândulas sexuais auxiliares (glândula da próstata, vesículas seminais, e glândulas coagulantes) foram considerados estar relacionados à farmacologia do composto.

[0091] Os efeitos relacionados ao composto sobre as finalidades espermatogênicas foram observados no grupo de 1000 mg/kg. Os pesos inferiores foram observados no grupo de 1000 mg/kg e corresponderam a uma concentração de esperma epididimal média inferior no grupo. Além disso, um decréscimo relacionado ao composto na porcentagem de esperma morfolologicamente normal foi observado em 1000 mg/kg como um resultado de números superiores de esperma com a cabeça ausente ou separada do flagelo. Estes efeitos correlacionaram-se com acasalamento inferior, fertilidade, e índices de copulação no grupo de machos de 1000 mg/kg. Além disso, um intervalo pré-coital ligeiramente mais longo foi observado no grupo de 1000 mg/kg em comparação com o grupo de controle de veículo. As finalidades espermatogênicas e desempenho reprodutivo nos grupos de 3 a 30 mg/kg não foram afetados pela administração de composto.

[0092] A sobrevivência intrauterina dos embriões não foi afetada pela administração de composto a machos em níveis de dose de 3, 30, e 1000 mg/kg.

[0093] Na conclusão, não houve nenhum efeito sobre os pesos corporais nos machos ou consumo de alimento ou resultados clínicos adversos relacionados ao composto em qualquer nível de dosagem.

Os efeitos adversos relacionados ao composto sobre os tecidos reprodutores em machos e parâmetros espermatogênicos ocorreram em 30 e 1000 mg/kg. Os decréscimos nos pesos de órgão reprodutor em machos ocorreram nos 1000 mg/kg e corresponderam a efeitos sobre a morfologia e concentração de esperma epididimal. Além disso, as alterações microscópicas foram observadas nos testículos, apidídimos, próstata, vesículas seminais, e glândula coagulante em 1000 mg/kg que corresponderam a reduções em acasalamento, fertilidade, e índices de copulação no grupo. Embora a redução em desempenho reprodutivo geralmente correlacionou-se com as mudanças histológicas no tecido reprodutivo em macho em uma base do grupo, a correlação em uma base animal individual não foi sempre evidente. No grupo de 30 mg/kg, os decréscimos em pesos de órgão reprodutor e alterações microscópicas nos testículos e apidídimos foram observados. Nenhum efeito correspondente sobre a função reprodutiva foi observado em 30 mg/kg, o que sugere que o sinal farmacológico enquanto presente não foi grande o bastante para afetar a reprodução funcional. Com base nestes resultados, o NOAEL para toxicidade reprodutiva em macho e toxicidade em fêmea foi 3 mg/kg. Um nível de dose de 3 mg/kg corresponde a um valor de exposição (AUC₀₋₂₄ horas) no dia de estudo 70 de 10,954 ng·horas/mL.

Estudo de toxicidade oral de quatro semanas em cachorros

[0094] Este estudo é conduzido para avaliar a toxicidade potencial e toxicinética de Exemplo 1, um modulador de receptor de androgênio (SARM), em cachorros após administração de cápsula duas vezes diárias durante 4 semanas. Aos três grupos de tratamento de cachorros *beagle* machos e três fêmeas são administrados o artigo de teste em respectivos níveis de dose de 6, 60, ou 300 mg/kg/dia. Um grupo adicional de três animais/sexos serve como o controle e recebe o veículo, 80% de PEG 3350/20% de TPGS de Vitamina E

(volume/volume) por meio da cápsula oral. O artigo de teste ou veículo é administrado a todos os grupos por meio de cápsula oral, duas vezes por dia durante 28 dias consecutivos, em um volume de dose de 1,5 mL/kg/dose.

[0095] As observações quanto à mortalidade, morbidade, lesão, e a disponibilidade de alimento e água são conduzidas duas vezes diárias para todos os animais. As observações clínicas detalhadas são conduzidas semanalmente. Os pesos corporais são medidos e registrados no dia após a recepção, antes da randomização, e semanalmente durante o estudo. O consumo de alimento é medido e registrado semanalmente. Os exames oftalmoscópicos são conduzidos em pré-teste e antes da necropsia terminal. Os exames físicos são conduzidos em pré-teste. Os exames neurológicos são conduzidos durante semanas 1 e 4. Os exames de ECG são conduzidos duas vezes antes da iniciação da dosagem e antes da e aproximadamente 2 horas (± 15 minutos) após a administração de artigo de teste matinal nos dias 3 e 26. Amostras de sangue são coletadas duas vezes em pré-teste, e as amostras de sangue e urina para avaliações de patologia clínica são coletadas de todos os animais antes da microscopia. As amostras de sangue para determinação das concentrações de plasma do artigo de teste são coletadas de todos os animais em pontos de tempo determinados nos dias 1 e 28. Os parâmetros toxicocinéticos são determinados para o artigo de teste a partir dos dados de tempo de concentração nas espécies de teste. Ao término do estudo, os exames de necropsia são realizados, os pesos de órgão são registrados, e os testículos, epidídimo, e próstatas são microscopicamente examinados. O potencial de Exemplo 1 para induzir os citocromos P450 é determinado analisando-se as amostras de fígado congeladas quanto ao teor de citocromo P450 total.

[0096] Após um protocolo essencialmente como descrito acima,

nenhuma concentração mensurável (<1 ng/mL) de Exemplo 1 foi encontrada em qualquer das amostras de plasma dos animais de controle. Nenhuma diferença nas concentrações de plasma de Exemplo 1 foi observada entre machos e fêmeas não indicando nenhum efeito de gênero sobre a exposição. A exposição de Exemplo 1 aumentou de uma maneira menor do que a proporcional à dose em animais que receberam 6 e 60 mg/kg/dia e pareceram atingir um patamar em 60 mg/kg/dia, visto que as concentrações de plasma foram similares àsquelas em 300 mg/kg/dia.

Estudo toxicocinético e de toxicidade de 52 semanas em cachorros

[0097] O propósito deste estudo é avaliar a toxicidade e determinar a farmacocinética do artigo de teste, Exemplo 1, quando administrado diariamente por cápsula a cachorros durante pelo menos 52 semanas e avaliar a reversibilidade, persistência, ou ocorrência retardada de quaisquer efeitos após uma recuperação de 13 semanas.

[0098] Os cachorros *beagle* puro sangue machos e fêmeas são atribuídos aos grupos, e as doses são administradas de acordo com a Tabela 9 por meio de cápsulas orais contendo 1 mL/kg de 0 [1% (peso/volume) carboximetilcelulose sódica (viscosidade baixa/25 a 50 cps), 0,5 % (peso/volume) de lauril sulfato de sódio e 0,05% (volume/volume) de Antiespuma Dow Corning® 1510-US em água de osmose reversa] 3, 10, ou 100 mg de Exemplo 1/ kg de peso corporal. Todos os animais recebem o mesmo número de cápsulas, e os animais do Grupo 1 recebem cápsulas contendo artigo de controle de veículo apenas. Três animais por sexo dos grupos 1 e 4 são designados como animais de recuperação.

Tabela 9

	Número de Animais		Nível de Dose	Concentração de Dose
Grupo	Macho	Fêmea	(mg de Exemplo 1/kg)	(mg de Exemplo 1/kg)
1 (Controle)	7	7	0	0

2 (Baixo)	4	4	3	3
3 (Médio)	4	4	10	10
4 (Alto)	7	7	100	100

[0099] A avaliação da toxicidade é com base em mortalidade, sinais clínicos, peso corporal e mudança de peso corporal, consumo de alimento, avaliações neurológicas e oftálmicas, medições de ECG, análise de hormônio (testosterona, progesterona, hormônio leuteinizante, e hormônio folículo-esimulador), avaliação de sêmen (volume ejaculado e número de espermatozoides, densidade, morfologia, e motilidade), e patologia clínica e anatômica. As amostras de sangue são coletadas para análise de metabólito exploratório e avaliações toxicocinéticas.

