

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 696 074**

51 Int. Cl.:

A01N 47/28 (2006.01)

A61K 31/17 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

A61K 31/4166 (2006.01)

A61K 31/4184 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **27.07.2012 PCT/US2012/048471**

87 Fecha y número de publicación internacional: **10.05.2013 WO13066440**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **27.07.2012 E 12846720 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **22.08.2018 EP 2739153**

54 Título: **Tratamiento del cáncer de mama**

30 Prioridad:

29.07.2011 US 201161513361 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
14.01.2019

73 Titular/es:

**MEDIVATION PROSTATE THERAPEUTICS LLC
(50.0%)
525 Market Street 36th Floor
San Francisco, CA 94105, US y
THE REGENTS OF THE UNIVERSITY OF
COLORADO, A BODY CORPORATE (50.0%)**

72 Inventor/es:

**PROTTER, ANDREW A.;
RICHER, JENNIFER y
COCHRANE, DAWN**

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 696 074 T3

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

DESCRIPCIÓN

Tratamiento del cáncer de mama

Esta invención se hizo con el apoyo del gobierno con el número de subvención W81XWM-08-1-0311 otorgada por el Comando de material e investigación médica del ejército. El gobierno tiene ciertos derechos en la invención.

5 Campo técnico

El campo técnico es el tratamiento del cáncer de mama.

Antecedentes

El documento US 2010/0172975 describe compuestos de diarilhidantoína, que incluyen diarilhidantoínas, y su uso para el tratamiento de diferentes enfermedades y afecciones.

10 Lehmann B D et al. (JOURNAL OF CLINICAL INVESTIGATION (2011), vol. 121, no. 7, páginas 2750 - 2767) se dirigen a la identificación de subtipos de cáncer de mama triple negativo humano y modelos preclínicos para la selección de terapias dirigidas.

Santana-Davila R et al. (JOURNAL OF HEMATOLOGY & ONCOLOGY (2010), vol. 3:42) se dirigen a opciones de tratamiento para pacientes con cáncer de mama triple negativo.

15 Robinson JLL et al. (THE EMBO JOURNAL (2011), vol. 30, no. 15, páginas 3019 - 3027) se dirigen a la transcripción dirigida por receptor de andrógenos en el cáncer de mama apocrino molecular que es mediado por FoxA1.

Graham TR et al. (BREAST CANCER RESEARCH AND TREATMENT (2010), vol. 123, páginas 139 - 147) se dirigen a la regulación recíproca de ZEB1 y AR en las células de cáncer de mama triple negativo.

20 Doane AS et al. (ONCOGENE (2006), vol. 25, páginas 3994 - 4008) se dirigen a un subconjunto de cánceres de mama negativos para receptor de estrógeno caracterizado por un programa transcripcional regulado por hormonas y respuesta a andrógenos.

Breve descripción de los dibujos

FIG. 1. Gráfica que demuestra que RD162' bloquea el crecimiento mediado por DHT en células MCF7. Las barras de error representan el error estándar de la media de 6 pocillos en cada tiempo de medición. Véase el ejemplo 1.

25 FIG. 2. Gráfica que demuestra que RD162' bloquea el crecimiento mediado por DHT en células BCK4.

FIGS. 3A-B. FIG. 3A, gráfica que demuestra que RD162' bloquea el crecimiento mediado por estradiol (E2) en células MCF7. Las barras de error representan el error estándar de la media de 6 pocillos en cada tiempo de medición. Véase el ejemplo 3. FIG. 3B, transferencia Western que demuestra la expresión del receptor de estrógeno alfa tratado durante 48 horas en diversas condiciones y α tubulina (un control de carga).

30 FIG. 4. Gráfica que demuestra que RD162' bloquea la regulación por aumento mediada por E2 de SDF-1, un gen implicado en la proliferación dirigida por E2, receptor de progesterona y receptor de andrógenos.

35 FIGS. 5A-D. Gráficas que demuestran que RD162' inhibe el crecimiento tumoral mediado por DHT in vivo como se describe en el Ejemplo 5. FIG. 5A, mediciones con calibre del tamaño tumoral a lo largo del tiempo. FIG. 5B, imágenes luminiscentes (IVIS) in vivo de todo el cuerpo a lo largo del tiempo. FIG. 5C, mediciones con calibre del tamaño tumoral individual al final del estudio. FIG. 5D, mediciones de IVIS del tamaño tumoral individual al final del estudio.

40 FIGS. 6A-C. FIG. 6A, transferencia Western de cuatro líneas celulares de cáncer de mama luminal (ER+, PR+) y cuatro triple negativo (ER-, PR-, Her2-) para el receptor de andrógenos, receptor de estrógeno y tubulina (como control de carga). FIG. 6B, gráfica que demuestra que RD162' inhibe el crecimiento celular en la línea celular de cáncer de mama triple negativo BT20 y disminuye realmente la viabilidad celular. FIG. 6C, gráfica que demuestra que RD162' inhibe el crecimiento celular en la línea celular MDA468 de cáncer de mama triple negativo y disminuye realmente la viabilidad celular.

45 FIGS. 7A-E. FIG. 7A, gráfica que muestra los resultados de un ensayo de MTS de proliferación in vitro usando células MDA-MB-453 (AR+, ER-, HER2+, PR-), que indica que RD162' 10 μ M inhibe la proliferación inducida por DHT 10 nM. FIG. 7B, gráfica que muestra los resultados de un ensayo de luciferasa con células MDA-kb2, que demuestra que RD162' inhibe la proliferación inducida por DHT de una manera dependiente de la dosis. FIG. 7C, gráfica que muestra la relación de AR nuclear a total en células MDA-kb2 tratadas como se describe en el ejemplo 7. FIG. 7D y FIG. 7E, gráficas que demuestran que RD162' inhibe el crecimiento tumoral inducido por DHT.

FIG. 8. Gráfica que demuestra que RD162' inhibe el crecimiento de células de cáncer de mama triple negativo.

FIG. 9. Gráfica que demuestra que RD162' con HERCEPTIN® inhibe el crecimiento de células de cáncer de mama Her2+.

FIG. 10 A. Gráfica que muestra la medición semanal del volumen tumoral.

FIG. 10B. Gráfica que muestra el peso de los tumores al final del experimento descrito en el ejemplo 10.

5 FIG. 10C. Secciones de tumor representativas teñidas para caspasa 3 escindida.

FIG. 10D. Imágenes de tinción de AR nuclear.

FIG. 11A. Gráfica que muestra el flujo total medio de todos los ratones en cada uno de los grupos de tratamiento.

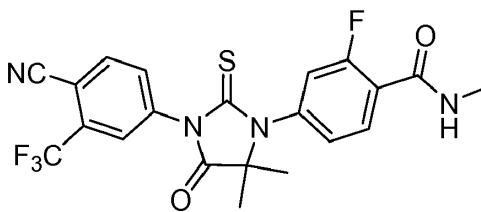
FIG. 11B. Se muestra la gráfica que muestra el flujo luminiscente total para todos los ratones individuales en el día del emparejamiento (día -3) y el día final de generación de imágenes (día 11).

10 FIG. 11C. Imágenes de la señal luminiscente en los dos grupos de tratamiento el día de emparejamiento (día -2) y el día final de generación de imágenes (día 11).

FIG. 11D. Imágenes representativas de tinción de BrdU (izquierda, aumento de 400X) y cuantificación (derecha).

Descripción detallada

15 La presente invención se refiere a un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para usar en el tratamiento del cáncer de mama triple negativo, en donde el compuesto es enzalutamida (RD162'):



en donde las células del cáncer de mama triple negativo expresan un receptor de andrógenos.

El compuesto anterior es un compuesto de diarilhidantoína. Los compuestos de diarilhidantoína útiles y sus síntesis se describen, por ejemplo, en la patente de EE.UU. 7.709.517.

20 1. Sales

Las sales del compuesto descrito antes se pueden usar en los métodos descritos. Si un compuesto tiene, por ejemplo, al menos un centro básico, puede formar una sal de adición de ácido. Estas se forman, por ejemplo, con ácidos inorgánicos fuertes, tales como ácidos minerales, por ejemplo ácido sulfúrico, ácido fosfórico o un ácido hidrohálico, con ácidos carboxílicos orgánicos fuertes, tales como ácidos alcanocarboxílicos de 1 a 4 átomos de carbono que no están sustituidos o están sustituidos, por ejemplo, con halógeno, por ejemplo ácido acético, tal como ácidos dicarboxílicos saturados o insaturados, por ejemplo ácido oxálico, malónico, succínico, maleico, fumárico, ftálico o tereftálico, tales como ácidos hidroxicarboxílicos, por ejemplo ácido ascórbico, glicólico, láctico, málico, tartárico o cítrico, tales como aminoácidos (por ejemplo, ácido aspártico o glutámico o lisina o arginina), o ácido benzoico, o con ácidos sulfónicos orgánicos, tales como ácidos alquil(C1-C4)- o aril-sulfónicos que no están sustituidos o están sustituidos, por ejemplo, con halógeno, por ejemplo ácido metil- o p-tolueno-sulfónico. También se pueden formar las sales de adición de ácido correspondientes que tienen, si se desea, un centro básico adicionalmente presente. Los compuestos que tienen al menos un grupo ácido (por ejemplo, COOH) también pueden formar sales con bases. Las sales adecuadas con bases son, por ejemplo, sales metálicas, tales como sales de metales alcalinos o metales alcalinotérreos, por ejemplo sales de sodio, potasio o magnesio, o sales con amoníaco o una amina orgánica, tal como morfolina, tiomorfolina, piperidina, pirrolidina, una mono, di o tri-alquilamina inferior, por ejemplo etil, terc-butil, dietil, diisopropil, trietil, tributil o dimetil-propilamina, o una mono, di o trihidroxi-(alquil inferior)alquilamina, por ejemplo mono, di o trietanolamina. Además, se pueden formar las sales internas correspondientes. También están incluidas sales que no son adecuadas para usos farmacéuticos pero que se pueden usar, por ejemplo, para aislar o purificar compuestos libres o sus sales farmacéuticamente aceptables. En algunas realizaciones, las sales de compuestos que contienen un grupo básico incluyen monohidrocloreto, hidrogenosulfato, metanosulfonato, fosfato o nitrato. En algunas realizaciones, las sales de compuestos que contienen un grupo ácido incluyen sales de sodio, potasio y magnesio y aminas orgánicas farmacéuticamente aceptables.

45 Las sales son sales farmacéuticamente aceptables (p. ej., no tóxicas, fisiológicamente aceptables). Las sales farmacéuticamente aceptables retienen al menos algo de la actividad biológica del compuesto libre (no salino) y estas se pueden administrar como fármacos o productos farmacéuticos a un individuo. Dichas sales incluyen, por

ejemplo: (1) sales de adición de ácido, formadas con ácidos inorgánicos tales como ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido nítrico, ácido fosfórico y similares; o formadas con ácidos orgánicos tales como ácido acético, ácido oxálico, ácido propiónico, ácido succínico, ácido maleico, ácido tartárico y similares; (2) sales formadas cuando un protón ácido presente en el compuesto original se sustituye por un ion metálico, p. ej., un ion de metal alcalino, un ion alcalinotérreo o un ion de aluminio; o se coordinan con una base orgánica. Las bases orgánicas aceptables incluyen etanolamina, dietanolamina, trietanolamina y similares. Las bases inorgánicas aceptables incluyen hidróxido de aluminio, hidróxido de calcio, hidróxido de potasio, carbonato de sodio, hidróxido de sodio y similares. Ejemplos adicionales de sales farmacéuticamente aceptables incluyen las citadas en Berge et al., *Pharmaceutical Salts, J. Pharm. Sci.* 1977 Ene; 66 (1): 1-19. Las sales farmacéuticamente aceptables se pueden preparar in situ en el procedimiento de fabricación, o haciendo reaccionar por separado un compuesto purificado en su forma de ácido o base libre con una base o ácido orgánico o inorgánico adecuado, respectivamente, y aislando la sal así formada durante la purificación posterior. Debe entenderse que una referencia a una sal farmacéuticamente aceptable incluye las formas de adición de disolventes o sus formas cristalinas, en particular solvatos o polimorfos. Los solvatos contienen cantidades estequiométricas o no estequiométricas de un disolvente, y a menudo se forman durante el procedimiento de cristalización. Los hidratos se forman cuando el disolvente es agua, o los alcoholatos se forman cuando el disolvente es alcohol. Los polimorfos incluyen las diferentes disposiciones de empaquetamiento cristalino de la misma composición elemental de un compuesto. Los polimorfos normalmente tienen diferentes patrones de difracción de rayos X, espectros de infrarrojo, puntos de fusión, densidad, dureza, forma cristalina, propiedades ópticas y eléctricas, estabilidad y solubilidad. Varios factores, tales como el disolvente de recristalización, la velocidad de cristalización y la temperatura de almacenamiento pueden hacer que domine una sola forma cristalina.

