

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 377 526**

51 Int. Cl.:
A61K 31/496 (2006.01)
A61P 3/00 (2006.01)
A61P 3/04 (2006.01)
A61P 3/06 (2006.01)
A61P 3/10 (2006.01)
A61P 9/10 (2006.01)
A61P 13/12 (2006.01)
A61P 25/28 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 96 Número de solicitud europea: **06701304 .5**
96 Fecha de presentación: **10.01.2006**
97 Número de publicación de la solicitud: **1853266**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **14.11.2007**

54 Título: **2S,4R ketoconazol para el tratamiento de la diabetes, el síndrome metabólico y otras afecciones**

30 Prioridad:
10.01.2005 US 643055 P

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
28.03.2012

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
28.03.2012

73 Titular/es:
Cortendo AB (publ)
Box 47
433 21 Partille , SE

72 Inventor/es:
MÄRIN, Per

74 Agente/Representante:
Arias Sanz, Juan

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).

ES 2 377 526 T3

DESCRIPCIÓN

2S,4R ketoconazol para el tratamiento de la diabetes, el síndrome metabólico y otras afecciones

5 CAMPO DE LA INVENCION

La presente invención se refiere a una composición farmacéutica para usar en el tratamiento de la diabetes y otras afecciones, incluyendo la diabetes mellitus de tipo 2, síndrome metabólico, resistencia a la insulina, obesidad, trastornos lipídicos, y otras afecciones que se pueden tratar reduciendo la síntesis de cortisol, incluyendo el

10 síndrome de Cushing, el glaucoma y la depresión. Por lo tanto, la invención se refiere a los campos de la química, biología, farmacología y medicina.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

15 El ketoconazol, 1-acetil-4-[4-[[2-(2,4-diclorofenil)-2-[(1H-imidazol-1-il)-metil]-1,3-dioxolan-4-il]metoxi]fenil]piperazina, es una mezcla racémica de los enantiómeros cis (-)-(2S,4R) y (+)-(2R,4S), comercializada como un agente antifúngico. El ketoconazol inhibe el crecimiento fúngico por la inhibición de la síntesis del ergosterol. El ergosterol es un componente clave de las paredes celulares fúngicas.

20 Más recientemente, se ha encontrado que el ketoconazol disminuye el cortisol plasmático y es útil, solo o combinado con otros agentes, en el tratamiento de una variedad de enfermedades y afecciones, incluyendo la diabetes de tipo 2, síndrome metabólico (conocido también como síndrome de resistencia a la insulina, síndrome dismetabólico o síndrome X), y otras afecciones médicas que están asociadas con niveles elevados de cortisol. Véase las patentes de EE.UU. nº 5.584.790; 6.166.017; y 6.642.236, cada una de las cuales se incorpora en el presente documento por

25 referencia. El cortisol es una hormona relacionada con el estrés secretada de la corteza de las glándulas suprarrenales. La ACTH (hormona adrenocorticotrófica) aumenta la secreción de cortisol. La ACTH es secretada por la hipófisis, un proceso activado por la secreción de la hormona liberadora de corticotropina (CRH) del hipotálamo.

30 El cortisol circula en el torrente sanguíneo y activa receptores intracelulares específicos, tales como el receptor de glucocorticoides (GR). Se ha mostrado que las alteraciones en los niveles de cortisol, las tasas de síntesis o la actividad, están asociadas con numerosas complicaciones metabólicas, que incluyen la resistencia a la insulina, obesidad, diabetes y síndrome metabólico. Además, estas anomalías metabólicas están asociadas con un riesgo sustancialmente mayor de enfermedad cardiovascular, una causa principal de muerte en los países industrializados.

35 Véase, Mårin P. y col., "Cortisol secretion in relation to body fat distribution in obese premenopausal women". *Metabolism*. 1992; 41:882-886, Bjorntorp, "Neuroendocrine perturbations as a cause of insulin resistance". *Diabetes Metab. Res.* 1999; 15(6): 427-41, y Rosmond, "Role of stress in the pathogenesis of the metabolic syndrome." *Psychoneuroendocrinology* 2005; 30(1): 1-10, cada uno de los cuales se incorpora en el presente documento por referencia.

40 Aunque se sabe que el ketoconazol inhibe algunas etapas enzimáticas en la síntesis del cortisol, tal como, por ejemplo, la 17 α -hidroxilasa (Wachall y col., "Imidazole substituted biphenyls: a new class of highly potent and *in vivo* active inhibitors of P450 17 as potential therapeutics for treatment of prostate cancer". *Bioorg. Med. Chem.* 1999; 7(9): 1913-24, incorporado en el presente documento por referencia) y la 11 β -hidroxilasa (Rotstein y col.,

45 "Stereoisomers of ketoconazole: preparation and biological activity". *J. Med. Chem.* 1992; 35(15): 2818-25) y la 11 β -hidroxiesteroide deshidrogenasa (11 β -HSD) (Diederich y col., "In the search for specific inhibitors of human 11 β -hydroxysteroid-dehydrogenases (11 β -HSD): chenodeoxycholic acid selectively inhibits 11 β -HSD-I". *Eur. J. Endocrinol.* 2000; 142(2): 200-7, incorporado en el presente documento por referencia), no se han descrito los mecanismos por los cuales el ketoconazol disminuye los niveles de cortisol plasmáticos. Por ejemplo, no hay certeza

50 en relación con el efecto del ketoconazol sobre las enzimas 11 β -hidroxiesteroide deshidrogenasa (11 β -HSD). Hay dos enzimas 11 β -HSD. Una de ellas, la 11 β -HSD-I, es principalmente una reductasa que tiene una expresión alta en el hígado y puede convertir el 11-cetoglucocorticoide inactivo en el glucocorticoide activo (cortisol en seres humanos y corticoesterona en ratas). En contraste, la otra, la 11 β -HSD-II, es expresada principalmente en el riñón y actúa principalmente como una oxidasa que convierte glucocorticoide activo (cortisol en seres humanos y corticoesterona