[00100] Após um protocolo essencialmente como descrito acima, a exposição sistêmica ao Exemplo 1 aumentou com o aumento no nível de dose de 3 a 100 mg/kg. Os aumentos em C_{max} e AUC_{0-24hr} foram geralmente menores do que a dose proporcional. Nenhuma diferença consistente relacionada a sexo foi observada nos parâmetros toxicocinéticos. O acúmulo de Exemplo 1 foi observado após múltiplas dosagens de Exemplo 1 em cachorros.

[00101] Todos os animais sobreviveram até o sacrifício programado. Os sinais clínicos relacionados ao composto eram observações aumentadas de lacrimejamento em animais que receberam >3 mg/kg e ciclição estral reduzida ou ausente em fêmeas que receberam >3mg/kg.

[00102] Nenhuma diferença toxicologicamente importante foi observada em pesos corporais médios, ganhos de peso corporal, e consumo de alimento. Nenhuma anormalidade oftálmica ou neurológica ocorreu.

[00103] O intervalo de QT e QT corrigido (QTc) prolongado foi observado em pré-dose e 2 horas em pós-dose nos dias 3, 86, e 359 da fase de dosagem nos sexos combinados que receberam 100

mg/kg. A magnitude do aumento em intervalo de QTc médio em sexos combinados que receberam 100 mg/kg através dos intervalos de fase de dosagem variou de 14 a 21 mseg (6 a 9%) acima dos valores médios para animais de controle. Nenhuma mudança relacionada ao composto em intervalo de QT ou QTc foi observada no dia 88 da fase de recuperação nos sexos combinados que receberam 100 mg/kg ou nos dias 3, 86, ou 359 da fase de dosagem em animais que receberam 3 ou 10 mg/kg. Nenhuma mudança relacionada ao Exemplo 1 em intervalo de PR, duração de QRS, intervalo de RR, ou frequência cardíaca foi observada no dia 3, 86, ou 359 da fase de dosagem em animais que receberam 3, 10, ou 100 mg/kg ou no dia 88 da fase de recuperação em animais que receberam 100 mg/kg. Nenhuma anormalidade rítmica ou mudanças de ECG qualitativas foi atribuída ao Exemplo 1 durante avaliação qualitativa dos eletrocardiogramas.

[00104] Os decréscimos dependentes de dose, relacionados ao Exemplo 1, na contagem total de esperma ocorreram durante a fase de dosagem para machos em todos os níveis de dose e foram atribuídos aos decréscimos no peso ejaculado. Nas avaliações da semana 52 (dias 355 e 360 da fase de dosagem), a contagem total de esperma relativa aos controles foi diminuída em >55, >50, e >91% para machos administrados com 3, 10, ou 100 mg/kg, respectivamente. Os efeitos sobre a contagem total de esperma reverteram-se completamente durante a fase de recuperação. Nenhum efeito relacionado com Exemplo 1 sobre densidade média de esperma, motilidade, ou morfologia foi observado quanto a qualquer grupo.

[00105] As mudanças hormonais foram observadas em machos e fêmeas que receberam > 3 mg/kg. As mudanças foram consistentes com a farmacologia do artigo de teste e correlacionadas com mudanças microscópicas. Em machos, as reduções em testosterona e os aumentos em LH foram observados. O LH aumentado e a

progesterona diminuída nas fêmeas foram consistentes com o anestro e a redução de corpos lúteos observados microscopicamente. Os níveis hormonais retornaram para os níveis de controle durante a fase de recuperação.

[00106] Os efeitos de patologia clínica relacionados ao composto foram limitados à atividade de alanina aminotransferase minimamente a suavemente aumentada para machos e fêmeas em todos os níveis de dose (as fêmeas que receberam 100 mg/kg foram mais afetadas) e colesterol minimamente a moderadamente diminuído para machos e fêmeas que receberam 3 ou 10 mg/kg (animais que receberam 3mg/kg foram mais afetadas). O efeito sobre a atividade de alanina aminotransferase a 100 mg/kg apresentou reversibilidade após a fase de recuperação. A reversibilidade do efeito sobre a concentração de colesterol a 3 e 10 mg/kg pode não ser avaliada porque nenhum animal nestes níveis de dose estava na fase de recuperação. Nenhum destes efeitos foi associado com resultados microscópicos correlativos.

[00107] As mudanças morfológicas relacionadas ao composto farmacologicamente esperado foram observadas em tecidos reprodutores de machos e fêmeas. Os pesos da próstata, epidídimo e fígado/vesícula diminuído reversível e relacionado ao composto ocorreram em machos, que, com a exceção das mudanças no fígado/vesícula biliar, correlacionaram-se aos resultados microscópicos. Na próstata, os machos que receberam >3 mg/kg tiveram atrofia epitelial acinar da glândula prostática reversível. Os machos que receberam >3 mg/kg tiveram diâmetro ductular diminuído reversível da cauda (rabo) do epidídimo, e os machos que receberam 100 mg/kg tiveram atrofia epitelial ductular epididimal reversível. As fêmeas que receberam >3 mg/kg tiveram corpos lúteos diminuídos/ausentes com estágio de ciclo anestro no ovário. Esta mudança foi geralmente acompanhada por uma falta de

desenvolvimento lobular na glândula mamária bem como respostas esperadas de tecidos reprodutores secundários ao anestro: o útero, cérvix, vagina e glândula mamária tiveram aspectos apropriados ao estágio de atrofia comensurável com o anestro prolongado.

[00108] Coletivamente, estes resultados em fêmeas são consistentes com a ruptura de ciclo reprodutivo normal relacionada ao composto. Na fase de recuperação, 2/3 fêmeas que receberam 100 mg/kg tiveram estágio de ciclo reprodutivo diastral e desenvolvimento mamário lobular, indicando um retorno à atividade cíclica normal, embora nenhuma evidência de ciclo de reprodutividade tenha sido observada durante a fase de recuperação.

[00109] Além disso, os resultados microscópicos reversíveis e relacionados ao composto foram observados na glândula suprarrenal e pele/subcútis. Na glândula suprarrenal, os machos que receberam >10 mg/kg e as fêmeas que receberam 100 mg/kg tiveram vacuolação diminuída da zona fasciculada e reticular. Na pele, a vacuolação de glândula sebácea diminuída foi observada em animais que receberam >3 mg/kg.

[00110] Em resumo, a administração diária de Exemplo 1 por cápsula a cachorros durante 52 semanas em um nível de dose de 3, 10, ou 100 mg/kg não resultou em nenhum resultado adverso relacionado ao composto. As mudanças na função reprodutiva ocorreram em machos (esperma diminuído e volume ejaculado) e fêmeas (ciclo de estro reduzido/ausente) de todos os grupos tratados com Exemplo 1 e correlacionados com os resultados microscópicos. Estas mudanças não afetaram a saúde geral dos animais; são consistentes com a ação farmacológica do artigo de teste; e são reversíveis. Portanto, o NOAEL é de 100 mg/kg. Após 361 dias de dosagem, a dose de 100 mg/kg correspondeu aos valores médios de C_{max} de 1496 e 1885 ng/mL e os valores de AUC_{0-24 h} de 22582 e

31505 ng•hr/mL em machos e fêmeas, respectivamente.

