

(11) Número de Publicação: **PT 1631275 E**

(51) Classificação Internacional:  
**A61K 31/135** (2007.10)

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

---

(22) Data de pedido: **2004.06.02**

(30) Prioridade(s): **2003.06.09 US 476618 P**

(43) Data de publicação do pedido: **2006.03.08**

(45) Data e BPI da concessão: **2008.04.30**  
**151/2008**

(73) Titular(es):

**ASCEND THERAPEUTICS, INC.**  
**SOCIÉTÉ ORGANISÉE SELON LES LOIS DE**  
**L'ETAT DE VIRGINIE (USA) 607 HERNDON**  
**PARKWAY SUITE 210 HERNDON, VA 20170 US**  
**NORTHWESTERN UNIVERSITY US**

(72) Inventor(es):

**ANDREW R. PALUMBO** US  
**JULIUS FEW** US  
**DANA C. HILT** US

(74) Mandatário:

**JOÃO PEREIRA DA CRUZ**  
**RUA VÍCTOR CORDON, 14 1249-103 LISBOA** PT

(54) Epígrafe: **TRATAMENTO E PREVENÇÃO DA CICATRIZAÇÃO EXCESSIVA COM 4-HIDROXITAMOXIFENO**

(57) Resumo:

**RESUMO**

**"TRATAMENTO E PREVENÇÃO DA CICATRIZAÇÃO EXCESSIVA COM 4-HIDROXI-TAMOXIFENO"**

A presente invenção fornece um método para tratar ou prevenir a cicatrização excessiva, incluindo quelóide e cicatrização hipertrófica, administrando 4-hidroxitamoxifeno a um paciente com cicatrização excessiva ou uma ferida em risco de desenvolver cicatrização excessiva.

## DESCRIÇÃO

### **"TRATAMENTO E PREVENÇÃO DA CICATRIZAÇÃO EXCESSIVA COM 4-HIDROXI-TAMOXIFENO"**

#### Antecedentes da Invenção

A presente invenção refere-se para o tratamento e prevenção da cicatrização excessiva, inclusive quelóide e cicatrizes hipertróficas, com 4-hidroxi tamoxifeno (4-OHT).

As cicatrizações quelóide, ou quelóides, são crescimento excessivo de tecido fibroso denso que resulta de variações na cura de ferida normal. O tecido fibroso denso de um quelóide estende-se além do limite da ferida original, e normalmente não regride espontaneamente. Assim, a cicatrização quelóide está fora de proporção da gravidade do estímulo da ferida.

Igualmente, as cicatrizes hipertróficas também são crescimentos excessivos de tecido fibroso denso que é o resultado de regeneração anormal de um ferimento. Porém, as cicatrizes hipertróficas não se estendem além dos limites originais do ferimento. Além disso ao contrário dos quelóides, as cicatrizes hipertróficas alcançam um determinado tamanho, depois estabilizam ou regressam.

O processo normal de regeneração da ferida

estende-se por um período de um a dois anos, e conceptualmente consiste em três fases distintas. A primeira fase, a fase inflamatória, é intensamente degradante. Começa imediatamente depois da lesão e provê um meio para remover os tecidos danificados e matérias estranhas da ferida. Alguns dias depois da lesão, começa a segunda fase, a proliferação e fase de síntese de matriz. Durante esta fase, fibroblastos de tecidos adjacentes passam para a ferida e proliferam. Os fibroblastos produzem activamente colagénio, que eles segregam na matriz extracelular. Colagénio recentemente sintetizado forma fibrilas de ligação cruzada, que fornecem a integridade estrutural à ferida. Depois de várias semanas, começa a fase final, a fase remodelação. Durante a fase remodelação, as fibrilas de colagénio, que anteriormente foram aleatoriamente orientadas, alinham na direcção da tensão mecânica, fornecendo ainda a força mecânica à ferida. Em conclusão do processo inteiro, a pele recupera as suas funções de barreira química e física.

Seis a oito semanas no processo curativo normal da ferida, os processos anabólicos e catabólicos alcançam um equilíbrio. Neste momento, a força cicatrizante é aproximadamente 30-40% da pele saudável, e tipicamente as cicatrizes são hiperémica e grossa. Durante os meses seguintes, os processos catabólicos e anabólicos enfraquecem, e a ligação cruzada progressiva de fibras de colagénio melhora a resistência à tracção da lesão. Também, a hiperemia e espessuras diminuem até desenvolver uma

cicatriz madura, flexível, lisa, branca.

A cicatrização excessiva resulta de um desequilíbrio no processo curativo anabólico e catabólico da ferida. Na formação de uma cicatriz excessiva, é produzido mais colagénio do que é degradado. Como resultado, o crescimento de uma cicatriz maior do que é requerido para curar a ferida, com uma super produção de células, colagénio e proteoglicano. Os quelóides crescem em todas as direcções, tornam-se elevados sobre a pele, e permanecem hiperémicos. Os mecanismos exactos da cicatrização excessiva são pouco compreendidos, mas acredita-se que os mecanismos comuns estão na origem da formação de quelóides e cicatrizes hipertróficas. A evidência sugere que o aumento da expressão do factor de crescimento  $\beta 1$  (TGF- $\beta 1$ ) tenha um papel na cicatrização excessiva. O TGF- $\beta 1$  promove a produção de matriz extracelular, e é produzido a níveis elevados através dos fibroblastos de quelóide.

Quelóides e cicatrizes hipertróficas em primeiro lugar apresentam uma preocupação cosmética mas pode causar contracturas, que podem resultar numa perda de função se for sobrejacente a uma articulação. Adicionalmente, a cicatrização excessiva pode ser dolorosa, prurítica e causar uma sensação de ardor. Uma vez que ocorram lesões no quelóide, eles tendem a continuar crescendo durante semanas a meses, até mesmo durante anos. Normalmente o crescimento progride lentamente, mas ocasionalmente os quelóides

aumentam rapidamente, triplicando mesmo o tamanho no espaço de meses. As cicatrizes hipertróficas tendem a estabilizar, e regredir com o passar do tempo. Porém, esta regressão pode ser bastante lenta, e frequentemente incompleto.

O controlo de quelóides e cicatrizes hipertróficas permanece um dos maiores problemas clínicos não resolvidos. Embora tenham sido utilizadas muitas formas de tratamento, nenhuma provou ser consistentemente de confiança. As formas actuais de tratamento incluem a utilização de penso de tratamento, terapia de compressão, injecções intralesionais de corticosteróides, terapia de radiação, e cirurgia.

Os pensos de tratamento e dispositivos de pressão são formas imprevisíveis de tratamento, como uma larga percentagem de pacientes tratados por estes meios apresentam pouca ou nenhuma melhoria. Além disso, complacência com estas formas de tratamento pode ser impraticável. Por exemplo, os pensos e dispositivos de pressão podem precisar ser utilizados 24 horas por dia durante 12 meses ou mais. Para uma cicatriz num local visível ou sensível, isto pode não ser simplesmente possível.

Os corticosteróides intralesionais têm sido o sustentáculo do tratamento de quelóide. Os corticosteróides reduzem a cicatrização excessiva reduzindo a síntese de colagénio, alterando a síntese de glucosaminoglicanos, e

reduzindo a produção de mediadores inflamatórios e proliferação de fibroblasto durante a regeneração do ferimento. Contudo, cerca de metade de todos os quelóides, não responde a corticosteróides, e cerca de metade das cicatrizes que são completamente resolvidas através de tratamento de corticosteróide ocorre periodicamente. Adicionalmente, as injecções de corticosteróide podem causar várias complicações, inclusive atrofia, formação de telangiectasia, e despigmentação de pele.

A terapia de radiação pode ser a única de maneira previsível de tratamento eficaz para quelóides que está presentemente disponível. Tem o potencial para causar cancro, porém, e por este motivo geralmente não é recomendado ou aceite como um tratamento de quelóide. Além disso, cerca de 20 por cento dos quelóides tratados apenas por terapia de radiação só reaparecem no prazo de um ano.

Os procedimentos cirúrgicos, inclusive excisão, criocirurgia e terapia de laser, podem efectivamente remover o tecido quelóide, e actualmente são o tratamento de escolha para cicatrizes hipertróficas. Porém, estas técnicas causam frequentemente trauma de tecido que resulta em mais cicatrizes hipertróficas ou quelóides. Na realidade, os quelóides reaparecem periodicamente em bem mais que metade dos pacientes tratados por excisão cirúrgica, criocirurgia, e terapia de laser. Adicionalmente, estes procedimentos causam dor e apresentam um risco de infecção. A criocirurgia também causa

despigmentação da pele em alguns pacientes.

Como alternativa ao tratamento de quelóide, alguns investigadores propuseram usando o fármaco do cancro da mama tamoxifeno (Hu, 1998; Hu 2002). *In vitro*, o tamoxifeno inibe a proliferação de fibroblasto de quelóide e diminui a produção de colagénio. Aparentemente, o tamoxifeno efectua esta inibição através diminuição da expressão de TGF- $\beta$ 1, que promove a formação de colagénio (Chau 1998; Mikulec, 2001).