2. Métodos terapéuticos

Además de las indicaciones del cáncer de mama descritas más adelante y las indicaciones terapéuticas descritas en las patentes de EE.UU. 7.709.517; US 2011/0003839; WO 2010/118354; WO 2011/044327; y WO 2010/099238, el compuesto se puede usar para tratar enfermedades o afecciones relacionadas con el receptor de andrógenos tales como hiperplasia prostática benigna, pérdida de cabello y acné. Este y compuestos relacionados también pueden ser útiles como moduladores de otros receptores nucleares, tales como receptor de glucocorticoides, receptor de estrógeno y receptor activado por proliferadores de peroxisomas, y como agentes terapéuticos para enfermedades en las que los receptores nucleares tienen una función, tales como el cáncer de mama, cáncer de ovario, diabetes, enfermedades cardíacas y enfermedades relacionadas con el metabolismo.

"Tratar" o "tratamiento" como se usa en la presente memoria es un procedimiento para obtener un resultado beneficioso o deseado, que incluye, pero no se limita a alivio de un síntoma, disminución de un síntoma y prevención de un empeoramiento de un síntoma asociado con la enfermedad tratada. El tratamiento también incluye, pero no se limita a uno o más de mejora del tiempo de supervivencia, mejora del tiempo de supervivencia sin progresión y reducción del tamaño tumoral.

i. Cáncer de mama triple negativo

El compuesto se puede usar para tratar diferentes formas de cáncer de mama, en particular el cáncer de mama triple negativo.

El cáncer de mama triple negativo incluye, pero no se limita a subtipos de cáncer de mama triple negativo tales como los subtipos tipo basal 1 (BL1), tipo basal 2 (BL2), inmunomodulador (IM), mesenquimal (M), tipo citoblastos mesenquimales (MSL) y luminal con receptor de andrógenos (LAR). El "cáncer de mama triple negativo", como se usa en la presente memoria, se caracteriza por la falta de receptor de estrógeno (ER), receptor de progesterona (PR) y falta de sobreexpresión o amplificación de Her2neu. Un tumor es negativo para la expresión de ER o PR si menos de 1% de las células analizadas son positivas para ER o PR, medido por inmunohistoquímica, y si el gen Her2 no se expresa (por ejemplo, la amplificación no se detecta por FISH). El cáncer de mama triple negativo se caracteriza clínicamente como más agresivo y menos sensible al tratamiento estándar y se asocia con un peor pronóstico general para el paciente. Se diagnostica con mayor frecuencia en mujeres más jóvenes y en mujeres con mutaciones BRCA1.

El cáncer de mama triple negativo es AR+; es decir, contiene células que expresan receptores de andrógenos detectables, detectados por inmunohistoquímica, unión a ligando u otros métodos conocidos en la técnica.

3. Composiciones farmacéuticas

El compuesto se puede formular en cualquier tipo de composición farmacéutica conocida en la técnica, que incluye, pero no se limita a comprimidos, pastillas para chupar, píldoras, cápsulas, jarabes, elixires, soluciones inyectables y similares.

Una composición farmacéutica incluye típicamente un excipiente o vehículo farmacéutica o farmacológicamente aceptable. Como se usa en la presente memoria, por "farmacéuticamente aceptable" o "farmacológicamente aceptable" se entiende un material que no es biológicamente o de otra manera indeseable, p.ej., el material se puede incorporar en una composición farmacéutica administrada a un paciente sin producir ningún efecto biológico

indeseable significativo o interactuar de una forma perjudicial con cualquiera de los otros componentes de la composición en la que está contenido. En algunas realizaciones, los vehículos o excipientes farmacéuticamente aceptables han cumplido con los estándares requeridos de ensayos toxicológicos y de fabricación y/o están incluidos en la Guía de ingredientes inactivos preparada por la Administración de Alimentos y Medicamentos de EE.UU.

5 El término "excipiente", como se usa en la presente memoria, significa una sustancia inerte o inactiva que se puede usar en la producción de un fármaco o producto farmacéutico, tal como un comprimido que contiene un compuesto como un principio activo. El término excipiente puede abarcar diferentes sustancias que incluyen, pero no se limitan a cualquier sustancia usada como aglutinante, disgregante, recubrimiento, auxiliar de compresión/encapsulación, crema o loción, lubricante, soluciones para administración parenteral, materiales para comprimidos masticables, edulcorante o saborizante, agente de suspensión/gelificación, o agente de granulación en húmedo. Los aglutinantes incluyen, p. ej., carbómeros, povidona, goma de xantano, etc.; los recubrimientos incluyen, p. ej., acetato ftalato de celulosa, etilcelulosa, goma gellan, maltodextrina, recubrimientos entéricos, etc.; los auxiliares de compresión/encapsulación incluyen, p. ej., carbonato de calcio, dextrosa, fructosa dc (dc = "directamente comprimible"), miel dc, lactosa (anhidra o monohidrato; opcionalmente en combinación con aspartamo, celulosa o celulosa microcristalina), almidón dc, sacarosa, etc.; los disgregantes incluyen, p. ej., croscarmelosa sódica, goma gellan, glicolato sódico de almidón, etc.; las cremas o lociones incluyen, p. ej., maltodextrina, carragenanos, etc.; los lubricantes incluyen, p. ej., estearato de magnesio, ácido esteárico, fumarato de estearilo y sodio, etc.; los materiales para comprimidos masticables incluyen, p. ej., dextrosa, fructosa dc, lactosa (monohidrato, opcionalmente en combinación con aspartamo o celulosa), etc.; los agentes de suspensión/gelificación incluyen, p. ej., carragenano, glicolato sódico de almidón, goma de xantano, etc.; los edulcorantes incluyen, p. ej., aspartamo, dextrosa, fructosa dc, sorbitol, sacarosa dc, etc.; y los agentes de granulación en húmedo incluyen, p. ej., carbonato de calcio, maltodextrina, celulosa microcristalina, etc.

Los comprimidos, pastillas para chupar, píldoras, cápsulas y similares también pueden contener lo siguiente: aglutinantes tales como goma de tragacanto, goma arábiga, almidón de maíz o gelatina; excipientes tales como fosfato dicálcico; un agente disgregante tal como almidón de maíz, almidón de patata, ácido alginico y similares; un lubricante tal como estearato de magnesio; y se puede añadir un agente edulcorante tal como sacarosa, fructosa, lactosa o aspartamo o un agente saborizante tal como menta, aceite de gaulteria o saborizante de cereza. Cuando la forma farmacéutica unitaria es una cápsula, puede contener, además de los materiales del tipo anterior, un vehículo líquido, tal como un aceite vegetal o un polietilenglicol. Pueden estar presentes varios otros materiales como recubrimientos o para modificar de otro modo la forma física de la forma farmacéutica unitaria sólida. Por ejemplo, los comprimidos, píldoras o cápsulas se pueden recubrir con gelatina, cera, laca o azúcar, y similares. Un jarabe o elixir puede contener el compuesto activo, sacarosa o fructosa como agente edulcorante, metil y propilparabenos como conservantes, un colorante y saborizante tal como el sabor de cereza o naranja. Por supuesto, cualquier material usado en la preparación de cualquier forma farmacéutica unitaria debe ser farmacéuticamente aceptable y sustancialmente no tóxico en las cantidades usadas. Además, un compuesto de diarilhidantoína se puede incorporar en preparaciones y dispositivos de liberación sostenida. Por ejemplo, un compuesto se puede incorporar en cápsulas de liberación retardada, comprimidos de liberación retardada y píldoras de liberación retardada.

Las formas farmacéuticas adecuadas para inyección o infusión pueden incluir soluciones o dispersiones acuosas estériles, o polvos estériles que comprenden un compuesto que están adaptados para la preparación extemporánea de soluciones o dispersiones estériles inyectables o infundibles, opcionalmente encapsulados en liposomas. La forma farmacéutica final típicamente es estéril, fluida y estable en las condiciones de fabricación y almacenamiento. El excipiente líquido o vehículo puede ser un disolvente o medio de dispersión líquido que comprende, por ejemplo, agua, etanol, un poliol (por ejemplo, glicerol, propilenglicol, polietilenglicoles líquidos y similares), aceites vegetales, ésteres de glicerilo no tóxicos y mezclas adecuadas de los mismos. La fluidez adecuada se puede mantener, por ejemplo, mediante la formación de liposomas, por el mantenimiento del tamaño de partículas requerido en el caso de dispersiones o por el uso de tensioactivos. La prevención de la acción de microorganismos se puede llevar a cabo mediante varios agentes antibacterianos y antifúngicos, por ejemplo, parabenos, clorobutanol, fenol, ácido sórbico, timerosal y similares. En muchos casos, se incluyen agentes isotónicos, por ejemplo, azúcares, tampones o cloruro sódico. La absorción prolongada de las composiciones inyectables se puede llevar a cabo usando en las composiciones agentes que retrasan la absorción, por ejemplo, monoestearato de aluminio y gelatina.

Las soluciones inyectables estériles se preparan incorporando un compuesto en la cantidad requerida en el disolvente adecuado con varios de los otros ingredientes citados antes, según se requiera, seguido de esterilización por filtración. En el caso de polvos estériles para la preparación de soluciones inyectables estériles, los métodos de preparación incluyen técnicas de secado al vacío y liofilización, que producen un polvo del principio activo más cualquier ingrediente deseado adicional presente en las soluciones previamente esterilizadas por filtración.

Los excipientes sólidos útiles incluyen sólidos finamente divididos tales como talco, arcilla, celulosa microcristalina, sílice, alúmina y similares. Otros excipientes sólidos incluyen nanopartículas o micropartículas poliméricas no tóxicas. Los excipientes líquidos útiles incluyen agua, alcoholes o glicoles o mezclas de agua/alcohol/glicol, en las cuales se puede disolver o dispersar un compuesto en niveles eficaces, opcionalmente con la ayuda de tensioactivos no tóxicos. Se pueden añadir adyuvantes tales como fragancias y agentes antimicrobianos adicionales para optimizar las propiedades para un uso dado. Las composiciones líquidas resultantes se pueden aplicar con

almohadillas absorbentes, usar para impregnar vendajes y otros apósitos, o pulverizar sobre la zona afectada usando pulverizadores de tipo bomba o aerosoles.

5 También se pueden usar espesantes tales como polímeros sintéticos, ácidos grasos, sales y ésteres de ácidos grasos, alcoholes grasos, celulosas modificadas o materiales minerales modificados con excipientes líquidos para formar pastas esparcibles, geles, pomadas, jabones y similares, para aplicar directamente a la piel del usuario.

Los ejemplos de composiciones dermatológicas útiles que se pueden usar para suministrar un compuesto a la piel son conocidos en la técnica; por ejemplo, véase Jacquet et al. (Patente de EE.UU. n° 4.608.392), Geria (Patente de EE.UU. n° 4.992.478), Smith et al. (Patente de EE.UU. n° 4.559.157) y Wortzman (Patente de EE.UU. n° 4.820.508).

10 En algunas realizaciones, la composición farmacéutica es una forma farmacéutica unitaria. Como se usa en la presente memoria, "forma farmacéutica unitaria" es una unidad físicamente discreta que contiene una cantidad predeterminada del principio activo.