Tabela 10

Sumário das Constatações da Próstata de Ratos e Cachorros tratados com o exemplo 1;

Ratos

Duração do tratamento (meses)	1 ^a			6 ^a			fertilidade masculina (3 mos) ^a		
Dose(mg/kg/dia)	15	150	1500	15	150	1500	3	30	1000
Peso da próstata (% de diminuição média)	--	--	--	--	↓30%	↓34%	--	↓23%	↓39%
Atrofia da próstata (nenhuma afetada/nenhuma examinada);	--	--	--	--	--	4/15	--	--	--
AUC _{0-24 h} médio de grupo masculino próximo ao término(ng*hr/mL)	35733	72283	102337	15902	34132	82690	10954	49734	56009

--Nenhum efeito observado --

^a 5% de veículo Vitamina E TPGS, 1% de hidroxietilcelulose, 0,05% de DC antiespuma 1510-us em água purificada;

Cachorros

Duração do tratamento (meses)	1 ^a			6 ^a			12 ^a		
Dose (mg/kg/dia)	3	30	150	3	30	300	3	10	100
Peso da próstata (% de diminuição média)	--	--	--	↓63%	↓66%	↓75%	↓60%	↓62%	↓80%
Atrofia da próstata (nenhuma afetada/nenhuma examinada);	--	--	1/4	4/4	4/4	4/4	2/4	3/4	4/4
AUC _{0-24 h} médio de grupo masculino próximo ao término(ng*hr/mL)	17984	61674	46528	6492	44448	53032	3621	13408	22582

--Nenhum efeito observado --

^a 80% veículo PEG 1350, 20% Vitamina E TPGS (v/v)

^b 1% veículo (p/v) Carboximetilcelulose sódica, 0,5% (p/v) lauril sulfato de sódio, 0,05% (v/v) Dow Corning® Antifoam 1510- US antiespuma em água de osmose reversa.

[00111] O tratamento com o Exemplo 1 para ratos ou cachorros intactos durante os períodos variando de 1 a 12 meses resulta em um decréscimo significativo no tamanho da próstata, que também indica que ele não acarreta risco androgênico de hiperplasia de próstata ao longo do tempo.

Estudo *in vivo* para explorar qualquer efeito antagonista direto de Exemplo 1 na presença de TE

[00112] Um total de 36 ratos machos Wistar orquidectomizados (ORX) e 6 operados por simulação Wistar são usados (orquidectomizados com 8 semanas de idade e deixados definhando durante 4 semanas). Os ratos são mantidos em um ciclo de luz/escuro de 12 horas a 22 °C com acesso à vontade à comida (TD 5001 com 0,95% de Ca e 0,67% de P, Teklad, Madison, WI) e água. Os ratos são randomizados e colocados em grupos de tratamento (n=6) com base no peso corporal. A rotina de administração para todos os grupos, exceto TE, é oral. TE é administrado subcutaneamente. No término de 8 semanas de dosagem diária, os ratos são sacrificados, pesados e o tecido colhido. Levantador do ânus, próstatas, e vesículas seminais são coletados de cada animal. Os resultados são plotados como \pm SE médios.

Médias de Comparação de Pesos úmidos de vesícula seminal Comparações com um controle usando o método de Dunnett

Grupo de controle = d-ORX + TE, 1 mg/kg/d

 d 	Alfa
2.69715	0,05

Tabela 11

Grupo n°	Grupo	Abs(Dif)-LSD	Valor p
1	Simulação	0,979	<0,0001
2	ORX + TE, 1 mg/kg/d	-0,52	1,0000
3	ORX + TE, 1 mg/kg/d + Exemplo 1, 3 mg/kg/d	-0,34	0,8628
4	ORX + TE, 1 mg/kg/d + Exemplo 1, 10 mg/kg/d	0,078	0,0187
5	ORX + TE, 1 mg/kg/d + Exemplo 1, 30 mg/kg/d	0,536	<0,0001
6	ORX + Exemplo 1, 10 mg/kg/d	1,411	<0,0001
7	ORX, Veículo	1,422	<0,0001

[00113] Valores positivos mostram pares de médias que são significativamente diferentes.

[00114] Combinação com Enantato de Testosterona (1 mg/Kg-dia) e várias doses de Exemplo 1, sugere uma tendência na diminuição de peso úmido de vesícula seminal em mg normalizado para peso corporal em gms, que é induzida por TE sozinho como mostrado na Figura 5 e Tabela 11.

Médias de Comparações de pesos por próstata

Comparações com um controle usando método de Dunnett

Grupo de controle = d-ORX + TE, 1 mg/kg/d

|d| Alfa

2,69715 0,05

Tabela 12

Grupo n°	Grupo	Abs(Dif)-LSD	valor p
1	Simulação	0,509	<0,0001*
2	ORX + TE, 1 mg/kg/d	-0,15	1,0000
3	ORX + TE, 1 mg/kg/d + Exemplo 1, 3 mg/kg/d	-0,11	0,9774
4	ORX + TE, 1 mg/kg/d + Exemplo 1, 30 mg/kg/d	0,025	0,0167*
5	ORX + TE, 1 mg/kg/d + Exemplo 1, 10 mg/kg/d	0,036	0,0099*
6	ORX, Veículo	0,356	<0,0001*
7	ORX + Exemplo 1, 10 mg/kg/d	0,357	<0,0001*

[00115] Valores positivos mostram pares de médias que são significativamente diferentes do grupo TE sozinho

[00116] O cotratamento de Exemplo 1 a ratos SD junto com 1 mg/Kg TE resulta em um decréscimo dependente de dose em peso úmido de próstata em mgs normalizado para peso corporal em gramas como mostrado na figura 6 e Tabela 12.

Tabela 13

	hAR Ki (nM)	EC50 de Gene de Expressão LnCAP (nM)		
		PSA	AR	CLUSTERIN
R1881	0,38	0,034	0,035	0,37
Exemplo 1	1,95	2,64	1,64	>100

[00117] Comparações de Exemplo 1 com a testosterona sintética R1881, mostram que *in vitro* usando células de câncer de próstata humana de Exemplo 1 é menos androgênico do que R1881. Ao contrário, a afinidade de ligação bioquímica ao receptor de andrógeno humano (hAR; Ki in nM) é apenas modestamente reduzida.

Estudo de Fase Ia em Voluntários Saudáveis

[00118] Este estudo de fase 1 é um planejamento de escalonamento de dose randomizado, controlado por placebo, duplo cego, de dose simples, cruzamento incompleto conduzido em 3 coortes de dose que consiste em homens saudáveis e mulheres pós-menopausa. Trinta indivíduos (10 por coorte) são randomicamente designados a cada coorte de dosagem.

[00119] Durante ambos os períodos de dosagem, os indivíduos são admitidos à unidade de pesquisa clínica (CRU) durante as permanências durante a noite. Os indivíduos são dosados oralmente após o café da manhã no Dia 1 e permanecem na CRU durante aproximadamente 24 horas após dosagem. Dentro de cada coorte, o período de intervalo entre os períodos de dosagem varia de 14 a 45 dias. Uma visita de alta de estudo ocorre aproximadamente 5 dias

após a última dose, Período 2. A adequação de escala de dose é determinada por avaliações de segurança em cada etapa da escala. Um planejamento de cruzamento duplo-cego investigador-indivíduo é usado para este estudo para fornecer entre os indivíduos dados para todas as medidas de segurança e tolerabilidade. Este planejamento facilita a medida objetiva de AEs.

[00120] Um protocolo essencialmente como descrito acima foi seguido. Como um resultado do planejamento de cruzamento incompleto, aproximadamente 50% de indivíduos receberam uma dose simples de Exemplo 1 e uma dose de placebo a fim de realçar a detecção de sinais de segurança ou tolerabilidade significantes. Aproximadamente 50% dos indivíduos receberam Exemplo 1 em 2 níveis de dose, que permitiu uma análise do indivíduo da dependência de dose dentro dos parâmetros de PK e outras finalidades. Um período de intervalo de dosagem de 5 dias foi escolhido para minimizar os efeitos de transferência entre os períodos de tratamento.

[00121] A faixa de dose para este estudo foi de 5 a 1000 mg de Exemplo 1 e foi baseada em eficácia *in vivo* em rato, usando a suposição de que a exposição requerida para produzir um efeito ósseo de 80% (média de carga do terço médio e carga do colo do fêmur) no rato é igual à exposição requerida em humano. Com base na *clearance* humana alometricamente predita (33 L/h, 90% de intervalo de confiança [CI]: 24 a 46 L/h) e biodisponibilidade (49%), tal resposta em humanos é esperada ocorrer em doses de cerca de 71 mg/dia (90% CI: 29 a 321 mg/dia).