Porém, a utilização *in vivo* de tamoxifeno para tratar cicatrizes deveria ter desvantagens. Tamoxifeno está actualmente disponível apenas para administração oral, e sua administração por esta via coloca sérios riscos à saúde e causas significativos efeitos secundários não desejados. O tamoxifeno tem potencialmente impacto sobre qualquer receptor de estrogénio no corpo, e, como é tanto um agonista como um antagonista, provoca uma extensa gama de efeitos sistémicos. Estes efeitos incluem o risco aumentado de cancro do endométrio, hiperplasia do endométrio e pólipos, trombose das veias profunda e embolia pulmonar, variações nos níveis de enzima no fígado, e perturbações oculares, inclusive cataratas. Adicionalmente, os pacientes tratados com tamoxifeno oral informaram ter afrontamentos, descarga vaginal, depressão, amenorreia, e náusea (Fentiman 1986; Fentiman 1988; Fentiman 1989; Ibis 2002). O tamoxifeno administrado localmente, o qual poderia colocar menos riscos, eliminaria o metabolismo de primeira

passagem no fígado, o qual transforma o tamoxifeno nos seus metabolitos activos. Sem metabolismo no fígado, o tamoxifeno seria menos eficaz.

Assim, apesar da larga selecção de tratamentos disponíveis, não há nenhum amplamente aceite e de meios eficazes previsíveis para prevenir ou tratar cicatrizes excessivas. Contudo, uma aproximação eficaz para reduzir quelóide e cicatrizes hipertróficas deveria oferecer benefícios significativos se também provocasse poucos efeitos secundários sistémicos.

### **Sumário da Invenção**

Esta invenção refere-se para um método para minimizar ou prevenir a cicatrização excessiva, incluindo cicatrizes quelóides e cicatrizes hipertróficas. O método inclui administração de uma quantidade eficaz de 4-hidroxi tamoxifeno durante um período de tempo suficiente para minimizar a cicatriz ou prevenir a sua formação. Esta aproximação de tratamento oferece várias vantagens sobre os outros tratamentos para cicatrizes, incluindo (1) poucos efeitos secundários sistémicos, (2) um melhor perfil de segurança, (3) fácil complacência do paciente. Adicionalmente, o 4-hidroxi tamoxifeno pode ser administrado profilacticamente a um ferida para prevenir ou minimizar a formação de cicatrização excessiva.

Executando o método inventivo, o 4-hidroxi

tamoxifeno pode ser administrado por qualquer via que o entregue numa ferida ou tecido de cicatriz *in vivo*. A administração é realizada por meios que entreguem o 4-hidroxi tamoxifeno localmente, limitando a exposição sistémica ao fármaco. Exemplos de tais modos incluem (1) administração tópica no local de uma ferida ou cicatriz, (2) injeção directa no local de uma ferida ou cicatriz, e (3) implantação de um polímero de liberação controlada ou outro dispositivo de entrega que incorpore 4-hidroxi tamoxifeno. O método inventivo pode ser executado como a forma exclusiva de terapia ou profilaxia, ou pode ser combinado com outras formas.

Uma gama larga de formulações tópicas é adequada para executar a invenção, mas são preferidos soluções hidroalcoólicas e géis hidroalcoólicos. A concentração de 4-hidroxi tamoxifeno nestas formulações pode variar, mas uma dose deveria resultar em concentrações locais de 4-hidroxi tamoxifeno que efectivamente inibem a proliferação de fibroblasto e a produção de colagénio.

#### **Breve Descrição das Figuras**

Figure 1 apresenta o metabolismo extenso do tamoxifeno em humanos.

Figure 2 apresenta uma curva de concentração de plasma-tempo, seguindo a administração cutânea de gel de 4-hidroxi tamoxifeno a mulheres saudáveis.

**Descrição Detalhada das Forma de Realização Preferidas**

Os presentes inventores descobriram que, administrando 4-hidroxi tamoxifeno numa quantidade farmacologicamente eficaz, pode tratar ou prevenir a cicatrizações excessivas com menos efeitos secundários não desejados. Assim, a aproximação da invenção fornece um perfil de segurança superior e complacência do paciente, comparados a outros tratamentos e métodos profilácticos.

De acordo com a presente invenção, o termo "cicatriz excessiva" ou "cicatrização excessiva" refere-se para o crescimento excessivo de tecido fibroso denso que é o resultado da regeneração anormal da ferida. As cicatrizes excessivas cresceram maiores do que necessário para a regeneração normal do ferimento, e é caracterizado por superprodução de células, colagénio e/ou proteoglicano.

As "cicatrizes quelóide" são cicatrizes excessivas nas quais o tecido fibroso denso se estende além dos limites da ferida ou incisão original, e normalmente não regide espontaneamente. Determinar se uma cicatriz é um quelóide pode ser difícil, uma vez que os quelóides frequentemente se assemelhe superficialmente a outras cicatrizes hipertróficas. Porém, os quelóides têm características histológicas distintivas. Uma tal característica é o nódulo de colagénio que contém uma elevada densidade de fibroblastos e fibrilas de colagénio unidireccional numa orientação altamente organizada e

distinta. Adicionalmente, os quelóides têm uma vasculatura rica, uma elevada densidade de células mesenquimáticas, e uma camada de células epidérmica espessada.

A cor da pele e a genética, que correlaciona com formação de quelóide, também podem ajudar na determinação se é uma cicatriz ou um quelóide. Tanto quanto 16% dos africanos pretos tem quelóides, enquanto que os polinésios, chineses, indianos e malaios têm menos. Os brancos e albinos têm o menos. Os pacientes com cicatrizes quelóide tendem a ter uma história de família forte associada; foram registados tanto os modos de transmissão autossómica recessiva como autossómicas dominantes.

Os factores que correlacionam com formação quelóide são úteis bem como por determinar se um paciente beneficiará de administração profiláctica de 4-hidroxi tamoxifeno. De acordo com um aspecto da invenção, o 4-hidroxi tamoxifeno é administrado a um paciente tendo um ferimento, quando os pacientes apresentam um risco elevado para a formação de quelóide. Os factores especialmente úteis para determinar um risco elevado são a história individual e familiar de quelóides.

As "cicatrizes hipertróficas" são cicatrizes excessivas nas quais o tecido fibroso denso não se estende além dos limites da ferida original ou incisão. Eles tendem a ser mais largos do que o necessário para que aconteça a regeneração normal do ferimento. Histologicamente, as

cicatrizes hipertróficas têm fibras de colagénio mais organizadas que os quelóides, e matriz de mucóide escassa. As lesões hipertróficas são caracterizadas através de feixes de tecido distribuídos aleatoriamente consistindo em matriz extracelular orientada uniaxialmente e células.

O composto 4-hidroxi tamoxifeno, ou 1-[4-(2-N-dimetilaminoetoxi)fenil]-1-(4-hidroxifenil)-2-fenilbut-1-eno, constitui um metabolito activo do composto bem caracterizado anti-estrogénio, tamoxifeno. Existem ambos os isómeros E e Z, os dois que, só ou em combinação, são úteis de acordo com a invenção presente. O isómero Z é preferido.

É bem conhecido que o 4-hidroxi tamoxifeno actua como um modulador selectivo do receptor de estrogénio (SERM) que exibe especificidade de tecido para tecidos receptivos do estrogénio. Estudos mostraram que o 4-hidroxi tamoxifeno pode regular a actividade transcripcional de receptores relacionados com estrogénio que podem contribuir para a sua actividade específica de tecido. *In vitro*, o 4-hidroxi tamoxifeno exibe mais potência do que o tamoxifeno, como medido por ligação de afinidade a receptores de estrogénio, ou ERs; e uma ligação de afinidade semelhante ao estradiol para receptores de estrogénio (Robertson et al., 1982; Kuiper et al., 1997). O Z-4-hidroxi tamoxifeno inibe o crescimento em cultura de células epiteliais mamárias humanas normais enfrente 100 vezes mais que Z-tamoxifeno (Malet et. al., 1988).

Embora o 4-hidroxi tamoxifeno seja um metabolito de tamoxifeno, a sua utilidade para o tratamento e prevenção de cicatrizes excessivas não é pressagiada pela experiência prévia com o próprio tamoxifeno. O tamoxifeno é extensivamente metabolizado em humanos, como apresentado na Figura 1. Assim, a sua acção *in vivo* é o resultado líquido das acções individuais do composto percursor e os seus compostos metabolitos competindo pela ocupação de receptores dentro dos tecidos designados. Por exemplo, ver Jordan, 1982. Bach destes compostos manifesta actividades biológicas diferentes e imprevisíveis em células diferentes, determinado em parte por cada efeito individual do composto no receptor de conformação. Quer dizer, o receptor que liga cada composto gera uma única conformação receptor-ligando que recruta diferentes co-factores, e resulta em farmacologias variadas para os diferentes compostos. (Wijayaratne et al., 1999; Giambiagi et al., 1988).

Foram documentados vários exemplos destes efeitos variados. Por exemplo, o tamoxifeno mas não o 4-hidroxi tamoxifeno é um potencial carcinogéneo do fígado do rato. (Carthew et al., 2001; Sauvez et al., 1999). Adicionalmente, o tamoxifeno mas não o 4-hidroxi tamoxifeno inicia apoptose em células epiteliais mamárias humanas normais p53(-) (Dietze et al., 2001). Através de contraste, o 4-hidroxi tamoxifeno exibe um efeito inibidor significativo na actividade sulfatase de estrona em linhas de células de cancro mamário, enquanto que o tamoxifeno tem

pequeno ou nenhum efeito nesta consideração (Chetrite *et al.*, 1993).