55 en ratas) en 11-cetoglucocorticoides inactivos. Por lo tanto, en la concentración plasmática del glucocorticoide activo influye la velocidad de síntesis, controlada en parte por la actividad de la 11- β -hidroxilasa suprarrenal y por la velocidad de interconversión, controlada en parte por las actividades relativas de las dos enzimas 11 β -HSD. Se sabe que el ketoconazol inhibe estas 3 enzimas (Diederich y col., véase antes) y el enantiómero 2S,4R es más activo contra la enzima 11 β -hidroxilasa suprarrenal que el enantiómero 2R,4S (Rotstein y col., véase antes). Sin embargo,

60 no hay publicaciones que describan el efecto de los dos enantiómeros del ketoconazol sobre la 11 β -HSD-I o 11 β -HSD-II, por lo tanto, no se puede predecir qué efectos, si los hay, tendrá cada uno de los dos diferentes enantiómeros del ketoconazol en los niveles plasmáticos de glucocorticoides activos en un mamífero.

También se ha publicado que el ketoconazol disminuye los niveles de colesterol en seres humanos (Sonino y col.,

- (1991). "Ketoconazole treatment in Cushing's syndrome: experience in 34 patients." *Clin. Endocrinol. (Oxf)*. 35(4): 347-52; Gylling y col. (1993). "Effects of ketoconazole on cholesterol precursors and low density lipoprotein kinetics in hypercholesterolemia". *J. Lipid. Res.* 34(1): 59-67) cada uno de los cuales se incorpora en el presente documento por referencia). El enantiómero 2S,4R es más activo contra la enzima de síntesis del colesterol, 14 α -lanosterol desmetilasa que el otro enantiómero (2R,4S) (Rotstein y col., véase a continuación). Sin embargo, debido a que el nivel de colesterol en un paciente humano es controlado por la velocidad del metabolismo y la excreción así como por la velocidad de síntesis, a partir de esto no se puede predecir si el enantiómero 2S,4R del ketoconazol será más eficaz en la reducción de los niveles de colesterol.
- 10 El uso del ketoconazol como un producto terapéutico es complicado por el efecto del ketoconazol en las enzimas P450 responsables del metabolismo del fármaco. Varias de estas enzimas P450 son inhibidas por el ketoconazol (Rotstein y col., véase antes). Esta inhibición conduce a una alteración en la eliminación del propio ketoconazol (Brass y col., "Disposition of ketoconazole, an oral antifungal, in humans." *Antimicrob Agents Chemother.* 1982; 21(1): 151-8, incorporado en el presente documento por referencia) y varios otros fármacos importantes tales como
- 15 Glivec (Duttreix y col., "Pharmacokinetic interaction between ketoconazole and imatinib mesylate (Glivec) in healthy subjects." *Cancer Chemother. Pharmacol.* 2004; 54(4): 290-4) y la metilprednisolona (Glynn y col., "Effects of ketoconazole on methylprednisolone pharmacokinetics and Cortisol secretion." *Clin. Pharmacol. Ther.* 1986; 39(6): 654-9). Como resultado, la exposición de un paciente al ketoconazol aumenta con las dosis repetidas, a pesar de que no se aumente la cantidad de fármaco administrada al paciente. Esta exposición y el aumento de la exposición,
- 20 se pueden medir y demostrar usando el "área bajo la curva" (AUC) o el producto de la concentración de fármaco encontrada en el plasma y el periodo de tiempo a lo largo del cual se realizan las mediciones. El AUC para el ketoconazol después de la primera exposición es significativamente menor que el AUC para el ketoconazol después de exposiciones repetidas. Este aumento en la exposición al fármaco significa que es difícil proporcionar una dosis precisa y constante del fármaco a un paciente. Además, el aumento en la exposición al fármaco aumenta la
- 25 probabilidad de efectos secundarios adversos asociados con el uso del ketoconazol.
- Rotstein y col. (Rotstein y col., véase antes) han examinado los efectos de los dos enantiómeros cis del ketoconazol en las enzimas P450 principales responsables del metabolismo del fármaco y han publicado que "... no se observó prácticamente selectividad para los isómeros del ketoconazol" y, en relación con las enzimas P450 metabolizadoras del fármaco: "[l]os valores de IC50 para los enantiómeros cis eran similares a los publicados previamente para el ketoconazol racémico". Esta publicación indicaba que ambos enantiómeros cis podrían contribuir significativamente al problema del AUC observado con el racemato del ketoconazol.
- 30 Uno de los efectos secundarios adversos de la administración de ketoconazol exacerbado por este problema del AUC son las reacciones hepáticas. Las reacciones hepáticas asintomáticas se pueden medir por un aumento del nivel de las enzimas específicas del hígado encontradas en el suero, y se ha encontrado un aumento de estas enzimas en los pacientes tratados con ketoconazol (Sohn, "Evaluation of ketoconazole." *Clin. Pharm.* 1982; 1(3): 217-24, y Janssen y Symoens, "Hepatic reactions during ketoconazole treatment." *Am. J. Med.* 1983; 74(1B): 80-5, cada uno de los cuales se incorpora en el presente documento por referencia). Además, 1:12.000 pacientes tendrán
- 40 insuficiencia hepática más grave (Smith y Henry, "Ketoconazole: an orally effective antifungal agent. Mechanism of action, pharmacology, clinical efficacy and adverse effects." *Pharmacotherapy* 1984; 4(4): 199-204, incorporado en el presente documento por referencia). Como se ha indicado antes, la cantidad de ketoconazol a la que está expuesto un paciente, aumenta con la administración repetida, incluso aunque la cantidad de fármaco tomada al día no aumente (el "problema del AUC"). El AUC se correlaciona con el daño hepático en conejos (Ma y col.,
- 45 "Hepatotoxicity and toxicokinetics of ketoconazole in rabbits." *Acta Pharmacol. Sin.* 2003; 24(8): 778-782, incorporado en el presente documento por referencia) y se cree que la mayor exposición al fármaco aumenta la frecuencia de daño hepático descrito en los pacientes tratados con ketoconazol.
- Además, la patente de EE.UU. nº 6.040.307, incorporada en el presente documento por referencia, describe que el
- 50 enantiómero 2S,4R es eficaz en el tratamiento de infecciones fúngicas. Esta misma solicitud de patente, también describe estudios en corazones de cobaya aislados que muestran que la administración del ketoconazol racémico puede estar asociada con un mayor riesgo de arritmia cardíaca, pero no proporcionan datos que apoyen esta afirmación. Sin embargo, como se describe en esa patente, no se ha descrito previamente la arritmia como un efecto secundario del ketoconazol racémico sistémico, aunque se ha descrito un subtipo particular de arritmia, torsades de
- 55 pointes, cuando se administró el ketoconazol racémico simultáneamente con terfenadina. Además, varias publicaciones (por ejemplo, Morganroth y col. (1997). "Lack of effect of azelastine and ketoconazole coadministration on electrocardiographic parameters in healthy volunteers". *J. Clin. Pharmacol.* 37(11): 1065-72) han demostrado que el ketoconazol no aumenta el intervalo QTc. Este intervalo se usa como un marcador subrogado para determinar si los fármacos tienen el potencial de inducir arritmia. La patente de EE.UU. nº 6.040.307 también hace referencia a la
- 60 menor hepatotoxicidad asociada con el enantiómero 2S,4R, pero no proporciona datos que apoyen esta afirmación. El procedimiento proporcionado en la patente de EE.UU. nº 6.040.307 no permite evaluar la hepatotoxicidad ya que el procedimiento usa microsomas aislados de tejido congelado.