[00122] Estes dados demonstram um aumento na área do músculo da panturrilha como medido por imageamento com base em Tomografia Computadorizada periférica no feixe gastrocnêmio (área do músculo da panturrilha) após administração de Exemplo 1 a voluntários humanos saudáveis como mostrado na figura 7.

Tabela 14**Sumário de Mudança de Referência quanto ao Músculo Magro por Dose no Dia 28 - Machos**

Treatment Group	n	LS Mean[95% CI]	Comparison to Placebo Difference[95% CI] [Pvalue]
Placebo	7	-873.45 [-2318.30, 571.39]	
1mg LY	7	675.52 [-762.14, 2113.18]	1548.97 [-491.08, 3589.02] [.130]
5mg LY	8	587.66 [-757.35, 1932.67]	1461.11 [-510.41, 3432.63] [.139]
15mg LY	2	2329.08 [-453.16, 5111.33]	3202.54 [100.93, 6304.14] [.044]
25mg LY	2	956.18 [-1773.88, 3686.23]	1829.63 [-1281.37, 4940.62] [.236]
75mg LY	4	-1557.21 [-3500.36, 385.94]	-683.76 [-3129.22, 1761.70] [.569]

The mixed model: chg=base dose ddfm=kr;			
Unit=g			
Program: Home/lillyce/prd/ly2452473/i2n_mc_gpbc/final/programs_stat/gpbc_smim_update.sas			

Legenda da Tabela:

Grupo de tratamento – média – comparação à diferença de placebo [valor p]; O modelo misto; Unidade; Programa.

Tabela 15**Sumário de Mudança de Referência quanto ao Músculo Magro por Dose no Dia 28 – Fêmeas**

Treatment Group	n	LS Mean[95% CI]	Comparison to Placebo Difference[95% CI] [Pvalue]
Placebo	3	-742.27 [-3136.75, 1652.21]	
5mg LY	3	1555.95 [-1092.94, 4204.84]	2298.22 [-2183.05, 6779.50] [.271]
15mg LY	2	2919.58 [-679.64, 6518.81]	3661.85 [-1742.10, 9065.81] [.157]
25mg LY	4	1482.24 [-1013.85, 3978.33]	2224.51 [48.22, 4400.81] [.046]
75mg LY	2	1583.65 [-506.14, 3673.45]	2325.92 [-1178.94, 5830.78] [.164]

The mixed model: chg=base dose ddfm=kr;			
Unit=g			
Program: Home/lillyce/prd/ly2452473/i2n_mc_gpbc/final/programs_stat/gpbc_smim_update.sas			

Legenda da Tabela

Grupo de tratamento – média – comparação à diferença de placebo [valor p]; O modelo misto; Unidade; Programa.

[00123] Estes dados demonstram um aumentam na massa muscular massa do corpo total após administração de Exemplo 1 a voluntários humanos saudáveis como medido por DEXA. O efeito em machos (barra azul) no nível de dose de 5 mg é estatisticamente significante em

comparação à dose de placebo de 0 mg, usando um teste de Dunnett ($p < 0,05$) como mostrado na figura 8 e Tabelas 14 e 15.

Tabela 16

Sumário de Mudança de Referência quanto ao Antígeno Específico de Próstata por Dose e Tempo - Machos

Treatment Group	Time/day	n	LS Mean[95% CI]	Comparison to Placebo Difference[95% CI][Pvalue]
Placebo	14	7	0.04[-0.11, 0.20]	
	28	7	0.05[-0.11, 0.20]	
	35	7	0.03[-0.13, 0.18]	
1mg LY	14	7	-0.06[-0.21, 0.09]	-0.10[-0.31, 0.12][.362]
	28	7	-0.05[-0.20, 0.10]	-0.09[-0.31, 0.12][.390]
	35	7	0.02[-0.13, 0.17]	-0.01[-0.22, 0.21][.940]
5mg LY	14	8	0.20[0.06, 0.34]	0.16[-0.05, 0.37][.140]
	28	8	-0.00[-0.15, 0.14]	-0.05[-0.26, 0.16][.635]
	35	8	0.20[0.06, 0.34]	0.17[-0.04, 0.39][.106]
15mg LY	14	2	-0.11[-0.40, 0.17]	-0.16[-0.48, 0.16][.331]
	28	2	-0.27[-0.55, 0.01]	-0.31[-0.63, 0.01][.055]
	35	2	0.25[-0.03, 0.53]	0.22[-0.10, 0.54][.174]
25mg LY	14	2	-0.15[-0.43, 0.13]	-0.19[-0.51, 0.13][.243]
	28	2	-0.22[-0.50, 0.06]	-0.27[-0.59, 0.05][.097]
	35	2	-0.14[-0.42, 0.14]	-0.17[-0.49, 0.15][.295]
75mg LY	14	4	-0.13[-0.33, 0.07]	-0.17[-0.43, 0.09][.185]
	28	3	0.07[-0.15, 0.30]	0.03[-0.25, 0.30][.851]
	35	4	0.03[-0.17, 0.23]	0.00[-0.26, 0.26][.997]

The mixed model: chg=base dose VISITDY dose*VISITDY/ddfm=kr;repeated VISITDY/subject=subject
 type=cs;
 Unit=uug/L
 Program: Home/lillyce/prd/ly2452473/i2n_mc_gpbc/final/programs_stat/gpbc_smlab_update.sas

Legenda da Tabela

Grupo de tratamento – tempo/dia - média – comparação à diferença de placebo [valor p]; O modelo misto; Unidade; Programa.

[00124] Estes dados de Figura demonstram que não houve mudanças de referência em níveis de antígeno específico de próstata (SPA) quando comparado com placebo em qualquer ponto de tempo ou qualquer dose de Exemplo 1 como mostrado na figura 9 e Tabela 16.

Estudo de Fase Ib de Voluntários Saudáveis

[00125] Este é um estudo paralelo de Fase 1, randomizado, controlado por placebo, indivíduo e investigador-cego, múltiplas doses, escalonamento de dose de Exemplo 1 em indivíduos saudáveis. Este estudo é conduzido em 6 grupos de tratamento, e os indivíduos foram randomizados para receber doses diárias de Exemplo 1 ou placebo durante 4 semanas. Uma avaliação de segurança e tolerabilidade é

realizada antes de cada escalonamento de dose. Os critérios de inclusão/exclusão chave para este estudo são que os indivíduos devem ser masculinos saudáveis ou femininos pós-menopausa saudáveis, entre as idades de 30 e 80 anos, inclusive; com um índice de massa corporal (BMI) entre 18 e 32 kg/m², inclusive.

[00126] Os indivíduos são incluídos no estudo e randomizados após análise. Nos dias, os indivíduos são internados na Unidade de Pesquisa Clínica (CRU). Nos dias 1, 2, e 28, os indivíduos são dosados oralmente após o café da manhã. Todos os laboratórios de segurança são coletados antes do café da manhã e depois de um jejum durante a noite de pelo menos 12 horas.

[00127] Após o dia 1, os indivíduos são liberados no Dia 2 após os procedimentos agendados, café da manhã, e dosagem (aproximadamente 24 horas após a dose de Dia 1). Após o Dia 28, os indivíduos são liberados no dia 29 após os procedimentos agendados (aproximadamente 24 horas após a dose do Dia 28).

[00128] Estes dados Demonstram um decréscimo nos níveis de testosterona de soro após administração de de Exemplo 1 a voluntários humanos saudáveis eugonadaís. O decréscimo após o tratamento é mais acentuado em homens devido aos seus níveis de testosterona de soro relativamente mais elevados. A tabela à direita reflete a avaliação de exposição após o estudo de fase 1a na dose de 5 mg como mostrado na figura 10.