Os métodos para preparar o 4-hidroxi tamoxifeno são bem conhecidos. Por exemplo, o documento Patente US N° 4 919 937 de Mauvais-Jarvis *et al.* descreve uma síntese derivada de Robertson e Katzenellenbogen, 1982. Aquela síntese ocorre em várias etapas:

Etapa 1 - Reacção entre 4-( $\beta$ -dimetilaminoetoxi)- $\alpha$ -etil-desoxibenzoína e brometo de p-(2-tetra-hidropiraniloxi)-fenilmagnésio;

Etapa 2 - Separadamente da Etapa 1, a formação de 1-(4-hidroxifenil)-2-fenil-1-butanona por hidroxilação de 1,2-difenil-1-butanona;

Etapa 3 - Reacção entre os produtos das Etapas 1 e 2 para formar 1-(4-dimetilaminoetoxifenil)-1-[p-2-tetra-hidropiraniloxi)fenil]-2-fenilbutan-1-ol;

Etapa 4 - Desidratação com metanol/ácido clorídrico produz 1-[p-( $\beta$ -dimetilaminoetoxi)fenil]-Z-1-(p-hidroxifenil)-2-feni-1-but-1-eno-4-OH-tamoxifeno, uma mistura dos isómeros *E* e *Z*;

Etapa 5 - Separação dos isómeros *E* e *Z* por cromatografia e cristalização para actividade específica constante.

De acordo com a presente invenção, o 4-hidroxi tamoxifeno pode ser administrado em qualquer forma de dosagem e por qualquer sistema que entregue o composto activo a uma ferida ou cicatriz *in vivo*. Preferencialmente, a administração é executada por meios que entreguem 4-hidroxi tamoxifeno localmente, limitando a exposição sistémica ao fármaco. Por exemplo, 4-hidroxi tamoxifeno, só ou em combinação com um veículo farmaceuticamente aceitável, pode ser aplicado topicamente à superfície de um ferimento ou no local de cicatriz, pode ser injectado numa ferida ou local de cicatriz, ou pode ser incorporado dentro para um polímero de liberação controlada e cirurgicamente implantado numa região a ser tratada. O método óptimo de administrar uma dose aceitável para minimizar a cicatrização dependerá do local da cicatriz e da extensão da cicatriz.

Preferencialmente, o 4-hidroxi tamoxifeno é entregue topicamente, tal como por "administração cutânea", uma frase que denota qualquer modo de entregar um fármaco da superfície da pele de um paciente, através do estrato córneo, camadas de epiderme, e derme, e na microcirculação. Isto é tipicamente realizado por difusão abaixo de um gradiente de concentração. A difusão pode acontecer por penetração intracelular (através das células), penetração intercelular (entre as células), penetração através dos apêndices (pelos folículos de cabelo, suor, e glândulas sebáceas), ou qualquer combinação destes. A administração tópica oferece a vantagem distinta de ser não invasiva.

Uma dose apropriada para administração deveria resultar em concentrações de 4-hidroxi tamoxifeno no local que efectivamente inibem a proliferação de fibroblasto e a produção de colagénio, sem causar efeitos secundários significantes. Embora a invenção não seja constrangida a qualquer teoria particular, os efeitos secundários clinicamente significativos de agentes anti-estrogénio acontecem quando os agentes deslocam o estradiol em tecidos de não objectivos. Porque o 4-hidroxi tamoxifeno e o estradiol têm afinidades de ligação semelhantes para receptores de estrogénio, uma competição entre eles por ligação ao receptor seria aproximadamente igual quando a concentração de cada composto se aproxima uma da outra. Se a concentração do 4-hidroxi tamoxifeno excede a concentração do estradiol, então o anterior será ligado preferencialmente aos receptores de estrogénio, e vice-versa.

Adequadamente, são preferidas doses de 4-hidroxi tamoxifeno que resultam em concentrações de plasma inferiores à concentração de estradiol. As doses diárias a ser administradas podem inicialmente ser estimadas com base nos coeficientes de absorção do 4-hidroxi tamoxifeno, a concentração de tecido que é desejada, e a concentração do plasma que não deve ser excedida. Por administração local do 4-hidroxi tamoxifeno, podem ser alcançadas concentrações elevadas nos tecidos designados sem simultaneamente elevar os níveis de plasma de 4-hidroxi tamoxifeno a um ponto onde ocorra competição sistémica significativa para receptores

de estradiol. Claro que, a dose inicial pode ser optimizada em cada paciente, dependendo de respostas individuais.

Numa formulação tópica, as doses na ordem de 0,25 a 3 µg de 4-hidroxi tamoxifeno/cm<sup>2</sup>/dia devem alcançar o resultado desejado, com doses de cerca de 0,5 a 2,5 µg/cm<sup>2</sup>/dia a serem preferidas. Doses de cerca de 1,0 e 2,0 µg/cm<sup>2</sup>/dia são muito mais preferidas.

Administração cutânea pode ser realizada principalmente de dois modos diferentes: (i) misturando um composto terapeuticamente activo ou seu sal não tóxico farmaceuticamente aceitável com veículos farmacêuticos adequados e, opcionalmente, melhoradores de penetração para formar ungamentos, emulsões, loções, soluções, cremes, geles ou do género, em que uma quantidade da referida preparação é aplicada sobre a ferida ou local de cicatriz, ou (ii) incorporando a substância terapeuticamente activa em pensos ou sistemas de entrega transdérmica de acordo com a tecnologia conhecida.

A eficácia da administração cutânea do fármaco depende de muitos factores, incluindo concentração do fármaco, área da superfície de aplicação, tempo e duração da aplicação, hidratação da pele, propriedades físicas-químicas do fármaco, e partilha do fármaco entre a formulação e a pele. As formulações do fármaco pretendidas para utilização cutânea têm a vantagem destes factores para alcançar a entrega óptima. Tais formulações contêm

frequentemente melhoradores de penetração que melhoram absorção cutânea reduzindo a resistência do estrato córneo por reversibilidade alterando as suas propriedades físico-químicas, modificando a hidratação do estrato córneo, operando como co-solvente, ou mudando a organização dos lípidos e proteínas nos espaços intercelulares. Tais melhoradores de absorção cutânea incluem tensioactivos, DMSO, álcool, acetona, propilenoglicol, polietilenoglicol, ácidos gordos, álcoois gordos e moléculas relacionadas, pirrolidonas, ureia, e óleos essenciais. Além de melhoradores químicos, métodos físicos podem aumentar absorção cutânea. Por exemplo, os pensos oclusivos induzem a hidratação da pele. Outros métodos físicos incluem iontopforese e sonoforese que utilizam campos eléctricos e ultra-som de alta-frequência, respectivamente, para aumentar a absorção de fármacos que são pobremente absorvidos devido ao seu tamanho e características iónicas.

Os muitos factores e métodos relativos à entrega cutânea do fármaco são revistos no documento REMINGTON: THE SCIENCE AND PRACTICE OF PHARMACY, Alfonso R. Gennaro (Lippincott Williams & Wilkins, 2000), nas páginas 836-58, e no documento PERCUTANEOUS ABSORPTION: DRUGS COSMETICS MECHANISMS METHODOLOGY, Bronaugh and Maibach (Marcel Dekker, 1999). Como comprovam estas publicações, os do campo farmacêutico podem manipular os vários factores e métodos para alcançar uma entrega cutânea eficaz.

O 4-hidroxi tamoxifeno é uma molécula grande e

muito lipofílica; consequentemente, sem a ajuda de melhoradores de penetração, penetra pobramente na pele. Adequadamente, as formulações de 4-hidroxi tamoxifeno usadas na presente invenção contêm preferencialmente um ou mais melhoradores de penetração. Os álcoois são melhoradores preferidos porque o 4-hidroxi tamoxifeno é solúvel em álcool. O miristato de isopropilo também é um melhorador preferido.

Para administração cutânea, o 4-hidroxi tamoxifeno pode ser entregue num unguento, creme, gel, emulsão (loção), pó, óleo ou formulação semelhante. Com esta finalidade, a formulação pode incluir excipientes aditivos habituais, incluindo óleos vegetais tal como óleo de amêndoa, azeite, óleo de caroço de pêssego, óleo de amendoim, óleo de rícino e do género, óleos animais, DMSO, gordura e substâncias tipo gorduras, lipóides de lanolina, fosfatídeos, hidrocarbonetos tal como parafinas, geleia de petróleo, ceras, agentes emulsionantes de detergente, lecitina, álcoois, carotina, glicerol, éteres de glicerol, glicóis, éteres de glicol, polietilenoglicol, polipropilenoglicol, álcoois gordos não voláteis, ácidos, ésteres, compostos alcoólicos voláteis, ureia, talco, derivados de celulose, e conservantes.

Para praticar a invenção presente, as formulações preferidas contêm 4-hidroxi tamoxifeno num gel hidroalcoólico. A quantidade de 4-hidroxi tamoxifeno por 100 gramas de gel pode variar de aproximadamente 0,001 grama a

aproximadamente 1,0 grama. Preferencialmente, varia de aproximadamente 0,01 grama a aproximadamente 0,1 grama. A Tabela 1 descreve a composição de duas formulações de gel de 4-hidroxi tamoxifeno altamente preferidas.