Por lo tanto, siguen siendo necesarios nuevos agentes terapéuticos y métodos para tratar enfermedades y

65 afecciones asociados con niveles o actividad elevados del cortisol, o que se pueden tratar mediante la reducción del nivel o actividad de cortisol, que sean tan eficaces como el ketoconazol pero que no presenten, o presenten en un

grado menor, los problemas de las interacciones con fármacos y efectos secundarios adversos del ketoconazol. La presente invención satisface estas y otras necesidades.

RESUMEN DE LA INVENCION

5

La presente invención surge en parte de los descubrimientos de que el enantiómero 2S,4R es más eficaz por unidad de peso que el ketoconazol racémico o el enantiómero 2R,4S (el otro enantiómero en el racemato) en la reducción de la concentración de glucocorticoides activos en el plasma, y que el enantiómero 2S,4R no conduce a la acumulación de fármaco (o se acumula en una extensión significativamente menor) como lo hace el ketoconazol

10 racémico.

En un primer aspecto, la presente invención proporciona una composición que contiene el enantiómero 2S,4R del ketoconazol, en la que el contenido total de ketoconazol de la composición comprende al menos 80% del enantiómero 2S,4R del ketoconazol, para su uso en un método de tratamiento, retraso del inicio, o reducción del

15 riesgo de desarrollar una enfermedad o afección asociados con los niveles o actividad elevados de cortisol, sin la acumulación significativa de fármaco en el sujeto al que se administra el enantiómero 2S,4R del ketoconazol, en el que dicha enfermedad o afección se seleccionan de hiperglucemia, diabetes, hiperinsulinemia, hipertensión, resistencia a la insulina, diabetes mellitus de tipo 2, síndrome metabólico, obesidad, aterosclerosis, baja tolerancia a la glucosa, trastornos lipídicos, reestenosis vascular, pancreatitis, obesidad abdominal, retinopatía, nefropatía y

20 neuropatía. La invención también proporciona una composición que contiene el enantiómero 2S,4R del ketoconazol, en la que el contenido total de ketoconazol de la composición comprende al menos 80% del enantiómero 2S,4R del ketoconazol, para su uso en un método para tratar la depresión, síndrome de Cushing, glaucoma, accidente cerebrovascular, deterioro cognitivo, demencia, secreción de insulina reducida, presión intraocular elevada, insuficiencia renal o enfermedad cardiovascular prematura, sin una acumulación de fármaco significativa en el sujeto

25 al que se administra el enantiómero 2S,4R del ketoconazol. La invención también proporciona una composición que contiene el enantiómero 2S,4R del ketoconazol, en la que el contenido total de ketoconazol de la composición comprende al menos 80% del enantiómero 2S,4R del ketoconazol, para su uso en un método para reducir los niveles de cortisol en un paciente al que se ha diagnosticado una afección caracterizada por niveles elevados de cortisol, sin acumulación significativa del fármaco en el paciente, comprendiendo dicho método proporcionar una

30 exposición constante del paciente a la 1-acetil-4-[4-[[2-(2,4-diclorofenil)-2-[(1H-imidazol-1-il)-metil]-1,3-dioxolan-4-il]metoxi]fenil]piperazina, a lo largo de un periodo de al menos 14 días, opcionalmente al menos 28 días, en el que dicha exposición diaria constante se proporciona mediante la administración de una dosis diaria constante del enantiómero 2S,4R, en el que la afección es hiperglucemia, diabetes o resistencia a la insulina, y el paciente no está sometido a tratamiento para una infección fúngica.