Tabela 17

Sumário de Mudança de Referência quanto ao N Propeptídeo de Procolágeno Tipo I (P1NP) por Doses e Tempo – Homens

Treatment Group	Time/day	n	LS Mean[95% CI]	Comparison to Placebo Difference[95% CI] [Pvalue]
Placebo	14	7	-1.15 [-7.55, 5.24]	
	28	7	-1.32 [-7.72, 5.07]	
	35	7	-3.44 [-9.83, 2.96]	
1mg LY	14	7	-3.55 [-9.70, 2.59]	-2.40 [-11.09, 6.29] [.580]
	28	7	0.16 [-5.98, 6.30]	1.49 [-7.20, 10.17] [.731]
	35	7	-5.70 [-11.84, 0.45]	-2.26 [-10.94, 6.43] [.602]
5mg LY	14	8	2.11 [-3.66, 7.88]	3.27 [-5.56, 12.09] [.458]
	28	8	2.88 [-2.90, 8.65]	4.20 [-4.62, 13.02] [.341]
	35	8	-2.31 [-8.08, 3.46]	1.13 [-7.70, 9.95] [.797]
15mg LY	14	2	1.34 [-10.64, 13.32]	2.49 [-11.62, 16.60] [.723]
	28	2	2.09 [-9.89, 14.07]	3.41 [-10.70, 17.52] [.627]
	35	2	-3.41 [-15.39, 8.57]	0.03 [-14.08, 14.14] [.997]
25mg LY	14	2	-2.07 [-13.70, 9.56]	-0.92 [-14.54, 12.70] [.892]
	28	2	1.43 [-10.20, 13.06]	2.75 [-10.86, 16.37] [.685]
	35	2	-2.97 [-14.60, 8.66]	0.47 [-13.15, 14.08] [.945]
75mg LY	14	4	-4.96 [-13.02, 3.09]	-3.81 [-14.06, 6.44] [.457]
	28	3	1.48 [-7.27, 10.24]	2.81 [-8.02, 13.64] [.604]
	35	4	-1.09 [-9.15, 6.97]	2.35 [-7.90, 12.60] [.646]

 The mixed model: chg=base dose VISITDY dose*VISITDY/ddfm=kr;repeated VISITDY/subject=subject type=cs;
 Unit=ug/L
 Program: Home/lillyce/prd/ly2452473/i2n_mc_gpbc/final/programs_stat/gpbc_smlab_update.sas

Legenda da Tabela

Grupo de tratamento – tempo/dia - média – comparação à diferença de placebo [valor p]; O modelo misto – repetido – indivíduo – tipo; Unidade; Programa.

[00129] Estes dados demonstram um relação de exposição-resposta positiva quanto ao propeptídeo de terminal N de procolágeno tipo 1 (P1NP), um biomarcador quanto ao anabolismo ósseo, após administração de Exemplo 1 a voluntários humanos saudáveis eugonadaís como mostrado na figura 11 e Tabela 16.

REIVINDICAÇÕES

1. Uso de isopropil éster de ácido (S)-(7-ciano-4-piridin-2-ilmetil-1,2,3,4-tetra-hidro-cilopenta[b]indol-2-i)-carbâmico, ou de um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo, caracterizado pelo fato de que é para fabricação de um medicamento para tratamento dos sintomas como um resultado de hipogonadismo secundário induzido por terapia de privação androgênica.

2. Uso, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que os sintomas são a perda em massa óssea, tensão óssea, massa muscular, ou tensão muscular.