Tabela 1: Composição de Formulações de Gel de 4-Hidroxi Tamoxifeno

Ingrediente	Quantidade por 100 g de gel	
	20 mg 4-OHT Gel	57 mg 4-OHT Gel
4-Hidroxi Tamoxifeno	0,02 g	0,057 g
Álcool etílico absoluto, EP, USP-NF	66,5 g	66,5 g
Miristato de isopropilo, EP, USP-NF	1 g	1 g
Hidroxipropilcelulose, EP, USP-NF	1,5 g	1,5 g
Tampão fosfato (pH 7, diluído 1:4), EP	q.s. 100 g	q.s. 100 g

De acordo com a presente invenção, o 4-hidroxi tamoxifeno também pode ser entregue por um penso transdérmico. Numa forma de realização, o penso inclui um reservatório para a fórmula de 4-hidroxi tamoxifeno. O penso pode incluir (a) uma folha de apoio impermeável à solução, (b) um elemento tipo camada que tem uma cavidade, (c) uma membrana microporosa ou semipermeável, (d) uma camada auto-adesiva, e (e) opcionalmente, um filme de apoio removível. O elemento tipo camada que tem uma cavidade pode ser formado pela folha de apoio e pela membrana.

Alternativamente, o penso pode incluir (a) uma folha de apoio impermeável à solução, (b) uma espuma porosa aberta, uma espuma de poros fechados, uma camada tipo tecido ou uma camada tipo rede fibrosa como reservatório, (c) se a camada de acordo com (b) não for auto-adesiva, uma camada auto-adesiva, e (d) opcionalmente um filme de apoio removível.

É contemplado que a administração de 4-hidroxi tamoxifeno possa ser combinada com outras terapias de quelóide. De acordo com a presente invenção, então, a administração de 4-hidroxi tamoxifeno pode ser acompanhada pela utilização de pensos oclusivos, terapia de compressão, injecções intralesionais de corticosteróides, terapia de radiação, e cirurgia, incluindo crioterapia e terapia de laser.

A referência para os seguintes exemplos ilustrativos, ajudarão fornecer um entendimento mais completo da invenção,

**Exemplo 1: Demonstração da Farmacocinética e Farmacodinâmica de 4-OH-Tamoxifeno Administrado Cutaneamente, Comparado com 20 mg de Tamoxifeno Oral**

Este estudo comparou o tecido e concentrações de plasma de 4-hidroxi tamoxifeno depois de administração cutânea por via de um gel hidroalcoólico com concentrações de tecido e plasma de 4-hidroxi tamoxifeno depois de administração oral de tamoxifeno. (Pujol *et al.*).

Trinta e um pacientes escalonados para cirurgia de cancro da mama foram aleatoriamente distribuídos por 1 a 5 grupos. Eles receberam tratamento tanto com tamoxifeno oral como com 4-hidroxi tamoxifeno cutâneo como delineado na Tabela 3. O tratamento era diário e durou 3-4 semanas antes de cirurgia. O estudo avaliou três doses diferentes de 4-hidroxi tamoxifeno (0,5, 1, ou 2 mg/dia) e duas áreas de aplicação (tanto para ambos os seios como para uma superfície grande de pele incluindo braços, antebraços, e ombros). Um grupo de pacientes recebeu 20 mg/dia (10 mg b.i.d.) de tamoxifeno oral (Nolvadex®).

Tabela 3: Grupos de Tratamento

Grupo	N	Fármaco	Local de aplicação	Dose	
				mg/seio/dia	Dose diária total (mg/dia)
1	6	PO Tamoxifeno	-	-	20 <sup>a</sup>
2	6	4-OHT gel	ambos os seios	0,25	0,50
3	5	4-OHT gel	ambos os seios	0,50	1
4	5	4-OHT gel	braços, antebraços, e ombros	-	1
5	6	4-OHT gel	braços, antebraços, e ombros	-	2 <sup>b</sup>

<sup>a</sup> 10 mg b.i.d.

<sup>b</sup> dividido em 2 aplicações diárias; 1 mg de manhã e 1 mg à noite

O gel 4-hidroxi tamoxifeno (20 mg de 4-hidroxi tamoxifeno/100 g de gel hidroalcoólico; Besins-Iscovesco Laboratories) foi empacotado dentro de uma bomba de medição de dose pressurizado que entregou 1,25 g de dose de gel/dose de medida (i.e., 0,25 mg de 4-hidroxi tamoxifeno/dose).

Durante cirurgia, foram retiradas duas amostras (1 cm<sup>3</sup> cada) de tecido de peito, um tumoral e o outro macroscopicamente normal. Eles foram imediatamente congelados em azoto líquido até análise. Foram obtidas amostras de sangue no dia da cirurgia e no dia anterior. Foram analisadas todas as amostras de tecido e de plasma para concentração de 4-hidroxi tamoxifeno através de cromatografia gasosa/espectrometria de massa (o GC-MS).

Foram analisadas amostras de sangue antes e após o tratamento para contagens completas de glóbulos (CBC), bilirrubina, trans-aminase de soro glutâmico-pirúvico (SGPT), trans-aminase de soro glutâmico-oxalo-acético (SGOT), fosfatase alcalina, creatinina, estradiol, hormona estimulante de folículo (FSH), hormona de Lutening (LH), globulina que liga hormona sexual (SHBG), colesterol, lipoproteína de alta densidade (HDL), lipoproteína de baixa densidade (LDL), triglicéridos, fibrinogénio, e antitrombina III.

A Tabela 4 a seguir resume a concentração de 4-hidroxi tamoxifeno encontrada em tecido da mama e plasma.

Tecidos normal e do tumor da mama continham concentrações semelhantes de 4-hidroxi tamoxifeno em todos os cinco grupos de tratamento. O 4-hidroxi tamoxifeno concentrado a mais elevadas quantidades em tecido da mama quando o gel era directamente aplicado aos seios, do que a outras superfícies de pele maiores.

Efeitos secundários não colocaram um problema significativo. O tratamento cutâneo não causou irritação local. Uma mulher no Grupo 2 (0,5 mg/dia de 4-hidroxi gel de tamoxifeno) registaram temporadas de enjoos, cistite, e vaginite moderada, o que aconteceu no sétimo dia de tratamento. Uma mulher em Grupo 1 (tamoxifeno oral) registou afrontamentos e vaginite moderada no quinto dia de tratamento.

Não existia diferenças entre as amostras de sangue do pré- e o pós-tratamento para qualquer das avaliações químicas do soro ou hematologia nos pacientes que receberam o gel de 4-hidroxi tamoxifeno. Porém, foi observado no grupo de tamoxifeno oral, uma diminuição estatisticamente significativa em anti-trombina III e fibrinogénio e um aumento estatisticamente significativo em plaquetas e contagens de linfócitos, consistente com os efeitos biológicos deste fármaco observado noutras estudos.

**Tabela 4: Concentrações de 4-hidroxi tamoxifeno**

Grupo	N	Média ± SD 4-hidroxi tamoxifeno (Gama)			
		Concentrações de plasma (pg/mL)		Tecido normal (pg/g)	Tumor (pg/g)
		dia Pré- cirúrgico	dia cirúrgico		
1	6	2326±585 (1371-2939) <sup>a</sup>	2317±1098 (881-4176)	10215±2151 (5873-11511)	12453±3751 (9568-18904) <sup>a</sup>
2	6	0 (0-0) <sup>a</sup>	17±27 (0 <sup>c</sup> -61)	353±513 (0 <sup>d</sup> -1317)	1447±2673 (0 <sup>f</sup> -6889)
3	5	164±131 (29-279) <sup>b</sup>	62±71 (28-190)	1112±1125 (197-2979)	1877±2472 (345-6211)
4	5	94±76 (35-201) <sup>b</sup>	13±29 (0 <sup>c</sup> -65)	140±130 (0 <sup>e</sup> -270)	552±357 (271-1150)
5	6	78±138 (0 <sup>c</sup> -284) <sup>b</sup>	73±114 (0 <sup>c</sup> -244)	992±2195 (0 <sup>d</sup> -5462)	224±312 (0 <sup>d</sup> -799)

<sup>a</sup> n=5

<sup>b</sup> n=4

<sup>c</sup> Quatro pacientes tiveram níveis indetectáveis de 4-hidroxi tamoxifeno (pg/mL de LOQ=20.)

<sup>d</sup> Três pacientes tiveram níveis indetectáveis de 4-hidroxi tamoxifeno.

<sup>e</sup> 2 pacientes tiveram níveis indetectáveis de 4-hidroxi tamoxifeno

<sup>f</sup> 1 paciente teve níveis indetectáveis de 4-hidroxi tamoxifeno

**Exemplo 2: Demonstração de Tolerância e Farmacocinética de 4-OH-Tamoxifeno Administrado Cutaneamente, em Mulheres Saudáveis**

Este estudo demonstra a tolerância e farmacocinética do gel de 4-hidroxi de tamoxifeno aplicado topicalmente em mulheres saudáveis na pré-menopausa, com idades de 18-45 anos. Cada participante aplicou o gel diariamente pela duração de dois ciclos menstruais.