35

También se describen composiciones farmacéuticas que comprenden un portador farmacéuticamente aceptable y una cantidad terapéuticamente eficaz del enantiómero 2S,4R del ketoconazol, sustancial o enteramente exento del enantiómero 2R,4S del ketoconazol.

40 BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

La figura 1 muestra el efecto de los 4 enantiómeros del ketoconazol 2S,4S, 2R,4R, 2R,4S, y 2S,4R en la corticoesterona plasmática. La figura muestra que el enantiómero 2S,4R es más eficaz en la disminución de la corticoesterona que cualquiera de los otros tres enantiómeros. La concentración de corticoesterona en el plasma de

45 ratas Sprague-Dawley se determinó 4 horas después del suministro por alimentación con sonda de 200 mg/kg del enantiómero indicado.

La figura 2 muestra el efecto del ketoconazol racémico y de los dos enantiómeros cis 2R,4S y 2S,4R en la corticoesterona plasmática. El enantiómero 2S,4R es más eficaz en la disminución de la corticoesterona que el ketoconazol racémico o el otro enantiómero presente en el ketoconazol racémico (2R,4S). La concentración de corticoesterona en el plasma de ratas Sprague-Dawley se determinó 4 horas después del suministro por alimentación con sonda de la cantidad indicada del ketoconazole racémico o los dos enantiómeros (2S,4R y 2R,4S) presentes en el ketoconazol racémico.

50

La figura 3 muestra el efecto del ketoconazol racémico o los dos enantiómeros 2R,4S y 2S,4R en la evolución en el tiempo de la disminución de la corticoesterona plasmática. El enantiómero 2S,4R es más eficaz en la disminución de la corticoesterona que el ketoconazol racémico o el otro enantiómero cis presente en el ketoconazol racémico (2R,4S). La concentración de corticoesterona en el plasma de ratas Sprague-Dawley se determinó en el tiempo indicado después del suministro por alimentación con sonda de 200 mg/kg de ketoconazol racémico o los dos

60 enantiómeros (2S,4R y 2R,4S) presentes en el ketoconazol racémico.

La figura 4 muestra el efecto de la exposición previa al ketoconazol en el perfil farmacocinético del ketoconazol racémico en perros. El perfil farmacocinético del ketoconazol racémico está claramente alterado por la exposición previa al ketoconazol racémico. La concentración de ketoconazol racémico en el plasma en de perros a los que se

65 administró ketoconazol racémico diariamente durante 28 días (en dos formas diferentes: en suspensión en aceite de oliva y en forma de un comprimido sólido) es significativamente mayor que la concentración de ketoconazol racémico

en el plasma de perros a los que se trató sólo una vez.

La figura 5 muestra el efecto de la exposición previa al ketoconazol racémico en el perfil farmacocinético del ketoconazol racémico en perros. El área bajo la curva (AUC) del ketoconazol racémico aumenta por la exposición
5 previa al ketoconazol racémico. El AUC del perfil farmacocinético mostrado en la figura 4 se calculó de acuerdo con la regla del trapecioide. El AUC del ketoconazol racémico es mayor en perros tratados diariamente durante 28 días comparado con los perros tratados sólo una vez. El aumento del AUC es independiente de la forma en la que se administraba el ketoconazol racémico.

10 La figura 6 muestra el efecto de la exposición previa al enantiómero 2S,4R del ketoconazol en el perfil farmacocinético del enantiómero 2S,4R del ketoconazol en perros. El perfil farmacocinético del enantiómero 2S,4R del ketoconazol no es alterado por la exposición previa al enantiómero 2S,4R del ketoconazol. La concentración del enantiómero 2S,4R del ketoconazol en el plasma de perros a los que se administró o bien una vez el enantiómero 2S,4R o bien diariamente durante 28 no aumentó en los perros tratados durante 28 días comparado con los perros
15 tratados sólo una vez.

La figura 7 muestra el efecto de la exposición previa al enantiómero 2S,4R del ketoconazol en el AUC del enantiómero 2S,4R del ketoconazol en perros. El AUC del enantiómero 2S,4R del ketoconazol no aumenta por la exposición previa al enantiómero 2S,4R del ketoconazol. El AUC del enantiómero 2S,4R del ketoconazol es el
20 mismo en perros tratados diariamente durante 28 días comparado con perros tratados sólo una vez.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCIÓN

La presente invención proporciona una composición que contiene el enantiómero 2S,4R del ketoconazol, en la que
25 el contenido total de ketoconazol de la composición comprende al menos 80% del enantiómero 2S,4R del ketoconazol, para su uso en un método para tratar, retrasar el comienzo, o reducir el riesgo de desarrollar una enfermedad o afección asociados con niveles o actividad elevados de cortisol, sin acumulación significativa de fármaco en el sujeto al que se administra el enantiómero 2S,4R del ketoconazol, en el que dicha enfermedad o afección se selecciona de hiperglucemia, diabetes, hiperinsulinemia, hipertensión, resistencia a la insulina, diabetes
30 mellitus de tipo 2, síndrome metabólico, obesidad, aterosclerosis, baja tolerancia a la glucosa, trastornos lipídicos, reestenosis vascular, pancreatitis, obesidad abdominal, retinopatía, nefropatía y neuropatía. La invención también proporciona una composición que contiene el enantiómero 2S,4R del ketoconazol, en la que el contenido total de ketoconazol de la composición comprende al menos 80% del enantiómero 2S,4R del ketoconazol, para su uso en un método para tratar la depresión, síndrome de Cushing, glaucoma, accidente cerebrovascular, deterioro cognitivo,
35 demencia, secreción de insulina reducida, presión intraocular elevada, insuficiencia renal o enfermedad cardiovascular prematura, sin una acumulación de fármaco significativa en el sujeto al que se administra el enantiómero 2S,4R del ketoconazol. La invención también proporciona una composición que contiene el enantiómero 2S,4R del ketoconazol, en la que el contenido total de ketoconazol de la composición comprende al menos 80% del enantiómero 2S,4R del ketoconazol, para su uso en un método para reducir los niveles de cortisol
40 en un paciente al que se ha diagnosticado una afección caracterizada por niveles elevados de cortisol, sin acumulación significativa del fármaco en el paciente, comprendiendo dicho método proporcionar una exposición constante del paciente a la 1-acetil-4-[4-[[2-(2,4-diclorofenil)-2-[(1H-imidazol-1-il)-metil]-1,3-dioxolan-4-il]metoxi]fenil]piperazina, a lo largo de un periodo de al menos 14 días, opcionalmente al menos 28 días, en el que dicha exposición diaria constante se proporciona mediante la administración de una dosis diaria constante del
45 enantiómero 2S,4R, en el que la afección es hiperglucemia, diabetes o resistencia a la insulina, y el paciente no está sometido a tratamiento para una infección fúngica. Preferiblemente, el contenido de ketoconazol de la composición farmacéutica es menos de 2% del enantiómero 2R,4S y más de 98% del enantiómero 2S,4R. En otra realización, el contenido de ketoconazol de la composición farmacéutica es menos de 10% del enantiómero 2R,4S y más de 90% del enantiómero 2S,4R. En otra realización, el contenido de ketoconazol de la composición farmacéutica es menos
50 de 20% del enantiómero 2R,4S y más de 80% del enantiómero 2S,4R. Las enfermedades y afecciones que se pueden tratar de acuerdo con la presente invención están asociadas con niveles o actividad elevados del cortisol, y son enfermedades y afecciones que se pueden tratar médicamente reduciendo los niveles de cortisol y la actividad del cortisol con la composición farmacéutica de la invención. Para ayudar a entender la invención, esta descripción detallada se organiza de la siguiente forma. La sección I describe procedimientos para preparar el enantiómero
55 2S,4R, sus solvatos y sales, y composiciones farmacéuticas que lo comprenden. La sección II describe formas de dosificación unitaria de las composiciones farmacéuticas de la invención y procedimientos para administrarlas. La sección III describe el tratamiento de enfermedades y afecciones mediante la administración del enantiómero 2S,4R del ketoconazol en forma de la composición farmacéutica de la presente invención.

60 I. Preparación del enantiómero 2S,4R del ketoconazol y composiciones farmacéuticas que contienen el enantiómero 2S,4R del ketoconazol sustancial o enteramente exento del enantiómero 2R,4S del ketoconazol.

Como se usa el presente documento, una composición que contiene "el enantiómero 2S,4R del ketoconazol sustancial o enteramente exento del enantiómero 2R,4S del ketoconazol" incluye composiciones que no contienen el
65 enantiómero 2R,4S del ketoconazol, así como composiciones que contienen sustancialmente menos del enantiómero 2R,4S del ketoconazol, con respecto a la cantidad del enantiómero 2S,4R, que lo que contienen las

composiciones racémicas de ketoconazol actualmente aprobadas para uso terapéutico. La composición de la invención es una composición en la que el contenido total de ketoconazol comprende al menos 80%, o por ejemplo al menos 90%, o al menos 99%, o al menos 99,5% o al menos 99,9% o más del enantiómero 2S,4R.

5 El enantiómero 2S,4R del ketoconazol se puede obtener por resolución óptica del ketoconazol racémico. Dicha resolución se puede llevar a cabo por cualquiera de una serie de procedimientos de resolución bien conocidas por el experto en la materia, incluyendo, pero sin limitación, los descritos en Jacques y col., "Enantiomers, Racemates and Resolutions," Wiley, New York (1981), incorporado en el presente documento por referencia. Por ejemplo, la resolución se puede llevar a cabo por cromatografía preparativa en una columna quiral. Otro ejemplo de un
10 procedimiento de resolución adecuado es la formación de sales diastereoisómeras con un ácido quiral tal como ácido tartárico, málico, mandélico o derivados N-acetilados de aminoácidos, tales como N-acetil-leucina, seguido de recristalización para aislar la sal diastereoisómera del enantiómero deseado. Otro procedimiento más para obtener composiciones del enantiómero 2S,4R sustancialmente exentas del enantiómero 2R,4S, es una cristalización fraccionada de la sal diastereoisómera del ketoconazol con el ácido (+)-canfor-10-sulfónico.

15 El enantiómero 2S,4R del ketoconazol también se puede preparar directamente por una variedad de procedimientos conocidos por los expertos en la materia. Por ejemplo, el enantiómero 2S,4R se puede preparar directamente por reacciones de transcetolización entre la 2-bromo-2',4'-dicloroacetofenona y solcetal-tosilatos ópticamente puros, como describen Rotstein y col. (Rotstein y col., véase antes, incorporado en el presente documento por referencia).

20 Se puede usar una variedad de sales farmacéuticamente aceptables del enantiómero 2S,4R del ketoconazol en la composición farmacéutica de la invención. La expresión "sal farmacéuticamente aceptable" se refiere a sales preparadas a partir de bases o ácidos farmacéuticamente aceptables, incluyendo bases orgánicas o inorgánicas y ácidos orgánicos o inorgánicos. Las sales derivadas de bases inorgánicas incluyen sales de aluminio, amonio, calcio, cobre, férrica, ferrosa, litio, magnesio, mangánica, manganosa, potasio, sodio y cinc, y similares. Las sales de amonio, calcio, magnesio, potasio y sodio, en particular, pueden ser preferidas para algunas formulaciones farmacéuticas. Las sales en forma sólida pueden existir en más de una estructura cristalina y también pueden estar en forma de hidratos y polihidratos. Los solvatos, y en particular, los hidratos del enantiómero 2S,4R del ketoconazol son útiles en la preparación de las composiciones farmacéuticas de la presente invención.