4. Dosis

15 Como se usa en la presente memoria, la expresión "cantidad eficaz" significa dicha cantidad de un compuesto que en combinación con sus parámetros de eficacia y toxicidad, así como basándose en el conocimiento del técnico experto, debería ser eficaz en una forma terapéutica dada. Como se entiende en la técnica, una cantidad eficaz puede ser una o más dosis, es decir, puede ser necesaria una sola dosis o múltiples dosis para lograr el criterio de valoración del tratamiento deseado. Se puede considerar una cantidad eficaz en el contexto de la administración de uno o más agentes terapéuticos, y se puede considerar que un agente individual se da en una cantidad eficaz si, junto con uno o más de otros agentes, se puede lograr o se logra un resultado deseable o beneficioso. Las dosis adecuadas de cualquiera de los compuestos coadministrados se pueden disminuir opcionalmente debido a la acción combinada (p. ej., efectos aditivos o sinérgicos) de los compuestos.

20 Las dosis útiles de los compuestos se pueden determinar comparando su actividad in vitro y/o actividad in vivo en modelos animales. Los métodos para la extrapolación de dosis eficaces en ratones, y otros animales, a seres humanos son conocidos en la técnica; por ejemplo, véase la patente de EE.UU. n° 4.938.949. Por ejemplo, la concentración de un compuesto en una composición líquida, tal como una loción, puede ser de aproximadamente 0,1-25% en peso, o de aproximadamente 0,5-10% en peso. La concentración en una composición semisólida o sólida tal como un gel o un polvo puede ser aproximadamente 0,1-5% en peso, o aproximadamente 0,5-2,5% en peso.

25 La cantidad de un compuesto requerida para usar en el tratamiento variará no solo con la sal particular seleccionada, sino también con la vía de administración, la naturaleza de la afección que se está tratando y la edad y estado del paciente y, en último término, estará a discreción del médico o especialista clínico encargado.

30 Las dosis eficaces y las vías de administración de los compuestos son convencionales. La cantidad exacta (dosis eficaz) del agente variará de un sujeto a otro, dependiendo, por ejemplo, de la especie, edad, peso y estado general o clínico del sujeto, la gravedad o el mecanismo de cualquier trastorno que se esté tratando, el agente o vehículo particular usado, el método y la pauta posológica de la administración, y similares. Una dosis terapéuticamente eficaz se puede determinar de forma empírica, mediante procedimientos convencionales conocidos por los expertos en la técnica. Véase, p. ej., "The Pharmacological Basis of Therapeutics", Goodman and Gilman, eds., Macmillan Publishing Co., New York. Por ejemplo, se puede calcular inicialmente una dosis eficaz ya sea en ensayos de cultivo celular o en modelos animales adecuados. El modelo animal también se puede usar para determinar los intervalos de concentración adecuados y las vías de administración. Dicha información después se puede usar para determinar las dosis útiles y las vías de administración en seres humanos. También se puede seleccionar una dosis terapéutica por analogía con las dosis para agentes terapéuticos comparables.

35 El modo de administración particular y la pauta posológica lo seleccionará el médico encargado, teniendo en cuenta las características del caso (p. ej., el sujeto, la enfermedad, el estado de la enfermedad implicado, y si el tratamiento es profiláctico). El tratamiento puede implicar dosis diarias o múltiples dosis diarias del(los) compuesto(s) durante un período de algunos días a meses, o incluso años.

40 Sin embargo, en general, una dosis adecuada estará en el intervalo de aproximadamente 0,001 a aproximadamente 100 mg/kg. p. ej., de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 100 mg/kg de peso corporal por día, tal como por encima de aproximadamente 0,1 mg por kilogramo, o en un intervalo de aproximadamente 1 a aproximadamente 10 mg por kilogramo de peso corporal del receptor por día. Por ejemplo, una dosis adecuada puede ser de aproximadamente 1 mg/kg, 10 mg/kg o 50 mg/kg de peso corporal por día.

Un compuesto se administra convenientemente en una forma farmacéutica unitaria; por ejemplo, que contiene de 0,05 a 10000 mg, de 0,5 a 10000 mg, de 5 a 1000 mg, o aproximadamente 100 mg de principio activo por forma farmacéutica unitaria.

55 Se puede administrar un compuesto para alcanzar concentraciones plasmáticas máximas, por ejemplo, de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 75 μM , de aproximadamente 1 a 50 μM , de aproximadamente 2 a

aproximadamente 30 μM , o de aproximadamente 5 a aproximadamente 25 μM . Las concentraciones plasmáticas deseables de ejemplo incluyen al menos o no más de 0,25, 0,5, 1, 5, 10, 25, 50, 75, 100 o 200 μM . Por ejemplo, los niveles plasmáticos pueden ser de aproximadamente 1 a 100 micromolar o de aproximadamente 10 a aproximadamente 25 micromolar. Esto se puede lograr, por ejemplo, por inyección intravenosa de una solución de 0,05 a 5% del compuesto, opcionalmente en solución salina, o administración por vía oral como un bolo que contiene aproximadamente 1-100 mg del compuesto. Los niveles en sangre deseables se pueden mantener mediante infusión continua para proporcionar aproximadamente 0,00005-5 mg por kg de peso corporal por hora, por ejemplo, al menos o no más de 0,00005, 0,0005, 0,005, 0,05, 0,5 o 5 mg/kg/h. Alternativamente, dichos niveles se pueden obtener mediante infusiones intermitentes que contienen aproximadamente 0,0002-20 mg por kg de peso corporal, por ejemplo, al menos o no más de 0,0002, 0,002, 0,02, 0,2, 2, 20 o 50 mg de un compuesto por kg de peso corporal.

Un compuesto se puede presentar convenientemente en una dosis única o en dosis divididas administradas a intervalos adecuados, por ejemplo, como dos, tres, cuatro o más subdosis por día. La propia subdosis se puede dividir aún más, p. ej., en una serie de administraciones discretas espaciadas aproximadamente; tal como múltiples inhalaciones de un insuflador.

5. Métodos de administración

Un compuesto se puede administrar usando composiciones farmacéuticas que comprenden una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto y un excipiente o diluyente farmacéuticamente aceptable, en una variedad de formas adaptadas a la vía de administración elegida, por ejemplo, vía oral, nasal, intraperitoneal o parenteral, por vía intravenosa, intramuscular, tópica o subcutánea, o por inyección en el tejido.

Un compuesto se puede administrar de forma sistémica, p. ej., por vía oral, en combinación con un vehículo farmacéuticamente aceptable tal como un diluyente inerte o un excipiente comestible asimilable; o por inhalación o insuflación. Se puede encerrar en una cápsula de gelatina de cubierta dura o blanda, comprimir en un comprimido o se puede incorporar directamente en el alimento de la dieta de un paciente. Para la administración terapéutica oral, un compuesto se puede combinar con uno o más excipientes y usar en forma de un comprimido que se puede ingerir, un comprimido bucal, pastilla para chupar, cápsula, elixir, suspensión, jarabe, oblea y similares. Un compuesto se puede combinar con un excipiente en polvo inerte fino y ser inhalado o insuflado por el sujeto. En algunas realizaciones, dichas composiciones y preparaciones contienen al menos el 0,1% del compuesto. El porcentaje de las composiciones y preparaciones, por supuesto, puede variar y puede estar convenientemente entre aproximadamente 2% y aproximadamente 60% del peso de una forma farmacéutica unitaria dada. La cantidad del compuesto en dichas composiciones terapéuticamente útiles es tal que se obtendrá un nivel de dosificación eficaz.

Un compuesto también se puede administrar por vía intravenosa o intraperitoneal por infusión o inyección. Las soluciones de un compuesto se pueden preparar en agua, opcionalmente mezclada con un tensioactivo no tóxico. Las dispersiones también se pueden preparar en glicerol, polietilenglicoles líquidos, triacetina y sus mezclas y en aceites. En condiciones normales de almacenamiento y uso, estas preparaciones pueden contener un conservante para prevenir el crecimiento de microorganismos.

6. Terapias de combinación

En algunas realizaciones, se usan combinaciones de uno o más compuestos. Una "combinación" de compuestos incluye uno o más compuestos administrados sustancialmente de forma simultánea, sea o no en la misma composición farmacéutica, o de forma secuencial. Los compuestos pueden ser, aunque no es necesario, químicamente similares (p. ej., dos compuestos de diarilhidantoína; un compuesto de diarilhidantoína y una diariltiohidantoína, etc.).

En algunas realizaciones el compuesto se combina con otras terapias, tales como radiación interna o externa, cirugía y quimioterapias, que incluyen:

1. antraciclinas, tales como doxorubicina (p. ej., ADRIAMYCIN®, DOXIL®), incluyendo doxorubicina liposomal, epirubicina (p. ej., ELLENCE®), y daunorubicina (p. ej., CERUBIDINE®, DAUNOXOME®);
2. taxanos, tales como docetaxel (p. ej., TAXOTERE®), paclitaxel (p. ej., TAXOL®, ABRAXANE®), y paclitaxel unido a proteína (p. ej., ABRAXANE®);
3. moduladores del receptor de estrógeno, tales como tamoxifeno (p. ej., NOLVADEX®, SOLTAMOX®, ISTUBAL®, VALODEX®);
4. ciclofosfamida (p. ej., CYTOXAN®);
5. capecitabina (p. ej., XELODA®)
6. 5-fluorouracilo o 5 FU (p. ej., ADRUCIL®);
7. vinorelbina (p. ej., NAVELBINE®);

- 8. gemcitabina (p. ej., GEMZAR®);
- 9. trastuzumab (p. ej., HERCEPTIN®);
- 10. carboplatino (p. ej., PARAPLATIN®);
- 11. eribulina (p. ej., HALAVEN®);
- 5 12. ixabepilona (p. ej., IXEMPRA®);
- 13. metotrexato (p. ej., AMETHOPTERIN®, MEXATE®, FOLEX®);
- 14. mutamicina (p. ej., MITOMYCIN®);
- 15. mitoxantrona (p. ej., NOVANTRONE®);
- 16. tiotepa (p. ej., THIOPLEX®);
- 10 17. vincristina (p. ej., ONCOVIN®, VINCASAR PES®, VINCREX®);
- 18. inhibidores de aromataasa tales como anastrozol (p. ej., ARIMIDEX), exemestano (AROMASIN), y letrozol (FEMARA);
- 19. raloxifeno (p. ej., EVISTA®);
- 20. toremifeno (p. ej., FARESTON®);
- 15 21. fulvestrant (p. ej., FASLODEX®);
- 22. lapatinib (p. ej., TYKERB®); y
- 23. metformina.

El compuesto también se puede usar junto con combinaciones de terapias químicas, tales como:

- 1. doxorubicina y docetaxel (p. ej., "AT," ADRIAMYCIN® y TAXOTERE®);
- 20 2. doxorubicina y ciclofosfamida, con o sin paclitaxel o docetaxel (p. ej. "AC ± T", ADRIAMYCIN® y CYTOXAN®, con o sin TAXOL® o TAXOTERE®);
- 3. ciclofosfamida, metotrexato y fluorouracilo (p. ej., "CMF," CYTOXAN®, metotrexato, y fluorouracilo);
- 4. ciclofosfamida, epirubicina y fluorouracilo (p. ej., "CEF," CYTOXAN®, ELLENCE®, y fluorouracilo);
- 5. fluorouracilo, doxorubicina y ciclofosfamida (p. ej., "FAC," fluorouracilo, ADRIAMYCIN®, y CYTOXAN® o "CAF," CYTOXAN®, ADRIAMYCIN®, y fluorouracilo);
- 25 6. docetaxel, doxorubicina, y ciclofosfamida (p. ej., "TAC," TAXOTERE®, ADRIAMYCIN®, y CYTOXAN®); y
- 7. gemcitabina, epirubicina y paclitaxel (p. ej., "GET," GEMZAR®, ELLENCE®, y TAXOL®).