Foram testadas três doses e duas concentrações de gel, como resumido na Tabela 5. Para os Grupos A-C, o gel, contendo 20 mg de 4-hidroxi tamoxifeno/100 g, foi dispensado por uma bomba de medida de dose pressurizada que entregava 0,25 mg de 4-hidroxi tamoxifeno/dose. O estudo do Grupo C foi suspenso porque a quantidade de gel era muito grande para ser aplicado a um único seio. Os Grupos D e E receberam um gel mais concentrado que continha quase 3 vezes como 4-hidroxi tamoxifeno: 57 mg de 4-hidroxi tamoxifeno/100 g, ou 50 mg de 4-hidroxi tamoxifeno/100 mL de gel. Este gel mais concentrado também foi entregue por uma bomba de medida de dose que forneceu 0,25 mg de 4-hidroxi tamoxifeno/dose.

**Tabela 5: Grupos de Tratamento**

Grupo	N	Dose (mg/dia)	Concentração de gel (mg de 4-OHT/g de gel)	Tratamento
A	12	0,5	20 mg/100 g	1 dose de medida/seio/dia
B	8	1	20 mg/100 g	2 doses de medida/seio/dia
C	2	2	20 mg/100 g	O estudo foi suspenso
D	12	1	57 mg/100 g	2 doses de medida/seio/dia
E	12	2	37 mg/100 g	4 doses de medida/seio/dia

No final de um ciclo menstrual, cada paciente recebeu uma única dose depois da qual foram recolhidas amostras de sangue em série a 0, 0,5, 1, 1,5, 2, 3, 4, 6, 12, 18, 24, 36, 49, e 72 horas.

No primeiro dia da menstruação seguinte, começou o tratamento que consistiu na aplicação diária do gel mais de dois ciclos menstruais. Foram recolhidas amostras de sangue 24 horas a seguir à aplicação matinal de gel nos dias 7, 20 e 25 dos primeiro e segundo ciclos. No último dia de administração, dia 25 do segundo ciclo menstrual, foram recolhidas amostras de sangue em série antes da aplicação e às 0,5, 1, 1,5, 2, 3, 4, 6, 12, 18, 24, 36, 48, e 72 horas depois da aplicação do gel. As amostras foram

analisadas para 4-hidroxi tamoxifeno, estradiol, progesterona, FSH e LH.

As concentrações de 4-hidroxi tamoxifeno no plasma permaneceram detectáveis 72 horas depois da última aplicação de gel. Então, para assegurar que os pontos de dados foram obtidos até o 4-hidroxi tamoxifeno se tornar indetectável no sangue, foram recolhidas amostras de sangue adicionais de alguns participantes a intervalos até 92 dias a seguir à última aplicação de gel.

A Tabela 6 apresenta a média ± o desvio-padrão (SD) das concentrações de 4-hidroxi tamoxifeno no plasma, com as gamas entre parênteses. Uma única dose de 0,5 mg não produziu concentrações detectáveis de 4-hidroxi tamoxifeno no plasma, mas 6 das 12 pacientes tiveram concentrações detectáveis de plasma de (>5 pg/mL) depois de uma única dose de 1 mg.

**Tabela 6: Média ± SD Concentrações de 4-Hidroxi Tamoxifeno no Plasma em Mulheres Saudáveis a Seguir à Administração Cutânea Diária durante dois Ciclos Menstruais**

Ciclo	Día	Tempo depois de Apli- cação (hr)	Média ± SD (Gama é indicada em parêntese) em pg/mL			
			0,5 mg/dia (n=12) <sup>1</sup>	1 mg/dia (n=8) <sup>1</sup>	1 mg/dia (n=12) <sup>2</sup>	2 mg/dia (n=12) <sup>2</sup>

	1	0	(0-17, 2)	(0-13, 9)	(0-9, 5)	(0-0)
Primeiro	7	24	6, 4±5, 6 (<LOQ- 16, 8)	15, 2±9, 7 (<LOQ- 26, 8)	14, 4±13, 1 (<LOQ- 37, 9)	26, 9±18, 2 (8, 9-71, 3)
	20	24	13, 6±7, 9 (<LOQ- 25, 9)	17, 3±9, 5 (<LOQ- 29, 8)	18, 1±15, 8 (<LOQ- 44, 5)	44, 0±29, 2 (10, 5- 117, 5)
	25	24	23, 9±23, 4 (<LOQ- 73, 1)	15, 5±6, 6 (6, 4-25, 0)	19, 8±-16, 2 (6, 2-57, 0)	45, 4±31, 0 (17, 9- 120, 1)
Segundo	7	24	25, 2±16, 1 (6, 5-61, 7)	17, 4±11, 2 (5, 7-39, 6)	22, 2±16, 4 (9, 0-64, 4)	42, 2±24, 8 (1842- 98, 0)
	20	24	15, 7±14, 0 (<LOQ- 52, 3)	14, 8±6, 5 (54-24, 8)	24, 4±20, 1 (<LOQ- 65, 4)	38, 9±27, 1 (18, 7- 119, 7)
	25	0 <sup>3</sup>	10, 8±9, 9 (<LOQ- 36, 4)	15, 7±17, 1 (<LOQ- 56, 4)	27, 2±20, 8 (8, 0-72, 1)	43, 2±27, 7 (16, 9- 120, 3)
	0, 5		10, 9±7, 4 (<LOQ- 26, 0)	13, 5±9, 1 (<LOQ- 27, 7)	25, 9±18, 7 (8, 7-69, 2)	44, 5±29, 9 (13, 6- 124, 5)
	1		10, 4±7, 8 (<LOQ- 26, 7)	10, 8±6, 6 (<LOQ- 23, 8)	28, 7±19, 5 (8, 8-69, 2)	40, 5±25, 1 (14, 2- 106, 7)

	1, 5	$9, 0 \pm 8, 2$ (<LOQ- 25, 1)	$11, 8 \pm 8, 0$ (<LOQ- 23, 6)	$25, 6 \pm 17, 8$ (7, 5-67, 0)	$36, 8 \pm 21, 1$ (15, 9- 90, 0)
	2	$11, 8 \pm 9, 5$ (<LOQ- 26, 9)	$10, 7 \pm 6, 9$ (<LOQ- 24, 7)	$25, 1 \pm 18, 0$ (6, 9-67, 3)	$36, 8 \pm 21, 6$ (13, 0- 83, 7)
	3	$10, 0 \pm 7, 9$ (<LOQ- 23, 1)	$11, 4 \pm 7, 9$ (<LOQ- 28, 1)	$24, 9 \ 20, 5$ (9, 0-69, 9)	$36, 1 \pm 20, 6$ (11, 9- 89, 4)
	4	$9, 2 \pm 8, 3$ (<LOQ- 25, 3)	$11, 2 \pm 7, 3$ (<LOQ- 25, 7)	$26, 8 \pm 23, 3$ (6, 4-78, 1)	$38, 1 \pm 21, 2$ (16:5- 92, 0)
	6	$11, 4 \pm 8, 5$ (<LOQ-26, 6)	$10, 7 \pm 6, 4$ (<LOQ- 22, 8)	$25, 0 \pm 18, 2$ (9, 0-65, 3)	$41, 0 \pm 29, 1$ (14, 0- 123, 8)
	12	$11, 0 \pm 9, 7$ (<LOQ- 29, 1)	$11, 8 \pm 7, 8$ (<LOQ- 28, 1)	$28, 3 \pm 22, 9$ (6, 4-74, 6)	$45, 1 \pm 30, 6$ (18, 7- 126, 8)
	18	$9, 7 \pm 9, 8$ (<LOQ- 24, 9)	$12, 2 \pm 8, 3$ (<LOQ- 29, 6)	$23, 4 \pm 17, 4$ (8, 1, 57, 9)	$39, 8 \pm 25, 5$ (16, 0- 107, 3)
26	24	$12, 4 \pm 9, 4$ (<LOQ- 34, 4)	$18, 6 \pm 14, 2$ (<LOQ- 40, 1)	$26, 0 \pm 19, 6$ (8, 9-61, 9)	$44, 0 \pm 33, 0$ (15, 8- 132, 5)
	36	$10, 9 \pm 6, 9$ (5, 0-25, 8)	$13, 4 \pm 7, 5$ (<LOQ- 25, 4)	$23, 7 \pm 18, 4$ (8, 8-61, 3)	$42, 1 \pm 31, 5$ (15, 1- 129, 3)

	27	48	$12,1 \pm 6,5$ (4,8-26,6)	$12,5 \pm 6,0$ (<LOQ- 19,6)	$22,0 \pm 16,0$ (5,6-50,2)	$38,1 \pm 25,3$ (17,5- 110,0)
	28	72	$9,9 \pm 7,1$ (<LOQ- 22,3)	$9,9 \pm 5,8$ (<LOQ- 19,6)	$18,9 \pm 12,4$ (5,6-37,8)	$33,2 \pm 22,2$ (17,7-98,0)
		+ 5--	dias	$5,8 \pm 5,2$ (<LOQ- 12,4)	$11,4 \pm 8,2$ (<LOQ- 25,8)	$20,4 \pm 17,3$ (9,1-71,6)
		+ 8 dias	<LOQ	(<LOQ- 17,4)	(0-14,8)	$10,8 \pm 13,4$ (<LOQ- 52:0)
		+ 12 dias	(máximo 9,09)	(<LOQ-7,0)	(0-<LOQ)	(0-30,4)
		+ 20 dias	0	<LOQ	(0-<LOQ)	(0-<LOQ)
<sup>1</sup> a concentração de gel era 20 mg de 4-hidroxi tamoxifeno por 100 g de gel,						
<sup>2</sup> a concentração de gel era 57 mg de 4-hidroxi tamoxifeno por 100 g de gel.						
<sup>3</sup> O ponto inicial 0 é 24 horas após a aplicação no Dia 24 e antes da aplicação final no Dia 25.						
LOQ = limite de quantificação (< 5 pg/mL)						

A Figura 2 apresenta uma curva de concentração de plasma-tempo, a seguir à última administração no dia 25 do segundo ciclo menstrual. A Tabela 7 apresenta a média dos

parâmetros farmacocinéticos que se referem à última administração, no dia 25 do segundo ciclo menstrual.