30 Las sales derivadas de bases orgánicas farmacéuticamente aceptables incluyen sales de aminas primarias secundarias y terciarias, aminas sustituidas, incluyendo aminas sustituidas naturales, aminas cíclicas y resinas de intercambio iónico básicas, tales como arginina, betaína, cafeína, colina, N,N'-dibencil-etilendiamina, dietilamina, 2-dietilaminoetanol, 2-dimetilaminoetanol, etanolamina, etilendiamina, N-etil-morfolina, N-etilpiperidina, glucamina, glucosamina, histidina, hidrabamina, isopropilamina, lisina, metilglucamina, morfolina, piperazina, piperidina, resinas de poliamina, procaína, purinas, teobromina, trietilamina, trimetilamina, tripropilamina, y trometamina, y similares.

40 Cuando el compuesto que se va a formular es básico, se pueden preparar sales a partir de ácidos farmacéuticamente aceptables, incluyendo ácidos inorgánicos y orgánicos. Dichos ácidos incluyen ácido acético, benzenosulfónico, benzoico, canforsulfónico, cítrico, etanosulfónico, fumárico, glucónico, glutámico, bromhídrico, clorhídrico, isetiónico, láctico, maleico, málico, mandélico, metanosulfónico, mícico, nítrico, pamoico, pantoténico, fosfórico, succínico, sulfúrico, tartárico y p-toluenosulfónico, y similares. Los ácidos farmacéuticamente aceptables ilustrativos incluyen los ácidos cítrico, bromhídrico, clorhídrico, maleico, fosfórico, sulfúrico y tartárico. Los compuestos de ketoconazol son a menudo básicos, porque el anillo de triazol es básico. El compuesto 2S,4R-
45 ketoconazol se puede hacer y manejar como una sal que no es farmacéuticamente aceptable (p. ej., sales de trifluoroacetato) durante la síntesis, y después convertirlo, como se describe en el presente documento, en una sal farmacéuticamente aceptable.

50 Las sales farmacéuticamente aceptables adecuadas del enantiómero 2S,4R del ketoconazol incluyen, pero sin limitación, las sales de mesilato, maleato, fumarato, tartrato, clorhidrato, bromhidrato, esilato, p-toluenosulfonato, benzoato, acetato, fosfato y sulfato. Para preparar las sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables del compuesto de ketoconazol 2S,4R, se puede hacer reaccionar la base libre con los ácidos deseados en presencia de un disolvente adecuado por procedimientos convencionales. Igualmente, una sal de adición de ácido se puede convertir en la forma de base libre por procedimientos conocidos por los expertos en la materia.

55 La composición farmacéutica de la invención puede incluir metabolitos del enantiómero 2S,4R del ketoconazol que son terapéuticamente activos o profármacos del enantiómero. Los profármacos son compuestos que se convierten en los compuestos terapéuticamente activos cuando se van a administrar a un paciente o después de haberlos administrado a un paciente.

60 Por lo tanto, la composición farmacéutica de la invención contiene el enantiómero 2S,4R del ketoconazol, o una sal, hidrato o solvato del mismo farmacéuticamente aceptable, o un profármaco o metabolito activo del mismo, en combinación con un portador farmacéuticamente aceptable, y en el que el contenido total de ketoconazol de la composición comprende al menos 80% del enantiómero 2S,4R del ketoconazol, o una sal, hidrato o solvato del mismo farmacéuticamente aceptable, o un profármaco o metabolito activo del mismo. En una realización, la
65 composición farmacéutica contiene una cantidad terapéuticamente eficaz del enantiómero 2S,4R del ketoconazol, o

una sal del mismo farmacéuticamente aceptable, y un portador farmacéuticamente aceptable. Como se ha indicado antes, las sales farmacéuticamente aceptables del enantiómero 2S,4R útiles en dichas composiciones incluyen, pero sin limitación, las sales de clorhidrato, fosfato, maleato, fumarato, tartrato, mesilato, esilato y sulfato.