Otros agentes terapéuticos que se pueden combinar con el compuesto descrito en la presente memoria incluyen:

- 30 1. inhibidores de PI3K/mTOR, tales como everolimus (p. ej., AFINITOR®); temsirolimus (p. ej., TORISEL®); rapamicina (sirolimus; p. ej., RAPAMMUNE®); y radaforlimus;
- 2. inhibidores de EGFR, tales como trastuzumab; trastuzumab entansina (TDM1); pertuzumab (p. ej., PERJECTA™); gefinitib (p. ej., IRESSA®), neratinib (HK1-272); afatinib; erlotinib (p. ej., TARCERA®);
- 3. inhibidores de la angiogénesis, tales como bevacizumab (p. ej., AVASTIN®); ramucirumab; sunitinib (p. ej., SUTENT®); pazopanib (p. ej., VOTRIENT®); sorafenib (p. ej., NEXAVAR®); vandetanib (p. ej., CAPRELSA®); y cediranib (p. ej., RECENTIN®);
- 35 4. citotóxicos tales como vinflunina (p. ej., JAVLOR®); trabectedina (p. ej., YONDELIS®); y NKTR-102 (PEG-IRINOTECAN®);
- 5. vacunas, tales como NeuVax™ (péptido E75 derivado de HER2 combinado con el factor estimulador de colonias de granulocitos y macrófagos (GM-CSF) inmunoadyuvante;
- 40 6. inhibidores de quinasa Bcr-Abl, tales como imatinib (p. ej., GLEEVEC®); y dasatinib (p. ej., SPRYCEL®);

7. agentes dirigidos al hueso tales como denosumab (p. ej., PROLIA®, XGEVA®); y ácido zoledrónico (p. ej., ZOMETA®, RECLAST®);
8. análogos de GnRH, tales como goserelina (p. ej., Zoladex®); leuprolida (p. ej., LUPRON®); degarelix (p. ej., FIRMAGON®); nafarelina (p. ej., SYNAREL®);
- 5 9. antraciclinas, tales como idarubicina (p. ej., IDAMYCIN®); inparib; gefinitib (p. ej., IRESSA®); cetuximab (p. ej., ERBITUX®); irinotecán (ERBITUX®); acetato de megestrol (p. ej., MEGACE®);
10. inhibidores de PARP, tales como olaparib; veliparib; MK4827;
11. inhibidores de Akt, tales como hexadecilfosfolina (p. ej., MILTEFOSINE®); y
12. inhibidores de Her3, tales como U3-1287.

10 Nada en esta memoria descriptiva debe considerarse como limitante del alcance de esta descripción. Todos los ejemplos presentados son representativos y no limitantes. Las realizaciones descritas antes se pueden modificar o variar como apreciarán los expertos en la técnica a la luz de las enseñanzas anteriores. Por lo tanto, se entiende que, dentro del alcance de las reivindicaciones y sus equivalentes, las realizaciones descritas en la presente memoria se pueden practicar de otra forma que la descrita específicamente.

15 Ejemplo 1

RD162' bloquea la proliferación mediada por DHT en células MCF7

Las células MCF7 son células de cáncer de mama luminal usadas habitualmente que expresan niveles altos de ER y algo de AR. Las células MCF7 se sembraron en placa en medio sin rojo de fenol que contenía suero tratado con carbón vegetal. Al día siguiente, las células se trataron con vehículo solo (etanol, EtOH), dihidrotestosterona 10 nM (DHT), RD162' (RD162') 10 µM o una combinación de DHT + RD162'. Se llevó a cabo un ensayo de proliferación in vitro usando la sal de tetrazolio MTT en diferentes tiempos de medición. Los valores se normalizaron respecto a una placa sin tratar leída 24 horas después de la siembra en placa para tener en cuenta las diferencias en la densidad celular. Los resultados se muestran en FIG. 1. Estos experimentos demostraban que RD162' bloquea el crecimiento mediado por DHT de células MCF7.

25 Ejemplo 2

RD162' bloquea el crecimiento mediado por DHT en células BCK4

Las células BCK4 son células de cáncer de mama que expresan más AR que ER y responden mejor a los andrógenos que a los estrógenos. La proliferación de células BCK4 se ensayó como se ha descrito antes en presencia de DHT y en presencia de RD162' y DHT. Los resultados se muestran en la FIG. 2. Estos experimentos demostraban que RD162' bloquea el crecimiento mediado por DHT de células BCK4.

Ejemplo 3

RD162' bloquea el crecimiento mediado por estradiol en células MCF7

Células MCF7 se sembraron en placa en medio sin rojo de fenol que contenía suero tratado con carbón vegetal. Al día siguiente, las células se trataron con vehículo solo (EtOH), estradiol 10 nM (E2), RD162' 10 µM o una combinación de E2 y RD162'. Se realizó un ensayo de MTT en varios tiempos de medición. Los valores se normalizaron respecto a una placa sin tratar leída 24 horas después de la siembra en placa para tener en cuenta las diferencias en la densidad celular. Los resultados se muestran en FIG. 3. Este experimento demuestra que RD162' bloquea el crecimiento mediado por estradiol de células MCF7.

Ejemplo 4

40 RD162' bloquea la regulación por aumento mediada por E2 de la expresión del gen SDF-1 y del receptor de progesterona

Se ensayó la expresión de SDF-1, un gen implicado en la proliferación mediada por estrógenos, y el gen del receptor de progesterona (un gen regulado por estrógenos conocido y marcador de la actividad de ERα, en presencia o ausencia de estradiol (E2). RD162' bloquea la regulación por aumento mediada por E2 de estos genes regulados por E2/ER, lo que indica que RD162' modula la actividad de ERα, como se muestra en FIG. 4.

Ejemplo 5

Estudios in vivo que demuestran que RD162' inhibe el crecimiento mediado por DHT en células MCF7 desarrolladas en las glándulas mamarias de ratones nod-scid.

Células MCF7 (1×10^6 células) modificadas genéticamente para expresar la luciferasa, se mezclaron con 100 μ l de matrigel y se inyectaron en la almohadilla de grasa mamaria de ratones nod/scid ovariectomizados de 6-8 semanas de edad. Se implantaron dos tumores por ratón, uno en cada lado. Los ratones tenían un pellet de DHT implantado por vía subcutánea en el momento de la inyección de células tumorales. La carga tumoral se midió mediante un calibre o mediante imágenes luminiscentes in vivo (IVIS) del cuerpo entero. El día 22, los ratones se emparejaron basándose en la carga tumoral medida por imágenes de IVIS y se separaron en dos grupos. Un grupo recibió una comida de control y el otro recibió comida que contenía RD162' 50 mg/kg. Los resultados se muestran en las FIGS. 5A-D. Las figuras 5A-B representan el crecimiento tumoral a lo largo del tiempo. Las FIGS. 5C-D muestran el tamaño tumoral individual al final del estudio.

10 Ejemplo 6

RD162' bloquea la proliferación de células de cáncer de mama triple negativo

Se preparó una transferencia Western de cuatro líneas celulares de cáncer de mama luminal (ER+, PR+) y cuatro triple negativo (ER-, PR-, Her2-) para el receptor de andrógenos, receptor de estrógeno y tubulina (como control de carga) (FIG. 6A). Tres de las cuatro líneas celulares triple negativo tienen una expresión fuerte de AR.

15 Se sembraron en placa células MDA468 y BT20 en medio sin rojo de fenol que contenía suero tratado con carbón vegetal. Al día siguiente, las células se trataron con vehículo solo (EtOH), dihidrotestosterona 10 nM (DHT), RD162' 10 μ M o una combinación de DHT y RD162'. Se llevó a cabo un ensayo de MTT en varios tiempos de medición. Los valores se normalizaron respecto a una placa sin tratar leída 24 horas después de la siembra en placa para tener en cuenta las diferencias en la densidad celular. Los resultados se muestran en las FIGS. 6B-C. Este experimento
20 demuestra que RD162' bloquea el crecimiento de células de cáncer de mama triple negativo.

Ejemplo 7

RD162' inhibe la proliferación inducida por DHT en células de cáncer de mama apocrino (AR +, ER-, HER2 +, PR-) e inhibe el crecimiento in vivo de estas células en un modelo de xenoinjerto en glándulas mamarias de ratones NOD SCID.

25 El efecto de RD162' en la proliferación inducida por DHT de células de cáncer de mama apocrino se evaluó en células MDA-MB-453, que son AR+, ER-, HER2+ y PR-, usando un ensayo de proliferación in vitro colorimétrico que usa la sal de tetrazolio MTS ("ensayo de MTS") y un ensayo de luciferasa. Los resultados del ensayo de MTS se muestran en FIG. 7A. Estos resultados indican que RD162' 10 μ M inhibe la proliferación inducida por DHT 10 nM.

30 Un ensayo de luciferasa llevado a cabo con células MDA-kb2, que se obtuvieron de células MDA-MB-453 pero que contienen un indicador de luciferasa dependiente de andrógenos, demostró que RD162' inhibe la proliferación inducida por DHT de una manera dependiente de la dosis. Los resultados se muestran en la FIG 7B. Las barras de error reflejan el EEM de experimentos independientes y * indica $P < 0,05$, ** indica $P < 0,01$, *** indica $P < 0,001$ (ANOVA con la corrección de Bonferroni para pruebas de comparaciones múltiples).

35 Se llevaron a cabo ensayos inmunocitoquímicos en células MDA-kb2 usando un anticuerpo contra AR. Las células se trataron durante 3 horas con vehículo (Vh), DHT 1 nM, RD162' 10 μ M o RD162' y DHT 10 μ M. La gráfica mostrada en la FIG. 7C presenta la relación de AR nuclear a total para todas las células medidas. Los resultados demuestran que RD162' inhibe la translocación nuclear de AR inducida por DHT.

40 Se investigó el crecimiento in vivo de células de cáncer de mama apocrino en un modelo de xenoinjerto en glándulas mamarias de ratones NOD SCID. Se inyectaron células MDA-MB-453 (6×10^6) en la 4ª almohadilla de grasa mamaria inguinal de ratones hembra NOD-SCID-IL2Rgc -/-. Se implantó un pellet de DHT de liberación durante 60 días por vía subcutánea en 3 grupos de ratones en el momento de la inyección de células. El tamaño del tumor se midió usando calibres y una vez que los tumores alcanzaban 100 mm³, los ratones empezaban a recibir 10 mg/kg/d de RD162', 25 mg/kg/d de RD162' o vehículo por sonda oral.

45 Los resultados se muestran en FIG. 7D y FIG. 7E. Los resultados demuestran que RD162' en cualquier dosis inhibía el crecimiento tumoral inducido por DHT (FIG. 7D). Los tumores se pesaron en la necropsia y ambas dosis de RD162' inhibían significativamente el crecimiento tumoral inducido por DHT (FIG. 7E). Las barras de error reflejan el EEM y * indica $P < 0,05$, *** indica $P < 0,001$ (Mann Whitney).

Ejemplo 8

RD162' inhibe el crecimiento de células de cáncer de mama triple negativo

50 Se sembraron en placa Hs578T, una línea celular de TNBC, en DMEM/F12 sin rojo de fenol que contenía DCC al 5% durante 2 días antes del tratamiento con control vehículo, RD162' (10 μ M), DHT (10 nM) y RD162' + DHT durante 9 días. Las células viables se analizaron por el ensayo de MTS. Los resultados se muestran en FIG. 8. Se muestran las medias de los puntos de datos por triplicado con la desviación estándar. ***p < 0,001 (prueba t bilateral). Obsérvese que el tratamiento con DHT no aumenta el crecimiento de las células Hs578T.

Ejemplo 9

RD162' junto con Herceptin inhiben el crecimiento de células de cáncer de mama Her2+

5 Se cultivó SKBR3, una línea celular de cáncer de mama Her2+, en DMEM + FBS al 1% en presencia de control vehículo, RD162' 10 μ M, Herceptin 20 μ g/ml y RD162' + Herceptin, respectivamente, durante 8 días antes de analizar las células viables con el ensayo de MTS. Los resultados se muestran en la FIG. 9. Se muestran las medias de los puntos de datos por triplicado con la desviación estándar. * $p < 0,05$ y *** $p < 0,001$ (prueba t bilateral).

Ejemplo 10

RD162' inhibe el crecimiento estimulado por andrógenos de tumores MDA-MB-453

10 Las células MDA-MB-453 se inyectaron de forma ortotópica en la glándula mamaria de ratones hembra NOD-SCID-IL2Rgc^{-/-}. Tres grupos tenían un pellet de DHT implantado por vía s.c. y un grupo no tenía pellet (vehículo). Una vez que los tumores alcanzaron 100 mm³, se administró a los ratones RD162' (10 mg/kg) o vehículo (grupos de vehículo y DHT) por sonda oral diariamente. Cuando los tumores alcanzaron 400 mm³, se administró a otro grupo una dosis más alta de RD162' (25 mg/kg) por sonda oral. Los resultados se muestran en las FIGS. 10A-D.