**Tabela 7: Média dos Parâmetros Farmacocinéticos de 4-Hidroxi Tamoxifeno em Mulheres Saudáveis a Seguir à Última Administração**

Parâmetro	Média ± SD (a Gama é indicada entre parêntese)			
	0,5 mg/dia (n=12) <sup>a</sup>	1 mg/dia (n=8) <sup>a</sup>	1 mg/dia (n=12) <sup>b</sup>	2 mg/dia (n=12) <sup>b</sup>
C <sub>max</sub> (pg/mL)	17,0±8,5 (7,6-34,4)	21,0±14,0 (<LOQ-40,1)	35,1±22,4 (9,9-78,1)	51,6±31,7 (22,1-132,5')
t <sub>max</sub> (hr)	40±81 (0,5-288)	24±18 (0,5-48)	12,8±14,9 (1-36)	11,8±12,3 (0,5-36)
t <sub>1/2</sub> (hr)	-	-	(58-118)	(49,101)
AUC <sub>0-24</sub> (pg·hr/mL)	256,3±205,3 (24,6-651,1)	300,9±190,8 (0-693,6)	619±466 (187-1522)	998±653 (424-2778)
C <sub>Av</sub> = AUC <sub>0-</sub> <sub>24</sub> /24 (pg/mL)	10,7±8,5 (1,0-27,1)	12,5±7,9 (0-28,9)	25,8±19,4 (7,8-63,4)	41,6±27,2 (17,7-115,8)
T(1stC<LOQ) (hr) T (1stC<LOQ) (hr)	-	274±141 (144-480)	236±72 (144-384)	326±97 (192-480)

<sup>a</sup> A concentração de gel era de 20 mg de 4-hidroxi tamoxifeno por 100 g de gel.

<sup>b</sup> A concentração de gel era de 57 mg de 4-hidroxi tamoxifeno por 100 g de gel.  $AUC_{0-24}$ =área debaixo da curva de concentração-tempo para 0-24 horas;  $C_{av}$ =Cálculo da área debaixo da curva mais de 24 horas ( $AUC_{0-24}$ ) dividido por 24 horas;  $C_{max}$ = concentração máxima plasma;  $t_{1/2}$ =meia vida;  $T(1stC<LOQ)$  = primeiro ponto ao qual a concentração de plasma estava abaixo do limite de quantificação;  $t_{max}$ =tempo de concentração máxima em plasma.

Os dados são consistentes com uma resposta de dose cruzada com as três doses testadas (0,5, 1, e 2 mg). O gel mais concentrado era melhor absorvido, por aproximadamente o dobro, do que o gel menos concentrado, com base em AUC e  $C_{av}$ .

A tolerância biológica foi excelente em todas as 36 pacientes. O tratamento não afectou os níveis de FSH, LH, estradiol, ou da hormona progesterona durante os ciclos menstruais. Além disso, o exame ecográfico dos ovários no final do tratamento era normal em todos os pacientes, apresentando folículos classificados como o tamanho normal de desenvolvimento. Um paciente desenvolveu uma reacção alérgica ao gel, e 10 registaram acne facial.

Em resumo, este estudo indica que a exposição para 4-hidroxi tamoxifeno depois da aplicação tópica aumentar com a dose, aquelas concentrações de plasma de 4-

hidroxi tamoxifeno são mais baixas que as concentrações de estradiol típicas (80 pg/mL), e que não há nenhum efeitos sistémicos detectáveis em laboratório ou de evidência clínica.

**Exemplo 3: Estudo para Demonstrar a Eficácia de 4-Hidroxi Tamoxifeno Cutâneo no Tratamento de Cicatrizes Quelóides**

O objectivo principal deste estudo é demonstrar que o 4-hidroxi tamoxifeno, quando administrado por via cutânea, efectivamente trata cicatrizes quelóides.

Os pacientes diagnosticados com uma cicatriz quelóide receberam tanto placebo como gel 4-hidroxi tamoxifeno durante um período de 6 meses. Para o grupo de tratamento, é administrado entre 1 e 2 mg de gel g/cm<sup>2</sup> (57 mg 4-OHT/100 gel de g) duas vezes por dia, que está entre 0,5 e 1 µg 4-OHT/cm<sup>2</sup>. São avaliados pontos finais de eficácia clínica múltipla: (1) cada paciente avalia dor, incômodo, e comichão devido ao quelóide, (2) as cicatrizes são organizadas utilizando a escala de cicatrização de Vancouver, (3) as biópsias são comparadas na linha de base e depois de 6 meses de tratamento por análise histológica, (4) são executadas análises moleculares de TGF-β isoformas e expressão de colagénio. Os pacientes no grupo de tratamento apresentam melhorias estatisticamente significativas no ponto final contra pacientes no grupo de placebo.

**Publicações Citadas**

Bronaugh and Maibach, Percutaneous Absorption: Drugs Cosmetics Mechanisms Methodology, Marcel Dekker 1999.

Carthew, P., P.N. Lee, R.E. Edwards, R.T. Heydon, B.M. Nolan, E.A. Martin, Cumulative exposure to tamoxifen: DNA adducts and liver cancer in the rat, Arch Toxicol, 75: 375-80 (2001).

Chetrite, G., C. Varin, L. Delalonde, J.R. Pasqualini, Effect of progestone, tamoxifen, 4-hydroxytamoxifen and ICT 164,384 on the oestrone sulphatase activity of human breast cancer cells, Anticancer Res, 13(4) 931-4 (Jul-Aug. 1993).

Chau, D., J.S. Mancoll, S. Lee, J. Zhao, L.G. Phillips, G.I. Gittes, M.T. Longaker, Tamoxifen downregulates TGB-beta production in keloid fibroblasts, Ann. Plast. Surg., 40(5): 490-3 (1998).

Dietze, E.C., L.E. Caldwell, S.L. Grupin, M. Mancini, and V.L. Seewald, Tamoxifen, but not 4-hydroxytamoxifen initiates apoptosis in p53(-) normal human mammary epithelial cells by inducing mitochondrial depolarization, J. Biol. Chem., 276(7): 5384-94 (Feb. 16, 2001).

Fentiman, I.S., Tamoxifen and mastalgia. An

emerging indication, Drugs 32: 477.80 (1986).

Fentiman, I.S., M. Caleffi, H. Hamed, and M.A. Chaudary, Dosage and duration of tamoxifen treatment for mastalgia: a controlled trial, British Journal of Surgery 75: 845-46 (1988).

Fentiman, I.S., M. Caleffi, H. Hamed, and M.A. Chaudary, Studies of tamoxifen in women with mastalgia, British Journal of Clinical Practice, Supplement 68, 43(11):34-36(1989)).

Giambiagi, N. and J.R. Pasqualini, Immunological differences between the estradiol-, tamoxifen and 4-hydroxy-tamoxifen estrogen receptor complexes detected by two monoclonal antibodies, J. Steroid Biochem, 30(1-6):213-7 (1988).

Hu, D., M.A. Hughes, G.W. Cherry, Topical tamoxifen-a potential therapeutic regimen in treating excessive dermal scarring?, Br. J. Plast. Surg., 50(6):462-9 (1998).

Hu, D., X. Zhu, M. Xu, B. Chen, A.H. Margaret, W.C. George, The inhibitory effect of tamoxifen on human dermal fibroblast-populated collagen lattices, Zhonghua Zheng Xing Wai Ke Za Zhi, (18(3):160-2 (2002).

IBIS Investigators, First results from the

International Breast Cancer Intervention Study (IBIS-I): a randomised prevention trial, Lancet, 360(9336):817-24 (2002).

Jordan, V.C., Metabolites of tamoxifen in animals and man: identification, pharmacology, and significance, Breast Cancer Res. Treat., 2(2) 123-38 (1982).

Kuiper, G.G.J.M., B. Carlsson, K. Grandien, E. Enmark, J. Heggblad, S. Nilsson, J. Gustafsson; Comparison of the ligand binding specificity and transcript tissue distribution of estrogen receptors  $\alpha$  and  $\beta$ , Endocrinology, 138:863-870 (1997).

Kurtenn, F. and P. Mauvais-Jarvis, Intratumoral levels and metabolism of 4-hydroxytamoxifen after percutaneous administration at the breast level, C.R. Acad. Sci. III. 300:457-462 (1985) (French).