3. Uso, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que os sintomas são perda de libido e fogachos.

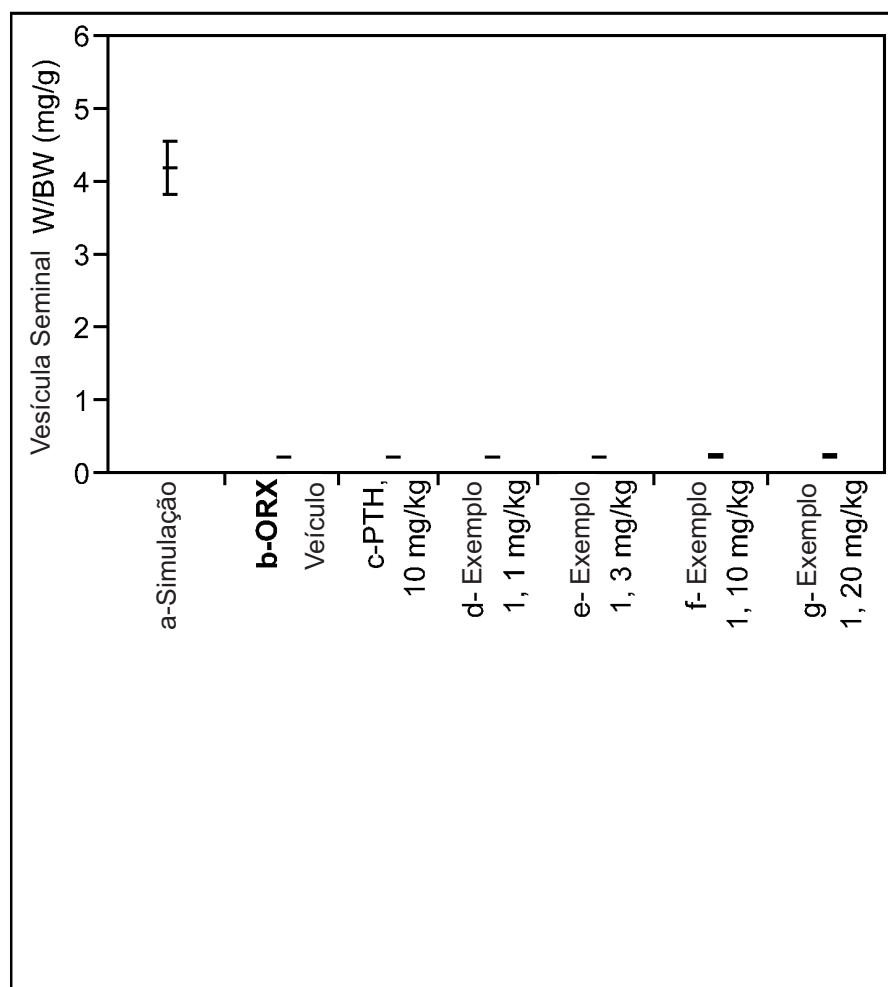


FIG. 1

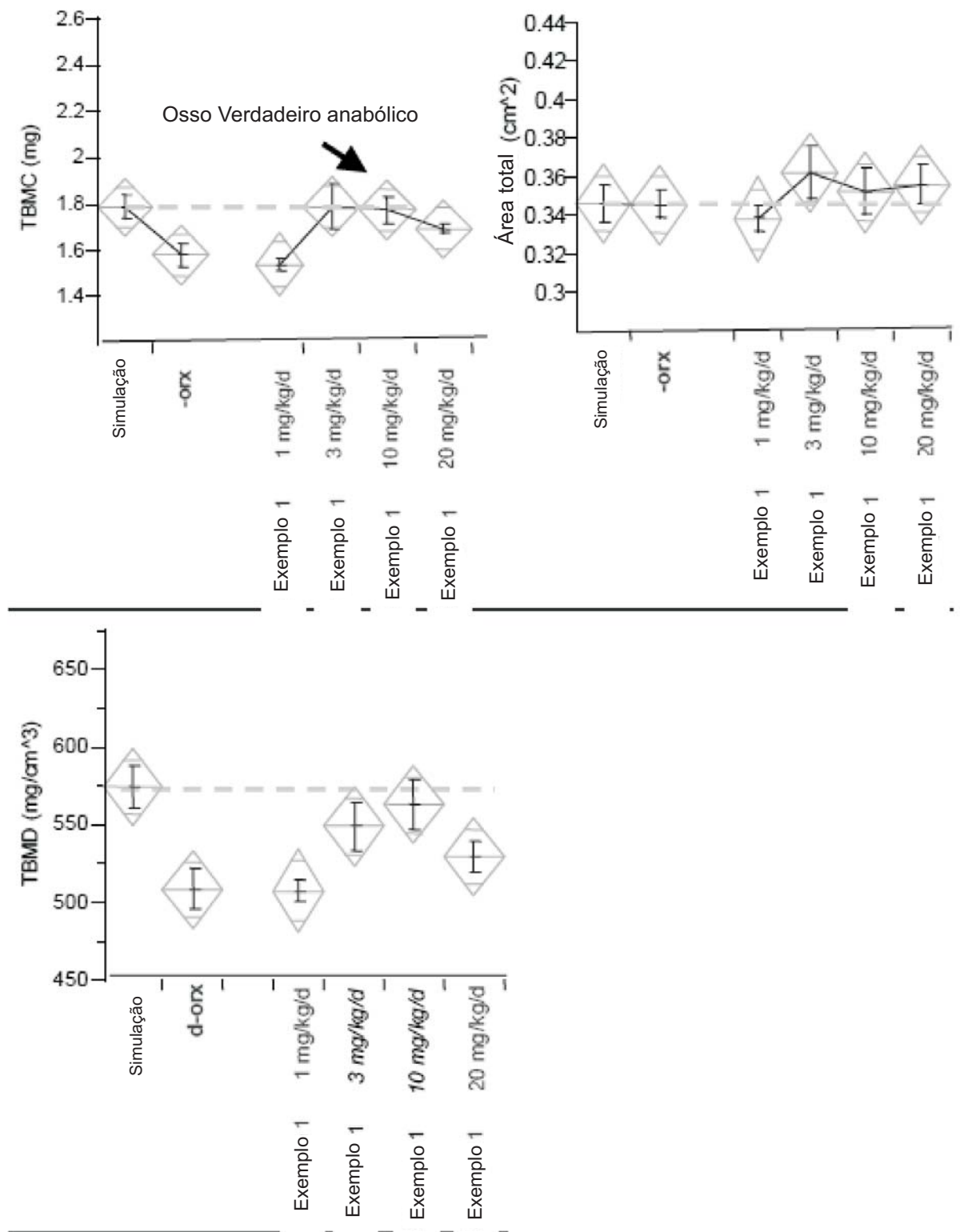


FIG. 2

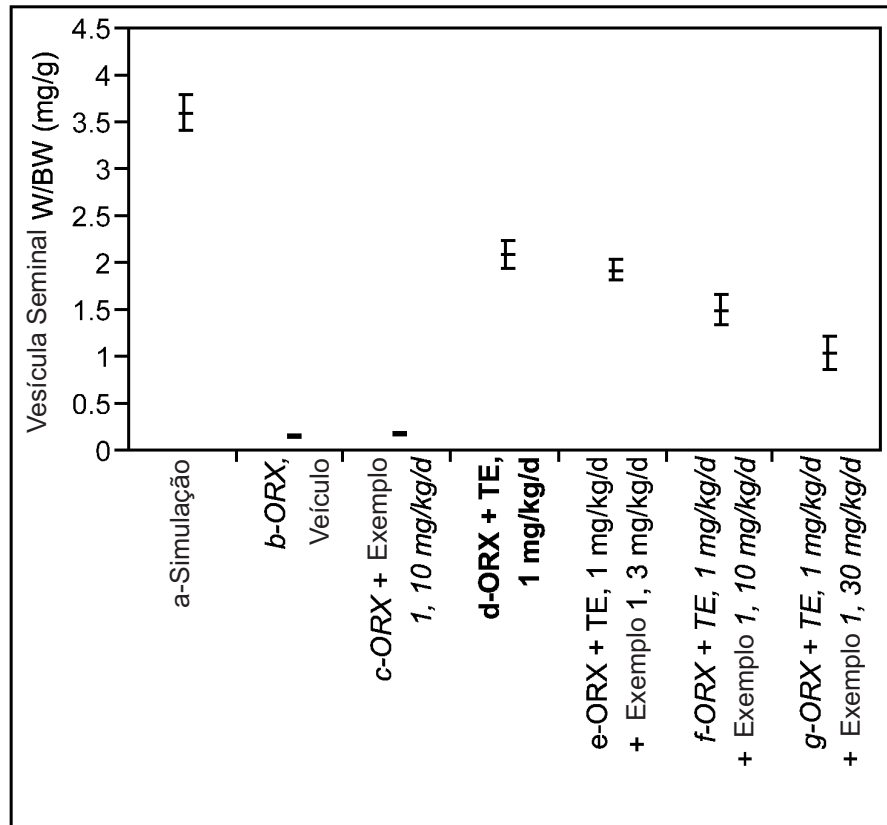


FIG. 3

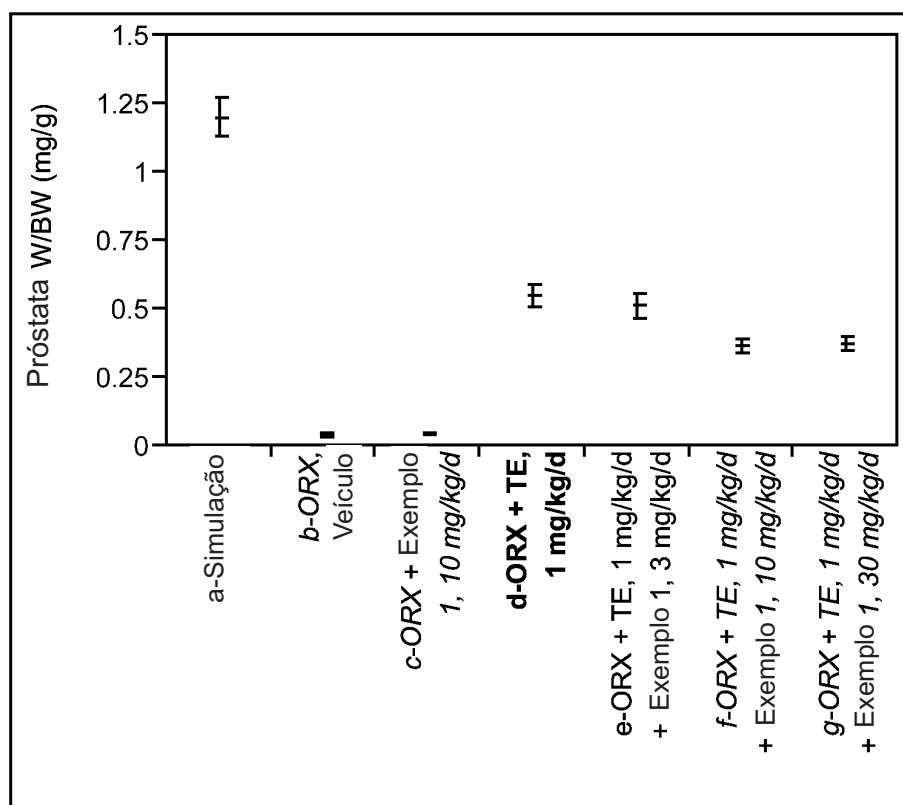


FIG. 4