15 El volumen tumoral se midió semanalmente mediante calibre. Las barras de error representan EEM. * indica $P < 0,05$, ** indica $P < 0,01$ para DHT frente a DHT + RD162' (10 mg/kg), suma de rangos de Wilcoxon (FIG. 10A). No había diferencias significativas en ningún tiempo de medición para DHT frente a DHT + RD162' (25 mg/kg). Los tumores se extirparon y se pesaron al final del experimento (FIG. 10B). Las secciones de tumor teñidas para determinar la caspasa 3 escindida se cuantificaron y las imágenes representativas se muestran a continuación (aumento de 200X). Para pesos tumorales y tinción de caspasa 3 escindida, * indica $P < 0,05$, ** indica $P < 0,01$, *** indica $P < 0,001$, ANOVA con la corrección de Bonferroni para pruebas de comparaciones múltiples (FIG. 10C). La tinción de AR nuclear se cuantificó y las imágenes representativas (aumento de 400X) se muestran a continuación. * indica $P < 0,05$, *** indica $P < 0,001$, Kruskal-Wallis con la corrección de Dunn para pruebas de comparaciones múltiples (FIG. 10D).

20

Ejemplo 11

25 RD162' es tan efectivo como el tamoxifeno para inhibir el crecimiento tumoral estimulado por estrógenos.

Células MCF7-TGL que expresan de forma estable luciferasa se implantaron de forma ortotópica en la glándula mamaria de ratones atímicos hembra ovariectomizados. Todos los ratones tenían un pellet de E2 implantado por vía s.c. y se les administró comida de control (E2), comida de control más un pellet de tamoxifeno implantado por vía s.c. (E2 + tam) o comida que contenía RD162' 50 mg/kg (E2 + RD162'). El inicio del tratamiento está indicado por una flecha. La carga tumoral se midió por la luminiscencia de todo el cuerpo. Los resultados se muestran en las FIGS. 11A-D. Se muestra el flujo total medio de todos los ratones en cada uno de los grupos de tratamiento. Los ratones se emparejaron el día -3 y el tratamiento comenzó el día 0. * indica $P < 0,05$, ANOVA con la corrección de Bonferroni para pruebas de comparaciones múltiples (FIG. 11A). El flujo luminiscente total se muestra para todos los ratones individuales el día del emparejamiento (día -3) y el día final de obtención de imágenes (día 11). * indica $P < 0,05$, ANOVA con la corrección de Bonferroni para pruebas de comparaciones múltiples (FIG. 11B). Se muestran imágenes de señal luminiscente en los dos grupos de tratamiento el día del emparejamiento (día -2) y el día final de obtención de imágenes (día 11) (FIG. 11C). Se inyectó a los ratones BrdU dos horas antes del sacrificio. Se llevó a cabo la inmunohistoquímica para BrdU en secciones de tumores y se cuantificó usando la imagen J. Se muestran imágenes representativas de la tinción de BrdU (izquierda, aumento de 400X) y la cuantificación (derecha). ** indica $P < 0,01$ para E2 frente a E2 + Tamoxifeno, *** indica $P < 0,001$ para E2 frente a E2 + RD162', ANOVA con la corrección de Bonferroni para pruebas de comparaciones múltiples (FIG. 11D).

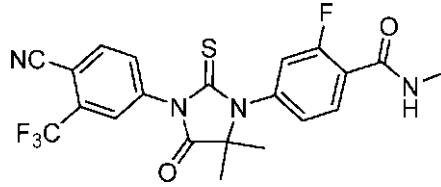
30

35

40

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto o una de sus sales farmacéuticamente aceptables para usar en el tratamiento del cáncer de mama triple negativo, en donde el compuesto es enzalutamida:



- 5 en donde las células del cáncer de mama triple negativo expresan un receptor de andrógenos.
2. El compuesto o sal para usar de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el cáncer de mama triple negativo es un subtipo seleccionado del grupo que consiste en los subtipos tipo basal 1 (BL1), tipo basal 2 (BL2), inmunomodulador (IM), mesenquimal (M), tipo citoblastos mesenquimales (MSL) y luminal con receptor de andrógeno (LAR).
- 10 3. El compuesto o sal para usar según la reivindicación 1, en donde las células del cáncer de mama triple negativo comprenden una mutación *BRCA1*.
4. El compuesto o sal para usar según la reivindicación 1, en donde el compuesto o sal es para usar en combinación con quimioterapias u otros agentes terapéuticos, tales como inhibidores de PI3K/mTOR, inhibidores del EGFR, inhibidores de la angiogénesis, citotóxicos, vacunas, inhibidores de la quinasa Bcr-Abl, agentes dirigidos al hueso, análogos de GnRH, antraciclinas, inhibidores de PARP, inhibidores de Akt o inhibidores de Her3.
- 15