Malet C, A. Gompel, P. Spritzer, N Bricourt, NH Yaneva, I. Mowszowicz, F. Kutten and P Mauvais Jarvis, Tamoxifen and hydroxytamoxifen isomers versus estradiol effects on normal human breast cells in culture, Cancer Research, 48: 7193-7199 (1988).

Mauvais-Jarvis, P., N. Baudot, D. Castaigne, P. Banzet, and F. Kutten, Z-4-hydroxytamoxifen concentration and metabolism after local percutaneous administration to human breast, Cancer Research, 46:1521-1525 (1986).

Mikulec, A.A., M.M. Hanasono, J. Lum, J.M. Kadleck, M. Kita, R.J. Koch, Effect of tamoxifen on transforming growth factor beta1 production by keloid and fetal fibroblasts, Arch. Facial Plast. Surg., 3(2): 111 (2001).

Pujol, H., J. Girault, P. Rouanet, S. Fournier, J. Grenier, J. Simony, J.B. Fourtillan, and J.L. Pujol, Phase 1 study of percutaneous 4-hydroxy-tamoxifen with analyses of 4-hydroxy-tamoxifen concentrations in breast cancer and normal breast tissue, Cancer Chemother. Pharmacol., 36:493-498 (1995).

Remington: The Science and Practice of Pharmacy, Alfonso R. Gennaro, Lippincott Williams & Wilkins, 2000, pp. 836-858.

Robertson and Katzenellenbogen, J. Org. Chem., 47:2387 (1982).

Robertson, D.W., J.A. Katzenellenbogen, D.J. Long, E.A. Rorke and B.S. Katzenellenbogen, Tamoxifen antiestrogens. A comparison of the activity, pharmacokinetics, and metabolic activation of the E and Z isomers of tamoxifen, J. Steroid Biochemistry, 16(1):1-13 (1982).

Sauvez, F., D. Salin-Drouin, M. Attia, H. Bertheux, and R. Forster, Cutaneously applied 4-

hydroxytamoxifen is not carcinogenic in female rats.  
Carcinogenesis, 20: 843-50 (1999).

Wijayaratne, A.L., S.C. Nagel, L.A. Paige, D.J. Christensen, J.D. Norris, D.M. Fowlkes, and D.P. McDonnell, Comparative Analyses of Mechanistic Difference among Antiestrogens, Endocrinology, 140(12): 5828-5840 (1999).

Lisboa, 23 de Julho de 2008

## REIVINDICAÇÕES

1. Utilização de 4-hidroxi tamoxifeno para a preparação de uma composição farmacêutica para tratar ou prevenir cicatrizes, ou uma ferida ou incisão em risco de desenvolver cicatrização excessiva, através de administração local.

2. Utilização de acordo com a reivindicação 1, em que a referida cicatriz é uma cicatriz quelóide.

3. Utilização de acordo com a reivindicação 1, em que a referida cicatriz está em risco de desenvolver uma cicatriz quelóide.

4. Utilização de acordo com a reivindicação 1, em que a referida cicatriz é uma cicatriz hipertrófica.

5. Utilização de acordo com a reivindicação 1, em que a referida cicatriz está em risco de desenvolver uma cicatriz hipertrófica.

6. Utilização de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 5, em que o referido 4-hidroxi tamoxifeno está numa forma capaz de ser administrado cutaneamente.

7. Utilização de acordo com qualquer uma das

reivindicações 1 a 5, em que o referido 4-hidroxi tamoxifeno está numa forma capaz de ser administrado por injecção.

8. Utilização de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 5, em que o referido 4-hidroxi tamoxifeno é entregue por um implante de um polímero de libertação controlada ou outro dispositivo de entrega que incorpore o 4-hidroxi tamoxifeno.

9. Utilização de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 6, em que o referido 4-hidroxi tamoxifeno está num veículo que contém um melhorador de penetração.

10. Utilização de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 9, em que o referido 4-hidroxi tamoxifeno é uma mistura de Z e isómeros de E.

11. Utilização de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 9, em que o referido 4-hidroxi tamoxifeno é predominantemente um isómero Z.

12. Utilização de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 11, em que é administrado por dia, entre aproximadamente 0,25 e 3,0  $\mu$ g do referido 4-hidroxi tamoxifeno por  $\text{cm}^2$  de cicatriz.

13. Utilização de acordo com a reivindicação 12,

em que a referida composição farmacêutica é capaz ou administrado entre aproximadamente 0,5 e 2,5 µg do referido 4-hidroxitemoxifeno por cm<sup>2</sup> de cicatriz por dia.

14. Utilização de acordo com a reivindicação 13, em que a referida composição farmacêutica é capaz de administrar aproximadamente 1,0 µg do referido 4-hidroxitemoxifeno por cm<sup>2</sup> de cicatriz por dia.

15. Utilização de acordo com a reivindicação 13 em que a referida composição farmacêutica é capaz de administrar aproximadamente 2,0 µg do referido 4-hidroxitemoxifeno por cm<sup>2</sup> de cicatriz por dia.

16. Utilização de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 6 ou 9 a 15, em que o referido 4-hidroxitemoxifeno é formulado numa forma de administração percutânea seleccionada da seguinte lista: um unguento, um creme, um penso, um gel, uma emulsão, um pó, e um óleo.

17. Utilização de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 6 ou 9 a 15, em que o referido 4-hidroxitemoxifeno é formulado num gel hidroalcoólico.

18. Utilização de acordo com a reivindicação 17, em que o referido gel hidroalcoólico inclui álcool etílico, miristato de isopropilo, e hidroxipropilcelulose.

19. Utilização de acordo com qualquer uma das

reivindicações 1 a 6 ou 9 a 15, em que o referido 4-hidroxi tamoxifeno é formulado numa solução hidroalcoólica.

20. Utilização de acordo com a reivindicação 19, em que a referida solução hidroalcoólica compreende álcool etílico, miristato de isopropilo e hidroxipropilcelulose.

Lisboa, 23 de Julho de 2008

Figura 1: Representação do Metabolismo do Tamoxifeno

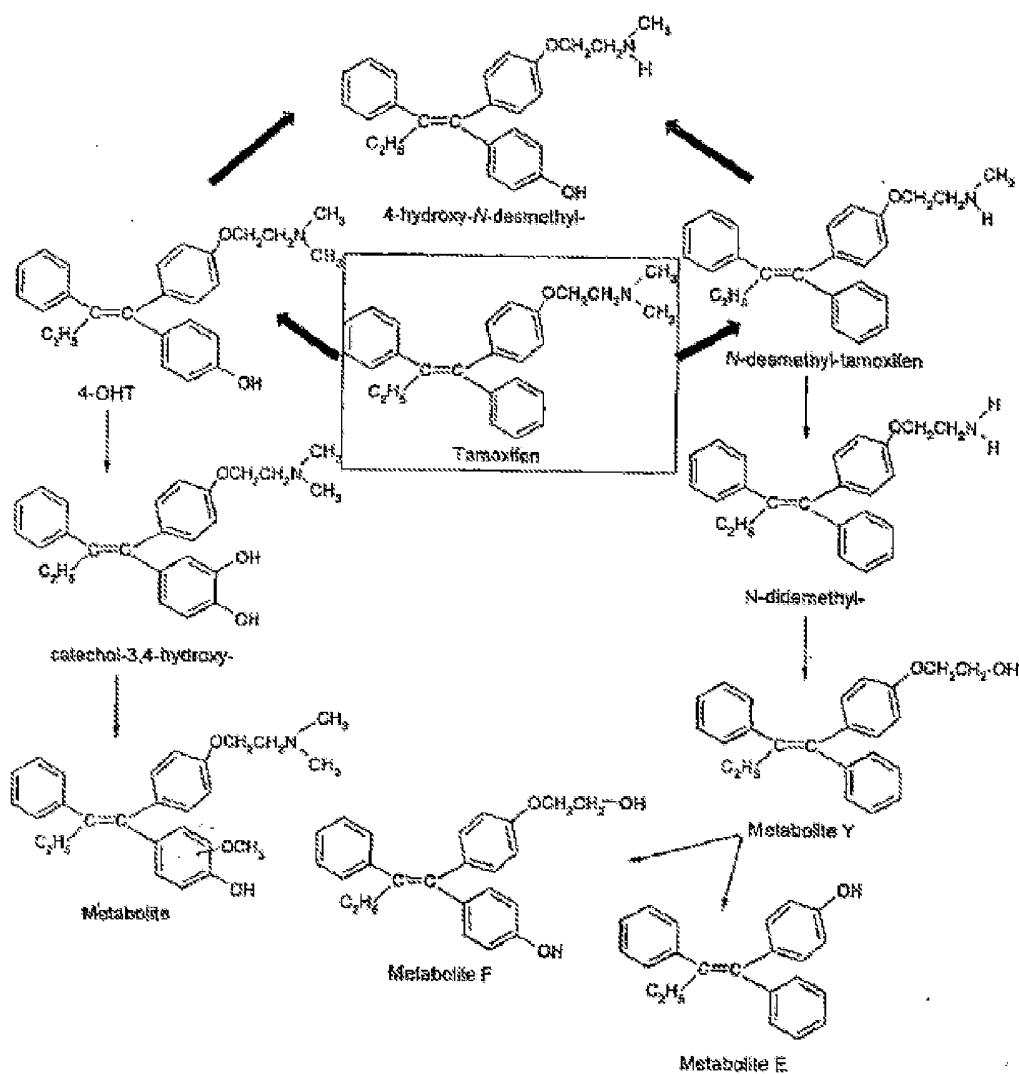
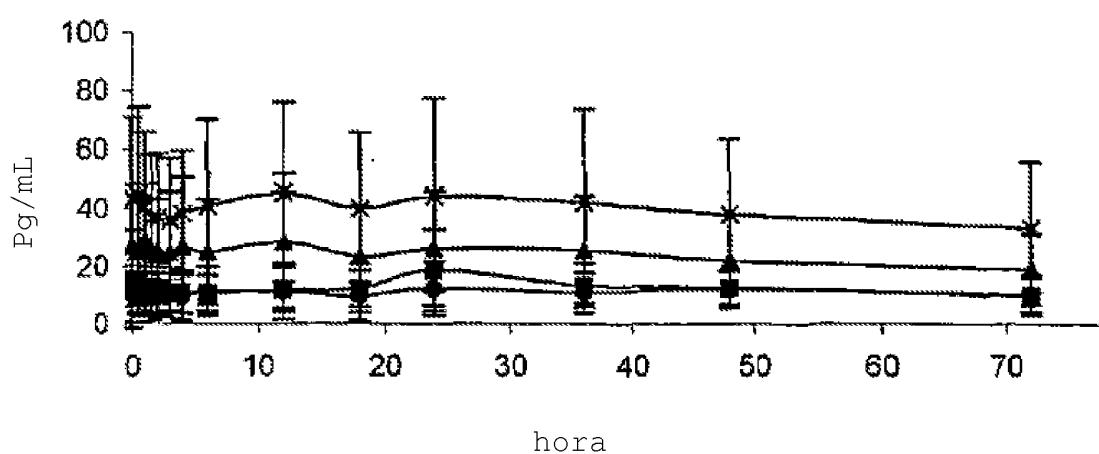