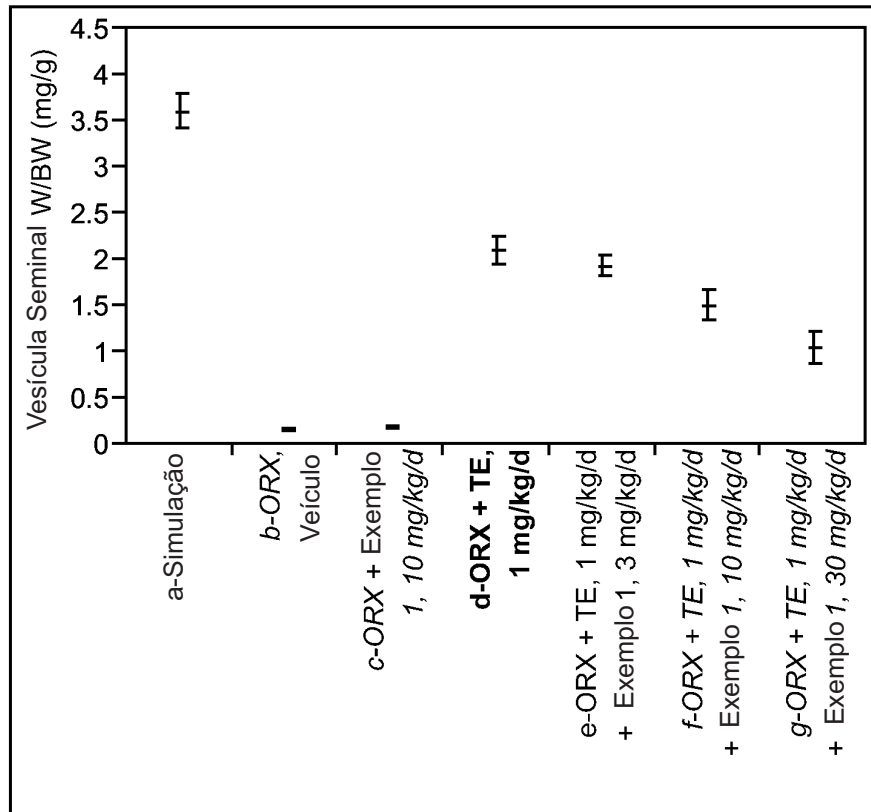


FIG. 5

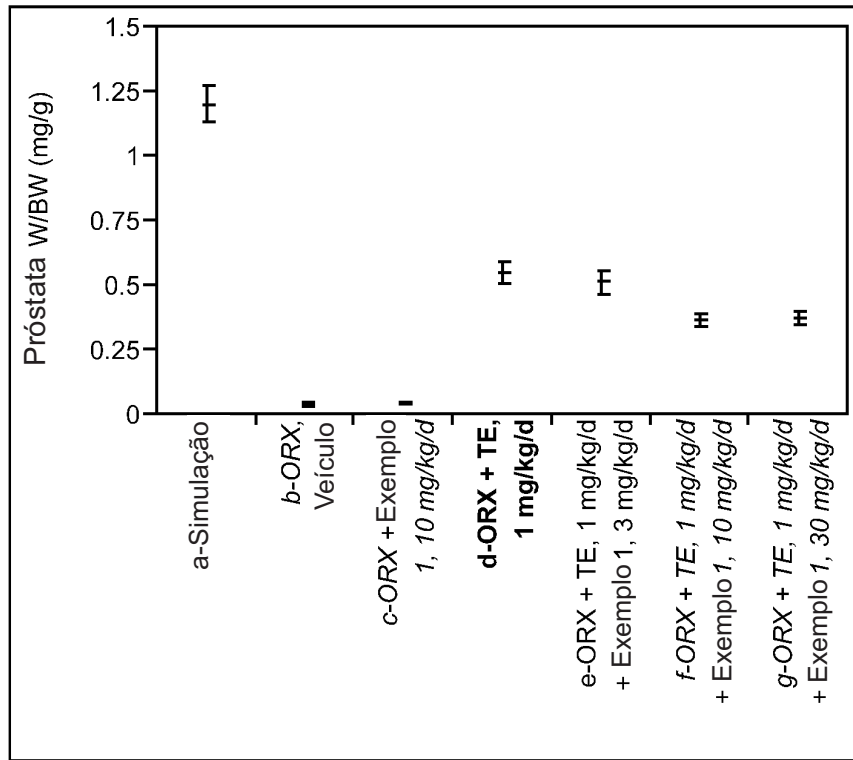


FIG. 6

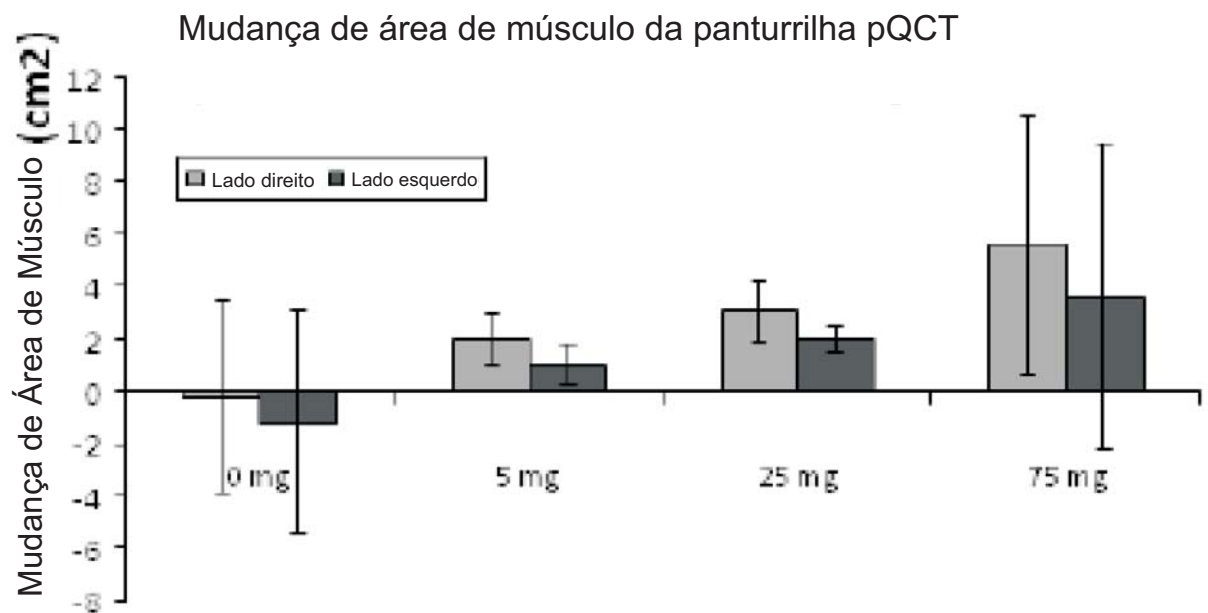


FIG. 7

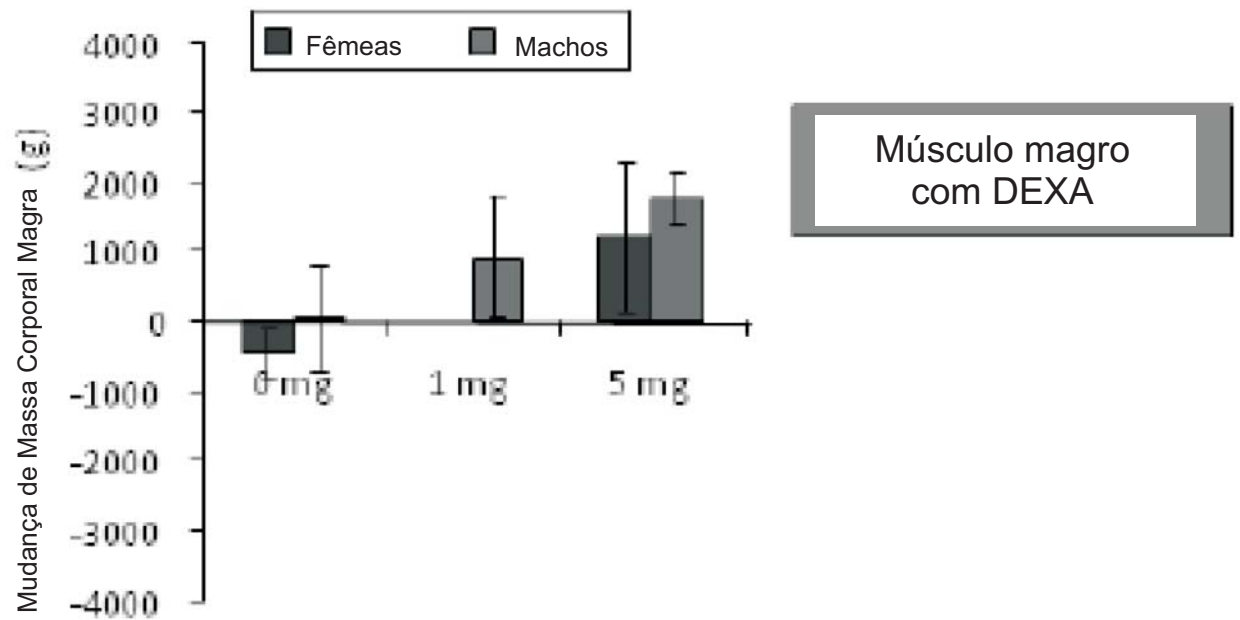


FIG. 8

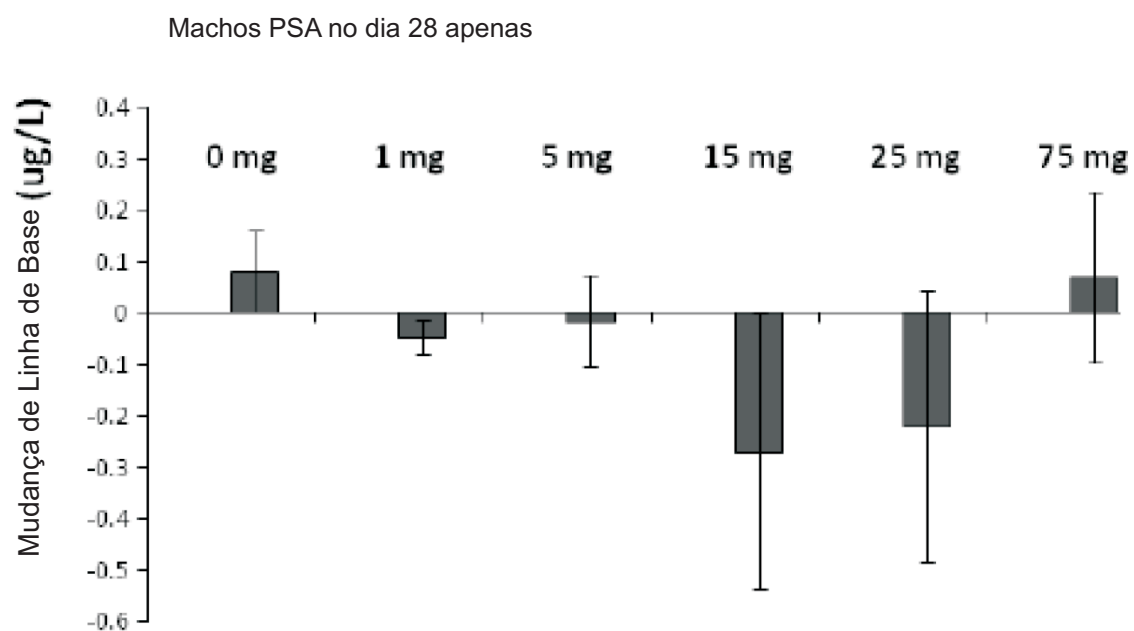
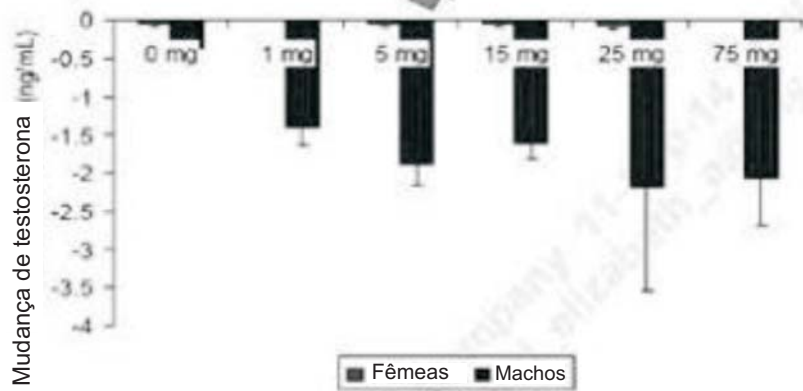


FIG. 9

PK mostrado a partir da dose ascendente única