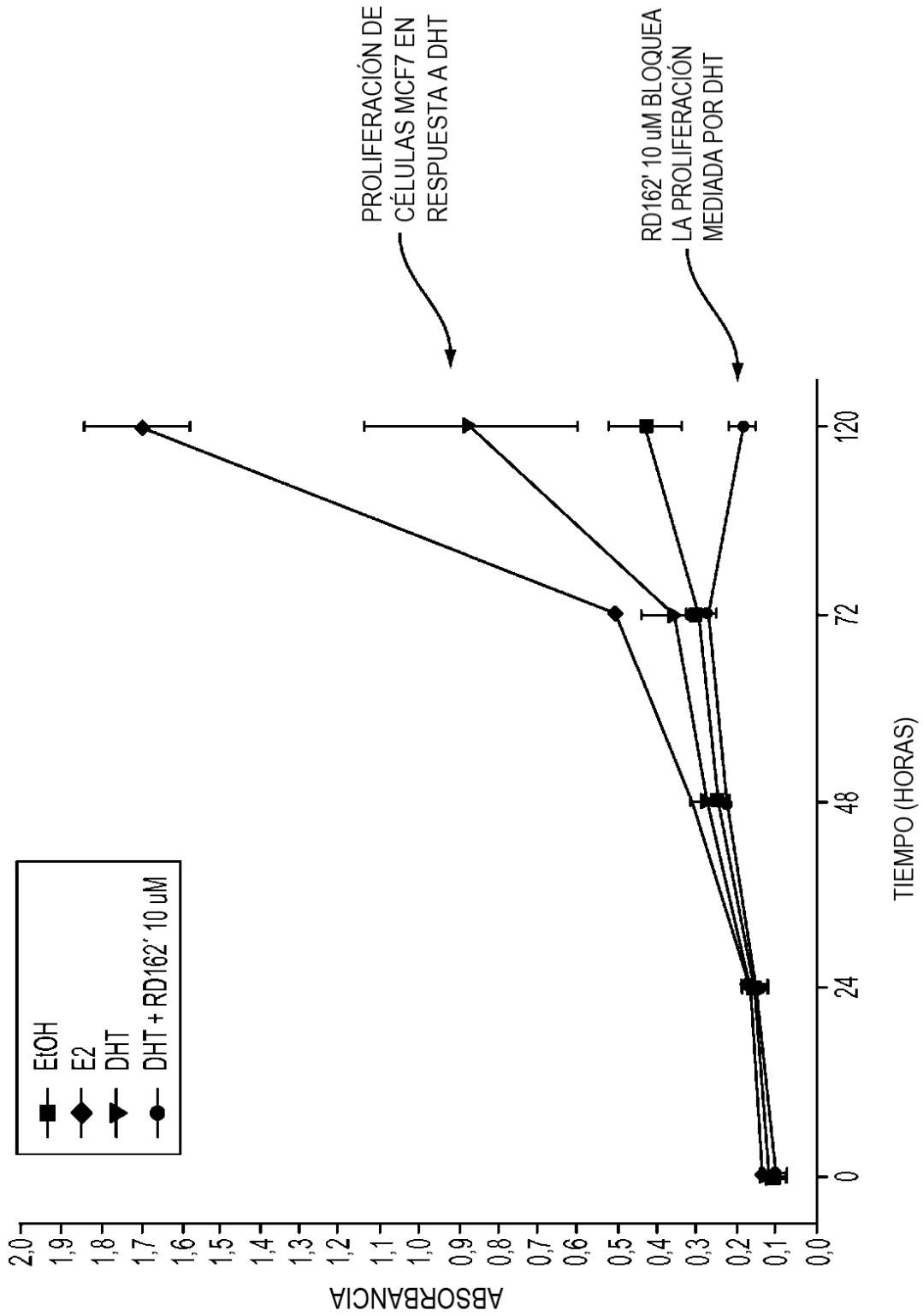


FIG. 1

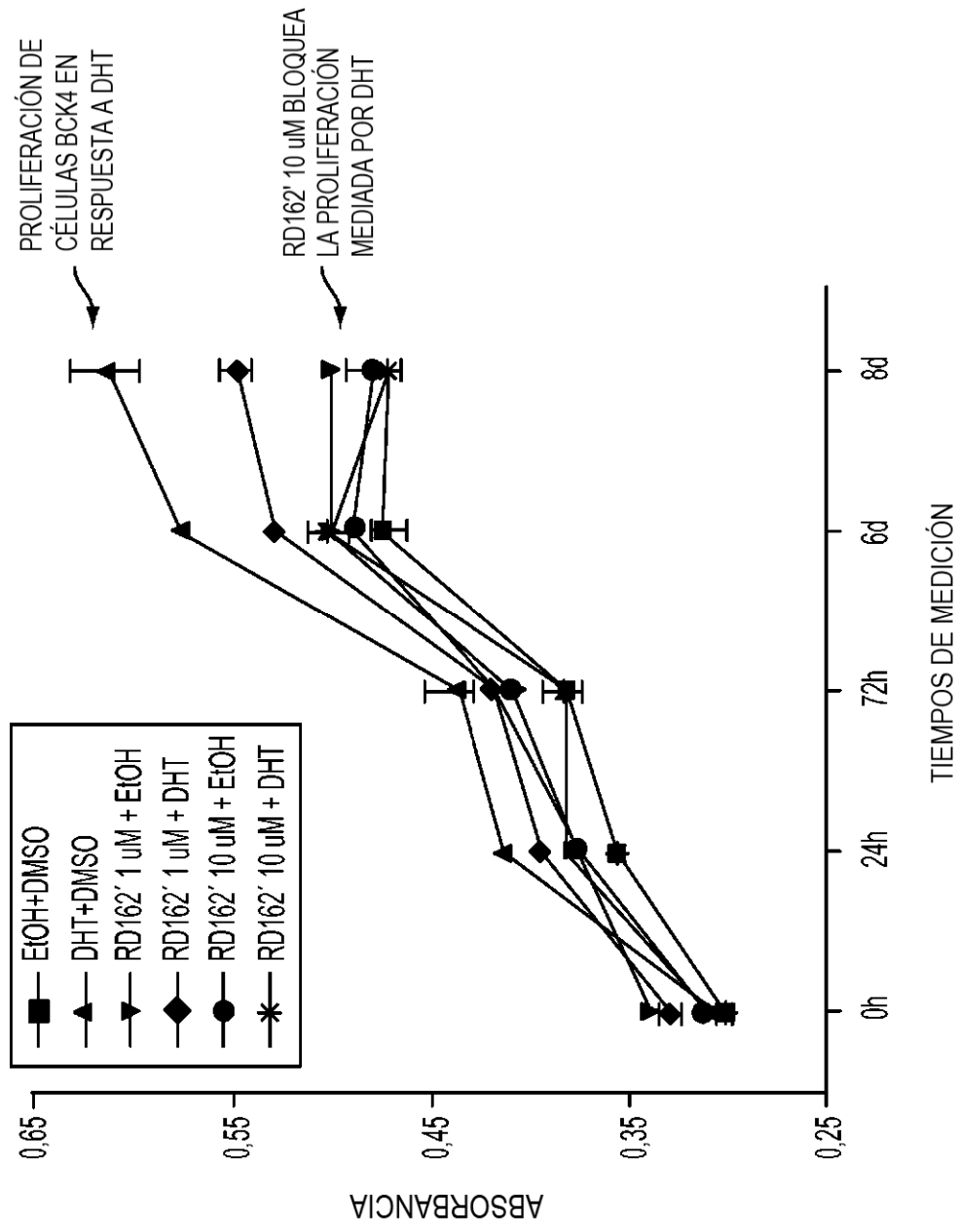


FIG. 2

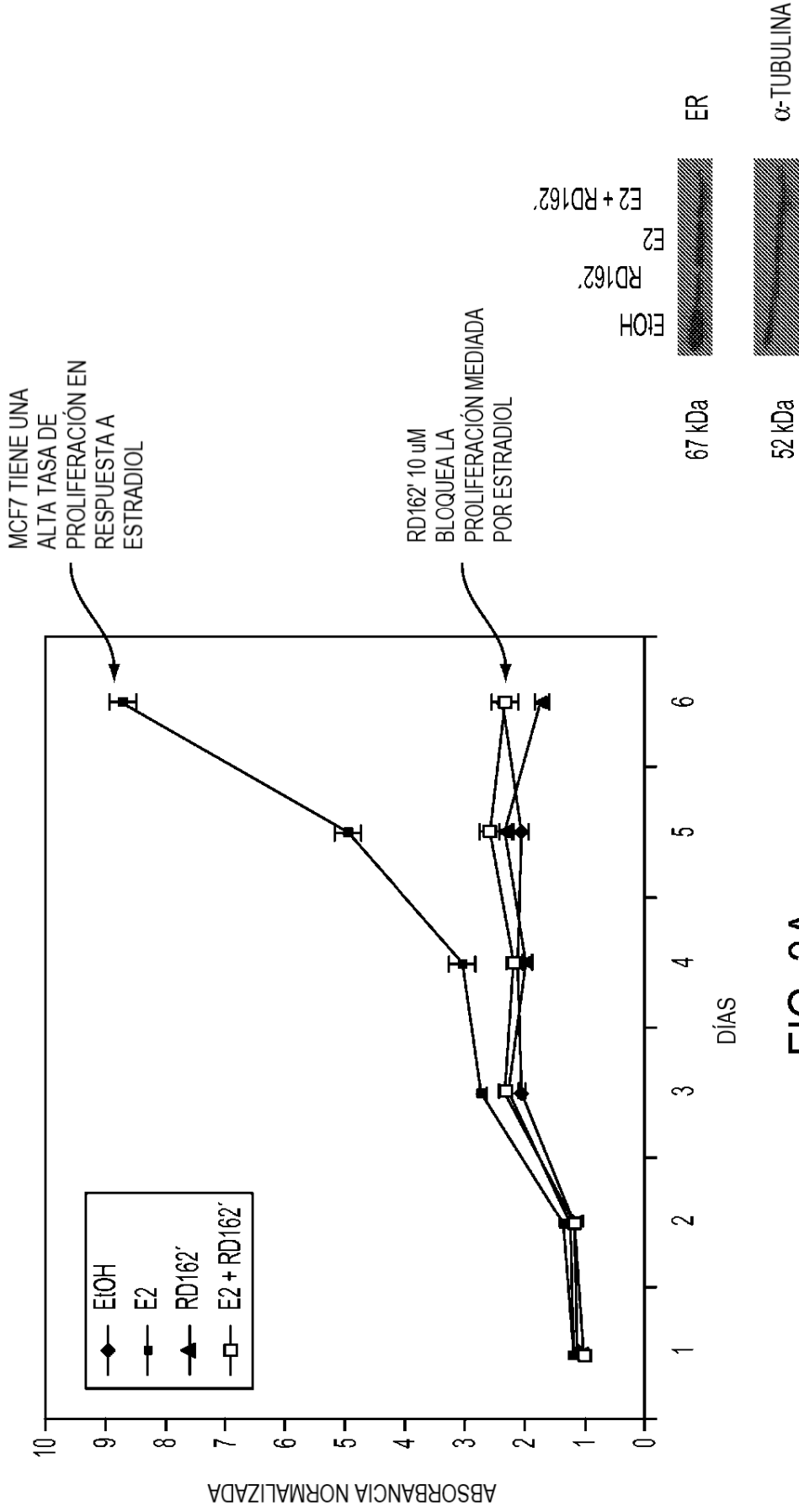
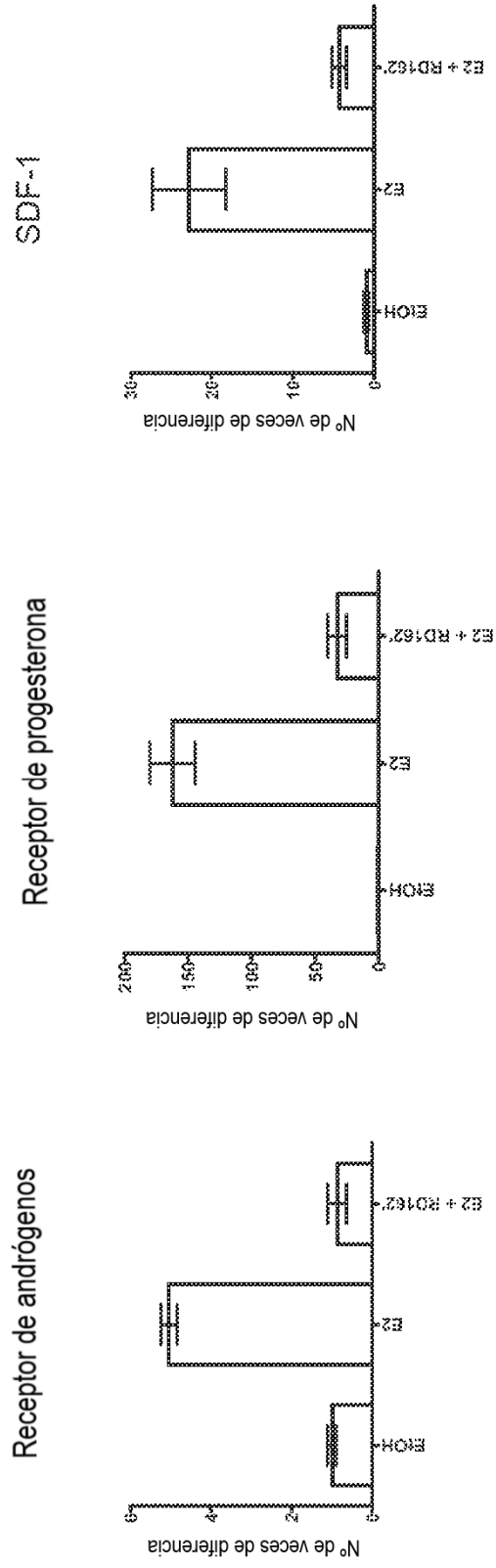
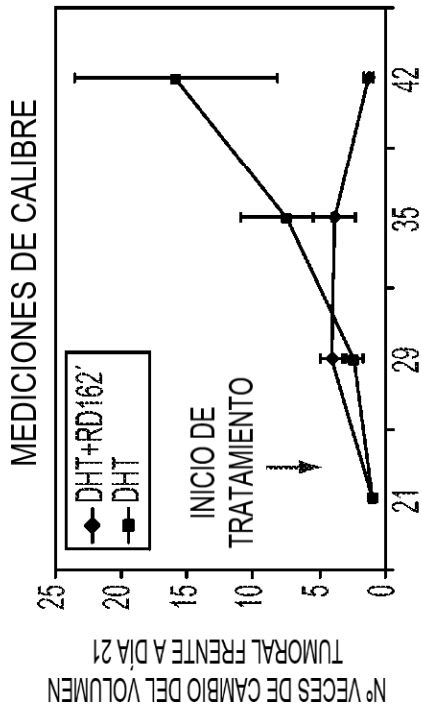