- 5 La "cantidad terapéuticamente eficaz" del enantiómero 2S,4R del ketoconazol o la sal farmacéuticamente aceptable del mismo, dependerá de la afección que se va a tratar, la vía y duración de administración, las características físicas del paciente, incluyendo el peso y otros medicamentos que tome simultáneamente, y se puede determinar de acuerdo con los procedimientos bien conocidos por los expertos en la materia a la luz de la presente descripción (véase la sección II, más adelante). La composición farmacéutica de la invención se puede preparar de forma
- 10 conveniente en forma farmacéutica de dosis unitaria por procedimientos bien conocidos en la técnica de la farmacia, como medicamentos para administrar por vía oral, parenteral (incluyendo la administración subcutánea, intramuscular e intravenosa), vía ocular (administración oftálmica), rectal, pulmonar (nasal o inhalación oral), tópica, transdérmica o por transferencia oral.
- 15 La composición farmacéutica de la invención se puede preparar combinando el enantiómero 2S,4R del ketoconazol con un portador farmacéutico seleccionado de acuerdo con las técnicas de preparación farmacéutica convencionales. Los portadores tienen una amplia variedad de formas. Por ejemplo, los portadores para composiciones líquidas orales incluyen, p. ej., agua, glicoles, aceites, alcoholes, agentes de sabor, conservantes, agentes colorantes y otros componentes usados en la fabricación de suspensiones, elixires y disoluciones líquidas
- 20 orales. Los portadores tales como los almidones, azúcares y celulosa microcristalina, diluyentes, agentes de granulación, lubricantes, aglutinantes, agentes de disgregación y similares, se usan para preparar formas de dosificación sólidas orales, p. ej., polvos, cápsulas duras y blandas y comprimidos. Normalmente se prefieren las preparaciones orales sólidas frente a las preparaciones líquidas orales.
- 25 Por lo tanto, en una realización, el portador farmacéuticamente aceptable es un sólido y la composición farmacéutica es un comprimido para administración oral. Otras formas adecuadas de las composiciones farmacéuticas de la invención para administración oral incluyen píldoras comprimidas o recubiertas, grageas, sobres, cápsulas de gelatina duras o blandas, comprimidos sublinguales, jarabes y suspensiones. Las formas de dosificación sólidas orales también pueden contener un aglutinante tal como goma de tragacanto, goma arábiga, almidón de maíz o
- 30 gelatina; excipientes tales como fosfato dicálcico; un agente disgregante tal como almidón de maíz, almidón de patata o ácido algínico; un lubricante tal como estearato magnésico; y/o un agente edulcorante tal como sacarosa, lactosa o sacarina. Las cápsulas también pueden contener un portador líquido tal como un aceite graso. Pueden estar presentes otros materiales diferentes para actuar como recubrimientos o para modificar la forma física de la unidad de dosificación. Por ejemplo, los comprimidos se pueden recubrir con goma laca, azúcar o ambos. Los
- 35 comprimidos se pueden recubrir mediante técnicas acuosas o no acuosas convencionales. El porcentaje típico de compuesto activo en estas composiciones puede, por supuesto, variar, por ejemplo y sin limitación, de aproximadamente 2 por ciento a aproximadamente 60 por ciento en una base en p/p.

En otra realización, el portador farmacéuticamente aceptable es un líquido, y la composición farmacéutica está

40 destinada a la administración oral. Los líquidos orales adecuados para usar en dichas composiciones incluyen jarabes y elixires y pueden contener, además del principio activo, sacarosa como agente edulcorante, metilparabén y propilparabén como conservantes, un colorante, y/o un agente de sabor, tal como sabor a cereza o naranja.

En otra realización, la composición farmacéutica de la invención es adecuada para la administración parenteral. Para

45 la administración parenteral, la composición farmacéutica típicamente está contenida en ampollas o viales y consiste esencialmente en una disolución o emulsión acuosa o no acuosa. Estas composiciones típicamente están en forma de una disolución o suspensión, y típicamente se preparan con agua, y opcionalmente incluyen un tensioactivo tal como hidroxipropilcelulosa. Las dispersiones se pueden preparar en glicerol, polietilenglicoles líquidos, y mezclas de los mismos en aceites. Típicamente, las preparaciones que están en forma diluida también contienen un

50 conservante.

En otra realización, el portador farmacéuticamente aceptable es un líquido, y la composición farmacéutica es una disolución inyectable. Las formas de dosificación inyectables farmacéuticas, que incluyen disoluciones y dispersiones acuosas y polvos para la preparación extemporánea de las disoluciones o dispersiones inyectables,

55 también son estériles y, en el momento de la administración, son suficientemente fluidas para que sean fáciles de inyectar mediante jeringa. Estas composiciones son estables en las condiciones de fabricación y almacenamiento y típicamente están conservadas. Por lo tanto, el portador incluye el disolvente o medio de dispersión que contiene, por ejemplo, agua, etanol, poliol (p. ej., glicerol, propilenglicol y polietilenglicol líquido), mezclas adecuadas de los mismos, y aceites vegetales.

60 En otra realización, el portador farmacéuticamente aceptable es un gel, y la composición farmacéutica se proporciona en forma de un supositorio. Para la administración rectal, la composición farmacéutica se proporciona en un supositorio, y el portador farmacéuticamente aceptable es un vehículo hidrófilo o hidrófobo. En otra realización, la composición farmacéutica de la invención se prepara para la aplicación tópica, y se formula como una

65 pomada. La composición de la invención también se puede administrar por vía transdérmica; los sistemas de suministro transdérmico adecuados son conocidos en la técnica.

Las composiciones farmacéuticas de la invención también incluyen composiciones de liberación sostenida. Las composiciones de liberación sostenida adecuadas son aquellas descritas en las publicaciones de solicitudes de patente de EE.UU. n° 20050013834; 20030190357 y 2002055512, y publicaciones de solicitudes de patente PCT n° WO 03011258 y 0152833, cada una de las cuales se incorpora en el presente documento por referencia.

II. Formas farmacéuticas de dosis unitaria; frecuencia y duración de la administración

Como se ha indicado antes, se puede usar cualquier vía de administración adecuada para proporcionar a un mamífero, típicamente un ser humano, pero también se pueden beneficiar de los métodos descritos en el presente documento mamíferos de importancia veterinaria, tales como ganado, caballos, cerdos, ovejas, perros y gatos, una dosis terapéuticamente eficaz del enantiómero 2S,4R en forma de la composición de la invención. Por ejemplo, se puede usar la administración oral, rectal, tópica, parenteral, ocular, pulmonar o nasal. Las formas farmacéuticas incluyen comprimidos, pastillas para chupar, dispersiones, suspensiones, disoluciones, cápsulas, cremas, pomadas, aerosoles y similares. En muchas realizaciones de la invención, la composición farmacéutica se administra por vía oral. La dosificación terapéuticamente eficaz del principio activo varía dependiendo del compuesto particular usado (sal, solvato, profármaco o metabolito), el modo de administración, la afección que se va a tratar, y la gravedad de la afección. Dichas dosificaciones las puede calcular fácilmente el experto en la materia a luz de la descripción del presente documento.