Figura 2: Média  $\pm$  SD da Concentração do 4-hidroxitamoxifeno no Plasma em mulheres saudáveis a seguir á última administração cutânea (dia 25 do segundo ciclo)



## REFERÊNCIAS CITADAS NA DESCRIÇÃO

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

### Documentos de patentes citadas na Descrição

- US 4919937 A, Mauvais-jarvis

### Literatura que não é de patentes citada na Descrição

- REMINGTON: THE SCIENCE AND PRACTICE OF PHARMACY. Lippincott Williams & Wilkins, 2000, 836-58
- BRONAUGH ; MAIBACH. PERCUTANEOUS ABSORPTION: DRUGS COSMETICS MECHANISMS METHODOLOGY. Marcel Dekker, 1999
- BRONAUGH ; MAIBACH. Percutaneous Absorption: Drugs Cosmetics Mechanisms Methodology. Marcel Dekker, 1999
- CARTHEW, P.; P.N. LEE; R.E. EDWARDS; R.T. HEYDON; B.M. NOLAN; E.A. MARTIN. Cumulative exposure to tamoxifen : DNA adducts and liver cancer in the rat. *Arch Toxicol*, 2001, vol. 75, 375-80
- CHETRITE, G.; C. VARIN ; L. DELALONDE ; J.R. PASQUALINI. Effect of promegestone, tamoxifen, 4-hydroxytamoxifen and ICI 154,384 on the oestrone sulphatase activity of human breast cancer cells. *Anticancer Res*, July 1993, vol. 13 (4), 931-4
- CHAU, D.; J.S. MANCOLL ; S. LEE ; J. ZHAO ; L.G. PHILLIPS ; G.I. GITTES ; M.T. LONGAKER. Tamoxifen downregulates TGF-beta production in keloid fibroblasts. *Ann Plast Surg.*, 1998, vol. 40 (5), 490-3
- DIETZE, E.C.; L.E. CALDWELL ; S.L. GRUPIN ; M. MANCINI ; V.L. SEEWALD. Tamoxifen, but not 4-hydroxytamoxifen initiates apoptosis in p53(-) normal human mammary epithelial cells by inducing mitochondrial depolarization. *J Biol Chem.*, 16 February 2001, vol. 276 (7), 5384-94
- FENTIMAN, I.S. Tamoxifen and mastalgia. An emerging indication. *Drugs*, 1986, vol. 32, 477-80
- FENTIMAN, I.S. ; M. CALEFFI ; H. HAMED ; M.A. CHAUDARY. Dosage and duration of tamoxifen treatment for mastalgia: a controlled trial. *British Journal of Surgery*, 1988, vol. 75, 845-48
- FENTIMAN, I.S. ; M. CALEFFI ; H. HAMED ; M.A. CHAUDARY. Studies of tamoxifen in women with mastalgia. *British Journal of Clinical Practice*, 1989, vol. 69 (11), 34-36
- GIAMBIAGI, N. ; J.R. PASQUALINI. Immunological differences between the estradiol-, tamoxifen and 4-hydroxy-tamoxifen estrogen receptor complexes detected by two monoclonal antibodies. *J. Steroid Biochem*, 1988, vol. 30 (1-6), 213-7
- HU, D. ; M.A. HUGHES ; G.W. CHERRY. Topical tamoxifen-a potential therapeutic regimen in treating excessive dermal scarring? *Br. J. Plast. Surg.*, 1998, vol. 51 (5), 462-9
- HU, D. ; X. ZHU ; M. XU ; B. CHEN ; A.H. MARGARET ; W.C. GEORGE. The inhibitory effect of tamoxifen on human dermal fibroblast-populated collagen lattices. *Zhonghua Zheng Xing Wei Ke Za Zhi*, 2002, vol. 18 (3), 160-2
- IBIS Investigators. First results from the International Breast Cancer Intervention Study (IBIS-I): a randomised prevention trial. *Lancet*, 2002, vol. 360 (9336), 817-24
- JORDAN, V.C. Metabolites of tamoxifen in animals and man: identification, pharmacology, and significance. *Breast Cancer Res. Treat.*, 1982, vol. 2 (2), 123-38
- KUIPER, G.G.J.M. ; B. CARLSSON ; K. GRANDIEN ; E. ENMARK ; J. HEGGBLAD ; S. NILSSON ; J. GUSTAFSSON. Comparison of the ligand binding specificity and transcript tissue distribution of estrogen receptors  $\alpha$  and  $\beta$ . *Endocrinology*, 1997, vol. 138, 863-870
- KURTENN, F. ; P. MAUVAIS-JARVIS. Intratumoral levels and metabolism of 4-hydroxytamoxifen after percutaneous administration at the breast level. *C.R. Acad. Sci. III*, 1995, vol. 318, 457-462
- MALET C ; A. GOMPEL ; P. SPRITZER ; N. BRICOURT ; NH YANEVA ; I. MOWSZOWICZ ; F. KUTTEN ; P. MAUVAIS JARVIS. Tamoxifen and hydroxytamoxifen isomers versus estradiol effects on normal human breast cells in culture. *Cancer Research*, 1986, vol. 46, 7193-7199
- MAUVAIS-JARVIS, P. ; N. BAUDOT ; B. CASTAIGNE ; P. BANZET ; F. KUTTENN. Z-4-hydroxytamoxifen concentration and metabolism after local percutaneous administration to human breast. *Cancer Research*, 1986, vol. 46, 1521-1525

- MIKULEC, A.A. ; M.M. HANASONO ; J. LUM ; J.M. KADLECK ; M. KITA ; R.J. KOCH. Effect of tamoxifen on transforming growth factor beta1 production by keloid and fetal fibroblasts. *Arch. Facial Plast. Surg.*, 2001, vol. 3 (2), 111
- PUJOL, H. ; J. GIRAULT ; P. ROUANET ; S. FOURNIER ; J. GRENIER ; J. SIMONY ; J.B. FOURTILLAN ; J.L. PUJOL. Phase 1 study of percutaneous 4-hydroxy-tamoxifen with analyses of 4-hydroxy-tamoxifen concentrations in breast cancer and normal breast tissue. *Cancer Chemother. Pharmacol.*, 1995, vol. 36, 493-498
- Remington: The Science and Practice of Pharmacy. Lippincott Williams & Wilkins, 2000, 836-856 [0065]
- ROBERTSON ; KATZENELLENBOGEN. *J. Org. Chem.*, 1982, vol. 47, 2367
- ROBERTSON, D.W. ; J.A. KATZENELLENBOGEN ; D.J. LONG ; E.A. RORKE ; B.S. KATZENELLENBOGEN. Tamoxifen antiestrogens. A comparison of the activity, pharmacokinetics, and metabolic activation of the E and Z isomers of tamoxifen. *J. Steroid Biochemistry*, 1982, vol. 16 (1), 1-13
- SAUVEZ, F. ; D. SALIN-DROUIN ; M. ATTIA ; H. BERTHEUX ; R. FORSTER. Cutaneously applied 4-hydroxytamoxifen is not carcinogenic in female rats. *Carcinogenesis*, 1999, vol. 20, 843-851
- WIJAYARATNE, A.L. ; S.C. NAGEL ; L.A. PAIGE ; D.J. CHRISTENSEN ; J.D. NORRIS ; D.M. FOWLKES ; D.P. McDONNELL. Comparative Analyses of Mechanistic Difference among Antiestrogens. *Endocrinology*, 1999, vol. 140 (12), 5828-5840