FIG. 3A

FIG. 3B

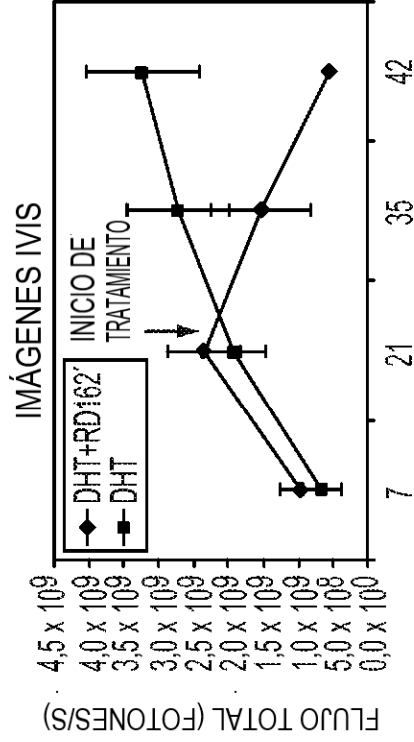
FIG. 4





DÍA DESPUÉS DE INYECCIÓN DE CÉLULAS TUMORALES

FIG. 5A



DÍA DESPUÉS DE INYECCIÓN DE CÉLULAS TUMORALES

FIG. 5B

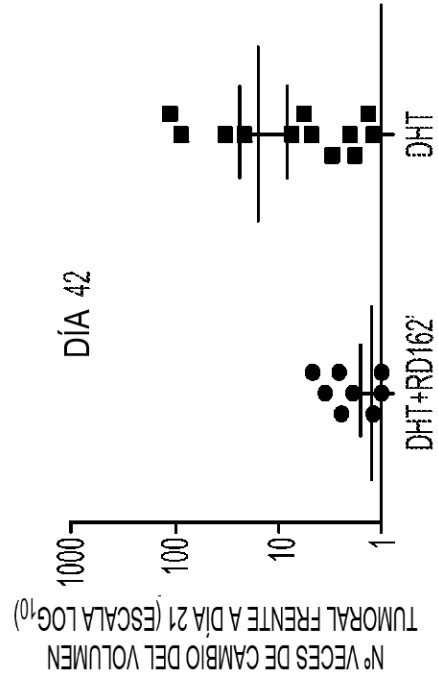


FIG. 5C

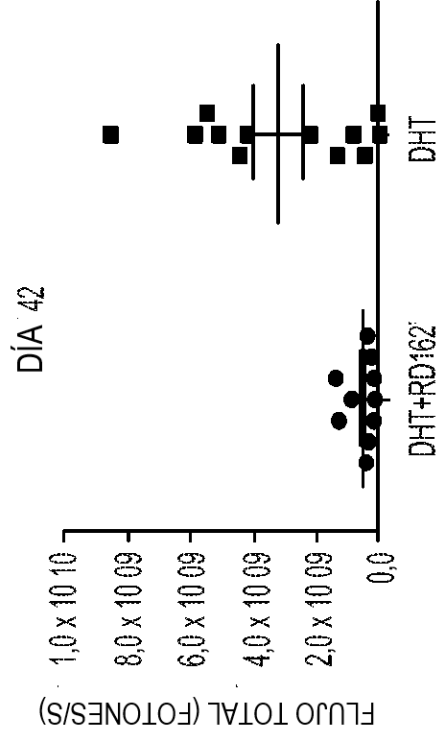


FIG. 5D

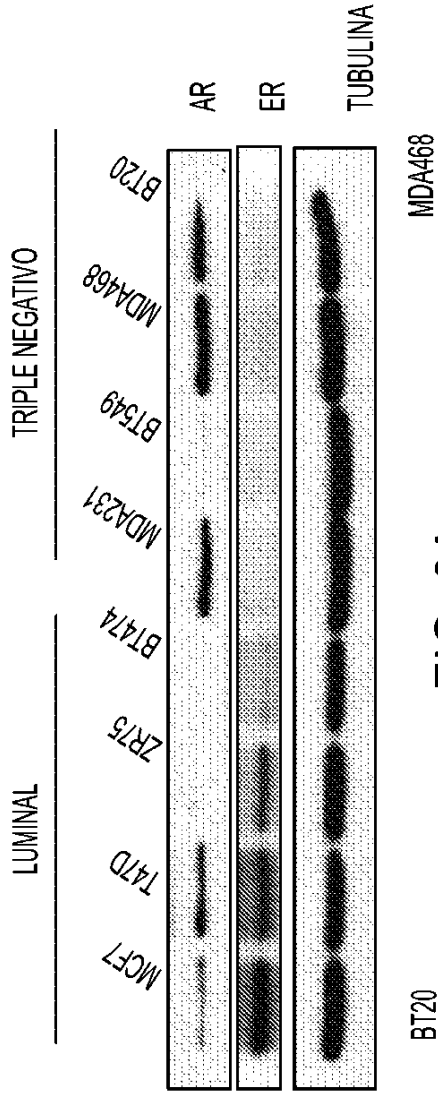


FIG. 6A

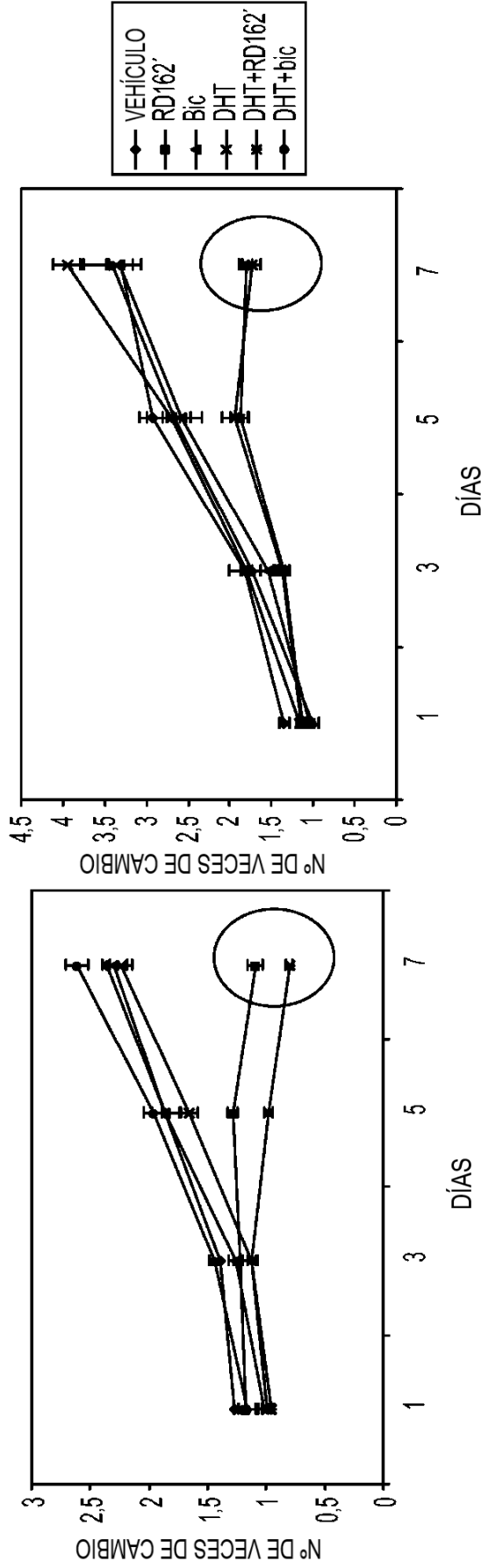


FIG. 6B

FIG. 6C

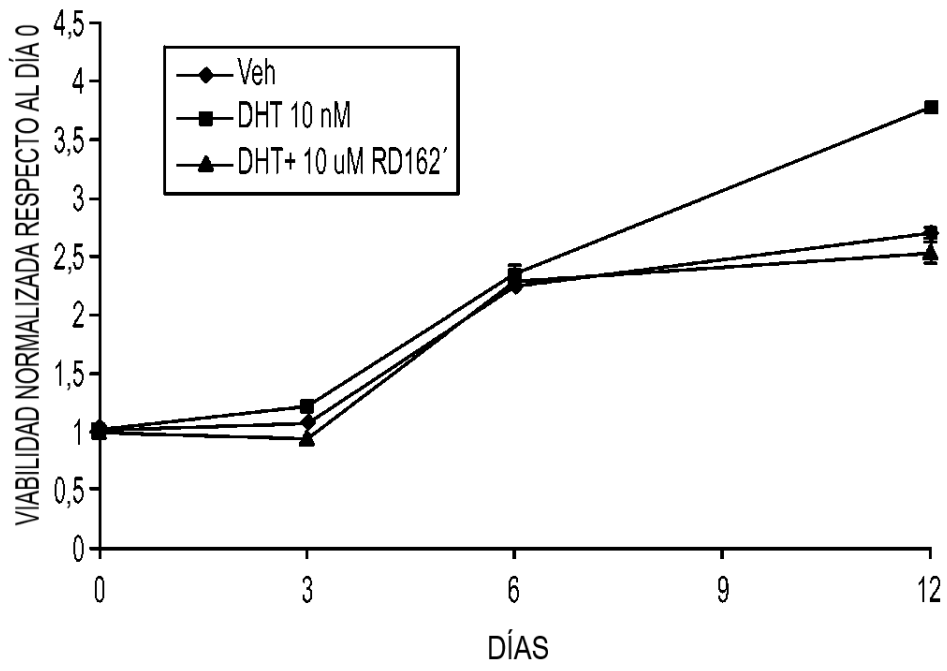


FIG. 7A

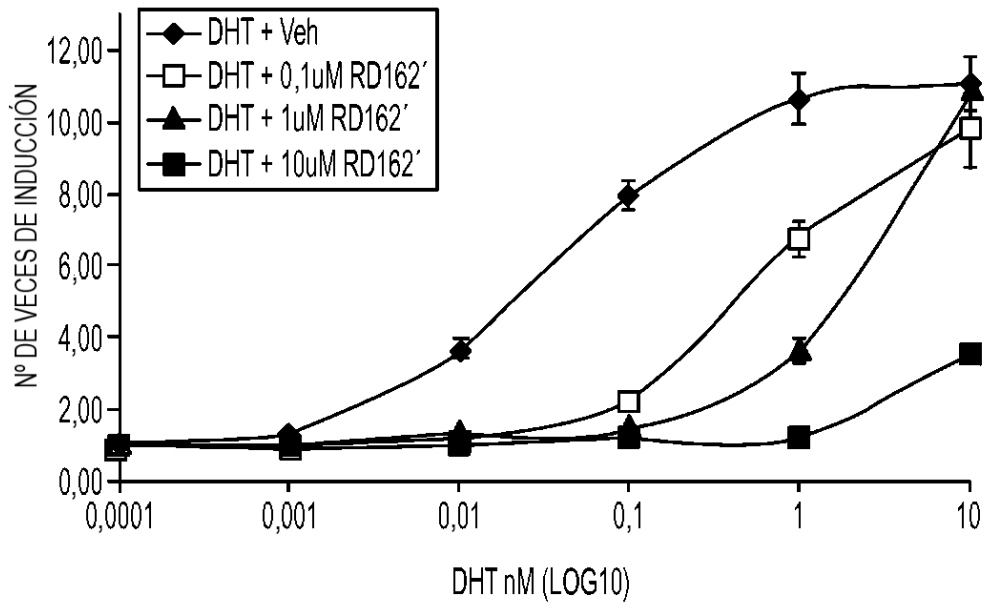
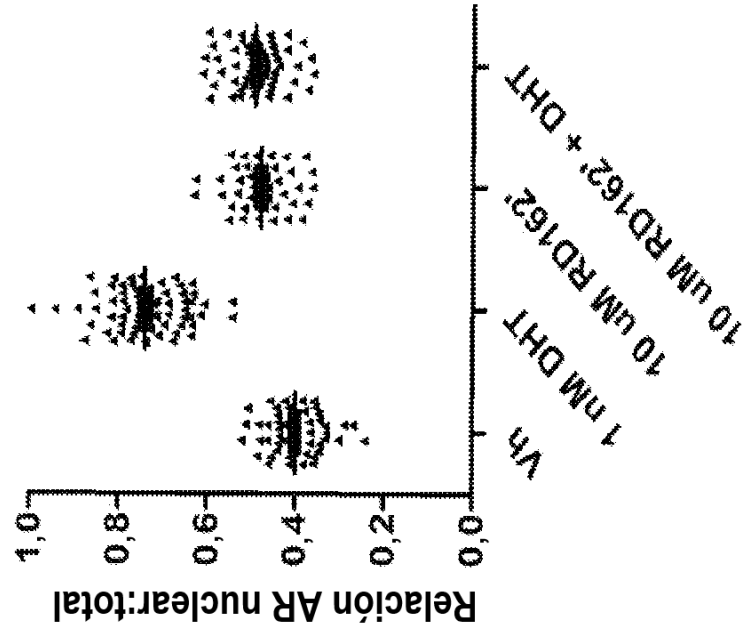