PK humano a partir de Estudo de SAD	5 mg (N=8)
C _{max} (ng/mL)	25.9 (53.1)
t _{max} (h) ^a	5 (3 – 6)
AUC(0-∞) (ng·h/mL)	458 (36.1)
t _{1/2} (h) ^b	27.1 (18.1 – 53.0)
Cl/F (L/h)	10.9 (36.1)
V _L /F (L)	427 (28.6)

A idade média do macho é de 45 (varia de 31 a 66).

FIG. 10

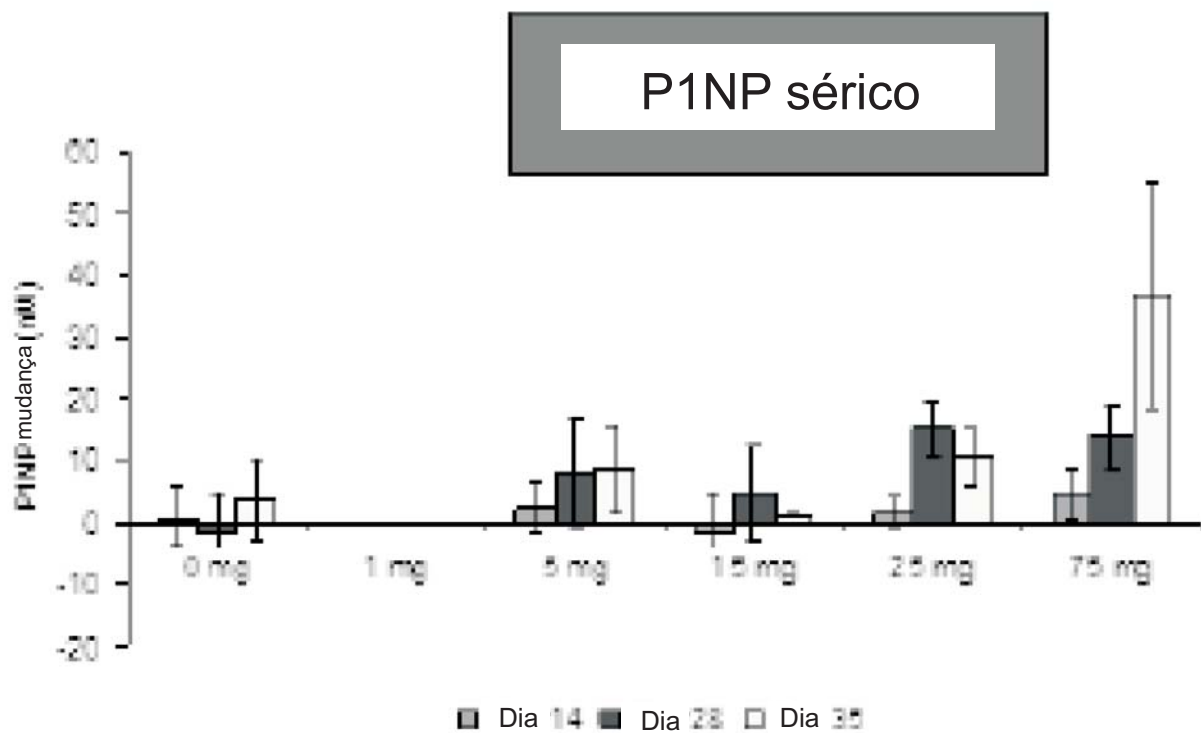


FIG. 11