FIG. 7B

FIGURA 7C



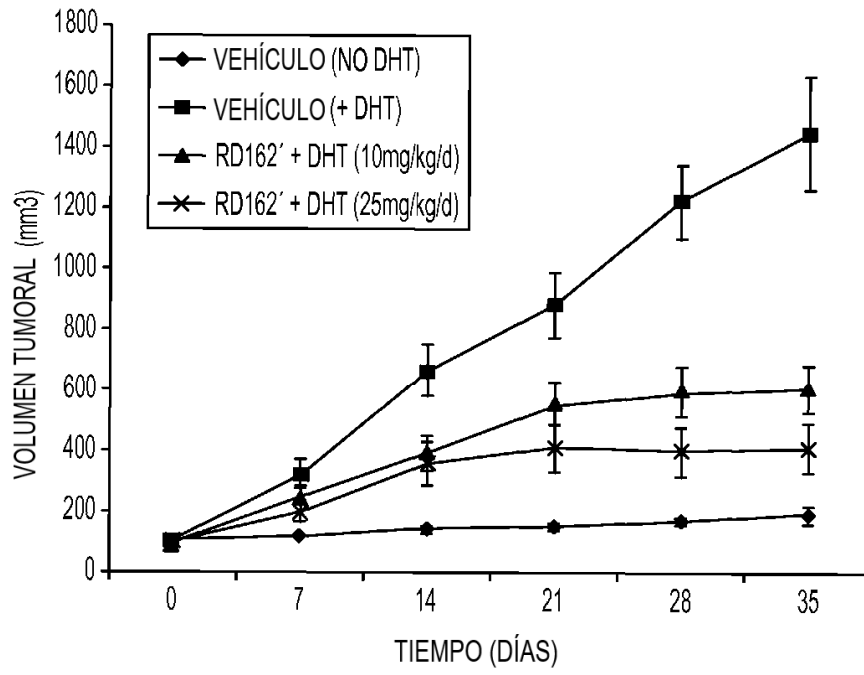


FIG. 7D

FIG. 7E

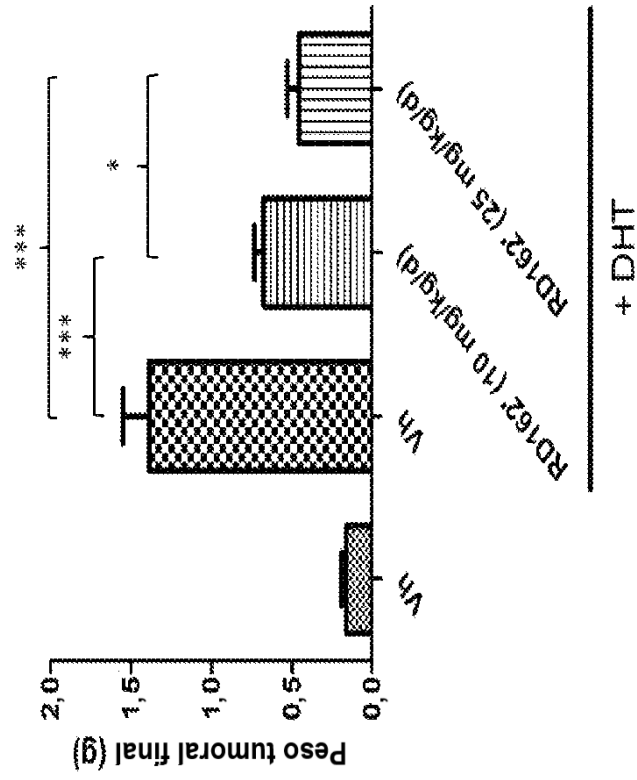
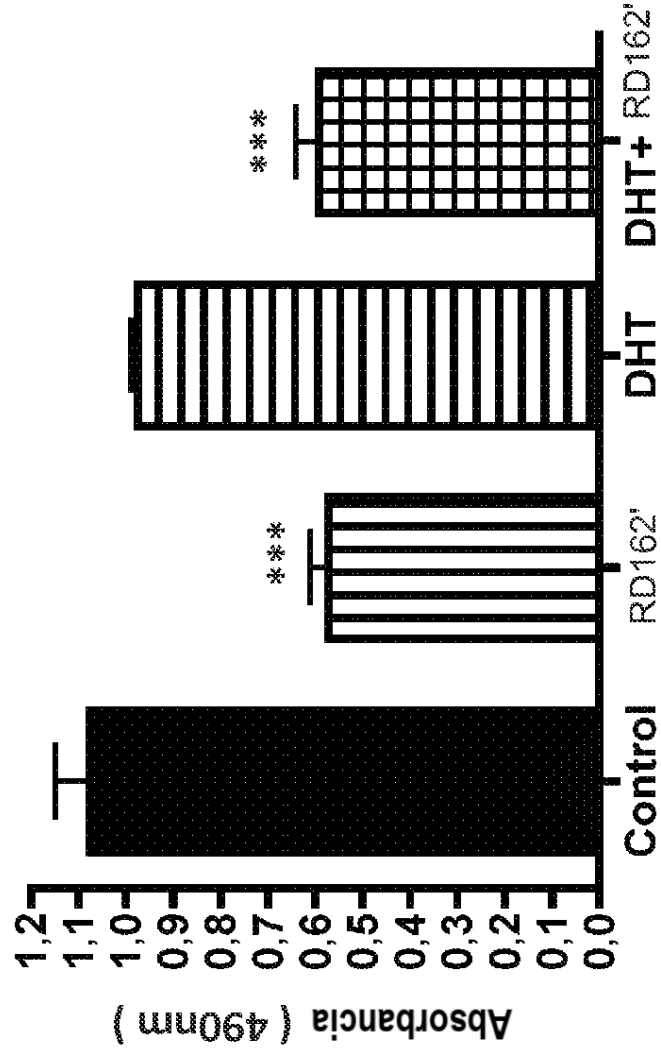
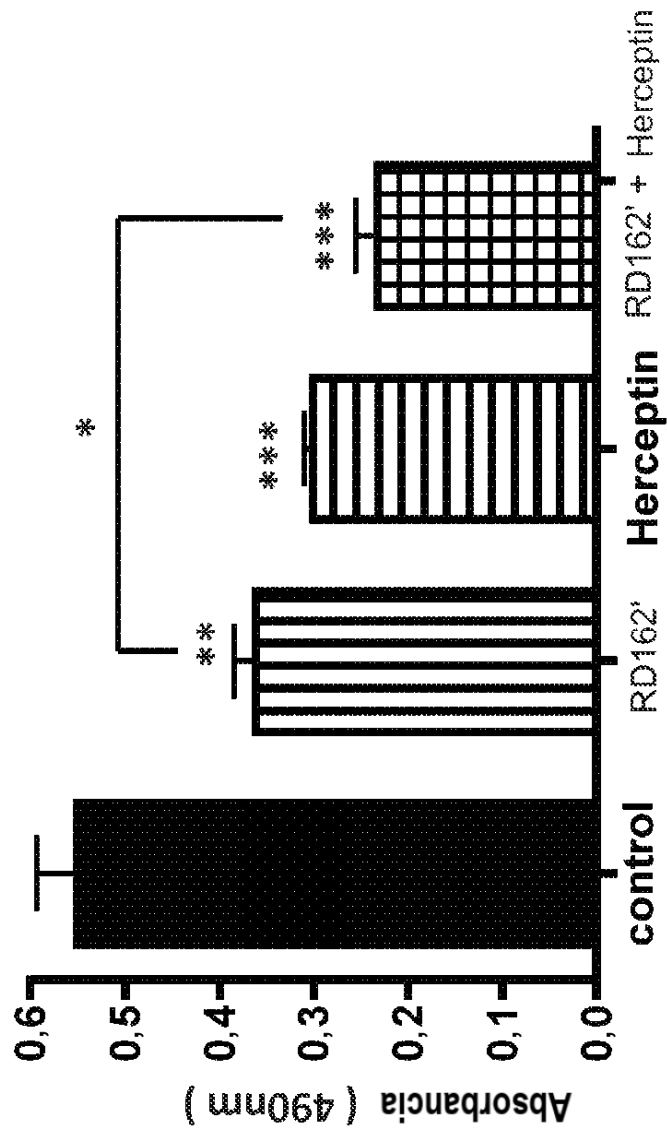


FIG. 8



1500 células/pocillo, DCC al 5% en DMEM/F12 durante 9 días

FIG. 9



FBS al 1% en DMEM durante 8 días

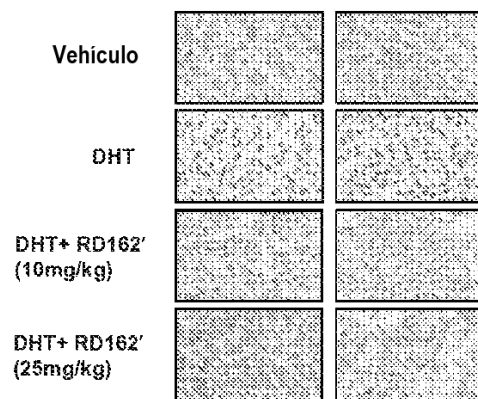
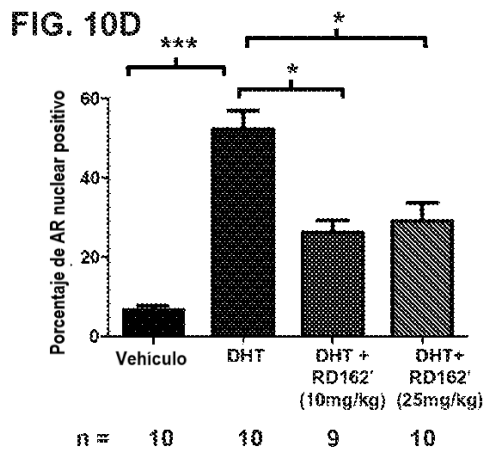
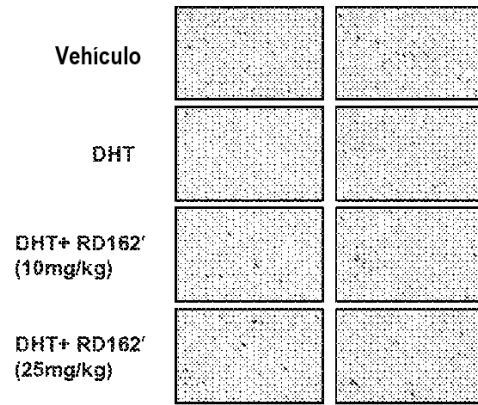
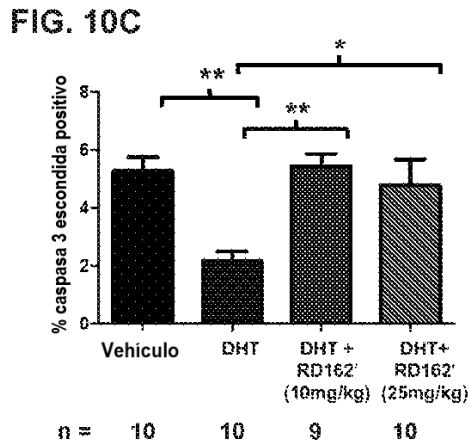
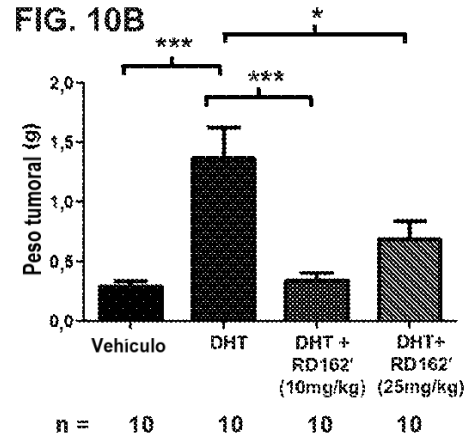
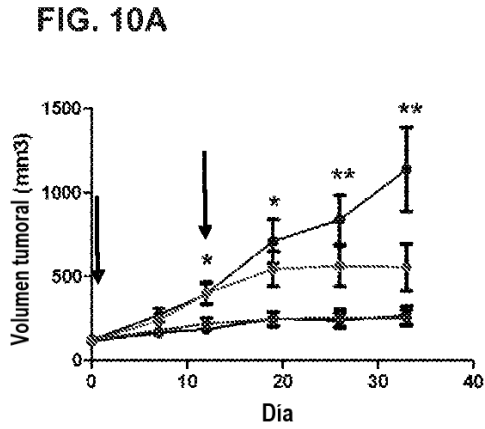


Figura 10

FIG. 11A

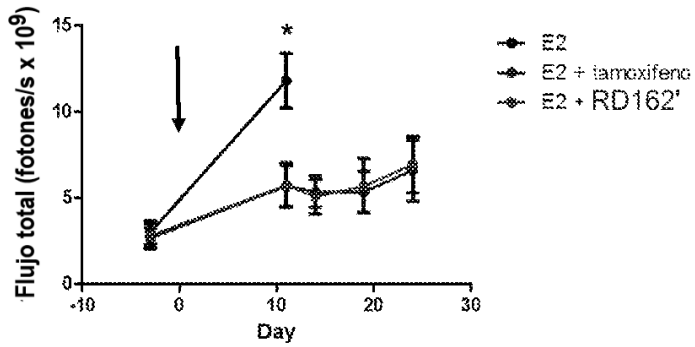


FIG. 11B

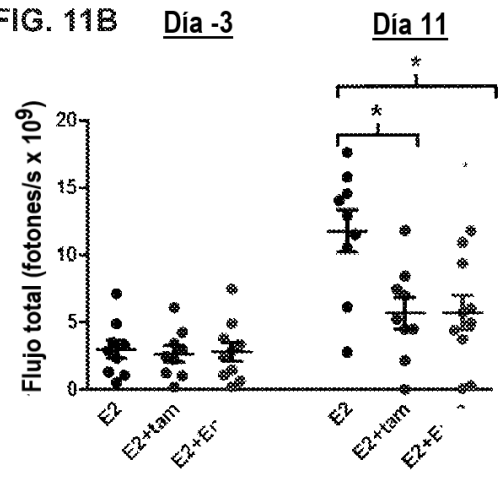


FIG. 11C

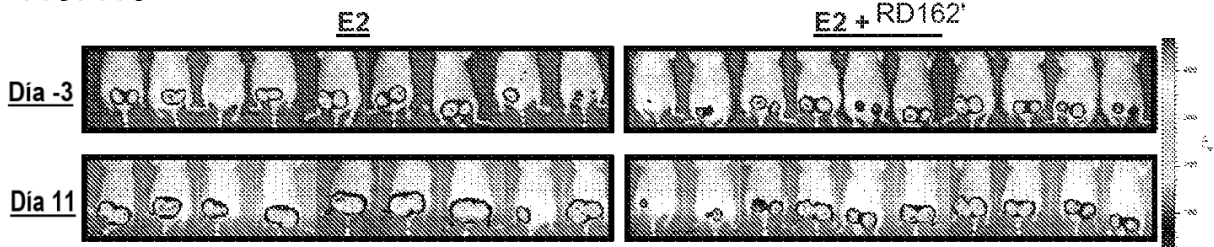


FIG. 11D

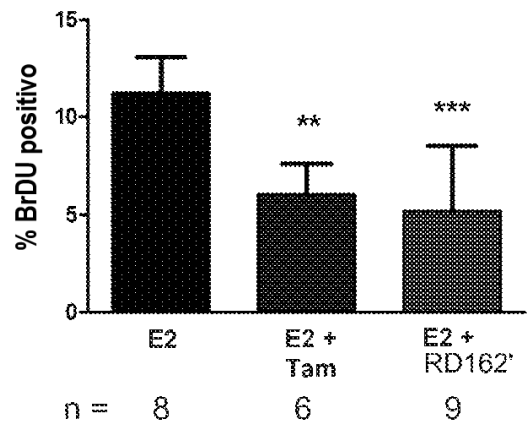


Figura 11