Quando se tratan o previenen las enfermedades y afecciones como se describe en el presente documento, se pueden obtener resultados satisfactorios cuando se administra el enantiómero 2S,4R del ketoconazol con una dosificación diaria de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 25 miligramos (mg) por kilogramo (mpk) de peso corporal, dado preferiblemente como una sola dosis diaria o en dosis divididas de aproximadamente 2 a 6 veces al día. Para la administración oral a un paciente humano adulto, la cantidad terapéuticamente eficaz en general se administrará en el intervalo de 50 mg a 800 mg por dosis, incluyendo, pero sin limitación, 100 mg por dosis, 200 mg por dosis y 400 mg por dosis, y se administrarán múltiples dosis diarias, normalmente consecutivas, en el transcurso de un tratamiento. La composición farmacéutica de la invención que contiene el enantiómero 2S,4R del ketoconazol se puede administrar en diferentes tiempos del día. En una realización, la dosis terapéutica óptima se puede administrar por la noche. En otra realización, la dosis terapéutica óptima se puede administrar por la mañana. Por lo tanto, en una realización, la dosificación diaria total del enantiómero 2S,4R del ketoconazol puede estar en el intervalo de aproximadamente 10 mg a aproximadamente 2 g, y a menudo está en el intervalo de aproximadamente 10 mg a aproximadamente 1 g, y con más frecuencia está en el intervalo de aproximadamente 100 mg a aproximadamente 500 mg. En el caso de un ser humano adulto típico de 70 kg, la dosis diaria total del enantiómero 2S,4R del ketoconazol puede estar en el intervalo de aproximadamente 10 mg a aproximadamente 1000 mg y a menudo estará en el intervalo, como se ha indicado antes, de aproximadamente 50 mg a aproximadamente 800 mg. Esta dosificación se puede ajustar para proporcionar la respuesta terapéutica óptima.

En una realización, la forma farmacéutica de dosis unitaria es adecuada para la administración oral y contiene uno o más excipientes farmacéuticos. Los ejemplos de excipientes farmacológicamente inactivos que se pueden incluir en una formulación disponible por vía oral del enantiómero 2S,4R del ketoconazol para los propósitos de la presente invención y su función se proporcionan en la siguiente tabla.

Ingrediente inactivo	Nombre comercial	Calidad	Función
Celulosa microcristalina silicificada	Prosolv HD 90	NF	Diluyente
Lactosa monohidrato	Modified, 316 Fast Flo	NF	Diluyente
Almidón de maíz	STA-Rx	NF	Disgregante
Estearato magnésico	no disponible	NF	Lubricante
Dióxido de silicio coloidal	Cab-O-Sil M5P	NF	Agente deslizante

Los excipientes listados en la tabla anterior se pueden combinar en diferentes proporciones con el enantiómero 2S,4R para obtener características específicas de fabricación y del comprimido de fármaco. El tamaño del comprimido de fármaco puede variar de 1 mg de peso total a 1000 mg de peso total; por ejemplo y sin limitación, de 100 mg de peso total a 800 mg de peso total. La proporción del enantiómero 2S,4R presente en el comprimido de fármaco puede variar de 1% a 100%; por ejemplo y sin limitación, de 10% a 90%. En la siguiente tabla se proporciona un ejemplo de un comprimido de 400 mg en el que el enantiómero 2S,4R comprende 50% del peso del comprimido. En este ejemplo, se hacen mezclas en seco con el (-) cis 2S,4R-ketoconazol y los excipientes inactivos listados y se comprime en forma de mezcla seca en comprimidos.

Componente	% p/p	Peso en el comprimido (mg)
(-)cis 2S,4R-Ketoconazol	50,0	200
Lactosa monohidrato, NF	22,4	89,6
Celulosa microcristalina silicificada, NF	16,5	66,0
Almidón de maíz, NF	10,0	40,0
Dióxido de silicio coloidal, NF	0,5	2,0

Estearato magnésico, NF	0,6	2,4
Total	100,0	400,0

Se ha descrito una formulación de comprimido del fármaco para el 2S,4R-ketoconazol en la solicitud de patente de EE.UU. 6.040.307. Esta formulación incluía el fármaco activo, (-)-ketoconazol, lactosa, almidón de maíz, agua y estearato magnésico. Se generaban gránulos húmedos con el ketoconazol, lactosa, agua y almidón de maíz, estos gránulos se secaban en un horno antes de comprimirlos en forma de comprimidos con el estearato magnésico y más almidón de maíz. Los comprimidos se comprimían y secaban. Este es un procedimiento que es menos óptimo que el procedimiento descrito antes usando un procedimiento de mezcla en seco, ya que no se introducen exceso de agua ni las temperaturas elevadas. El ketoconazol puede sufrir degradación (oxidación) (Farhadi y Maleki (2001). "A new spectrophotometric method for the determination of ketoconazole based on the oxidation reactions". *Analytical Sciences* 17 Supplement, i867-i869. The Japan Society for Analytical Chemistry), y las reacciones de oxidación son aceleradas en presencia de agua y temperaturas elevadas.

Las formas farmacéuticas de dosis unitaria sólidas de las composiciones farmacéuticas de la invención contienen el enantiómero 2S,4R del ketoconazol o una sal o hidrato del mismo, en una cantidad en el intervalo de aproximadamente 1 mg a aproximadamente 2 g, a menudo de aproximadamente 1,0 mg a aproximadamente 1,0 g, y lo más a menudo de aproximadamente 10 mg a aproximadamente 500 mg. En las composiciones farmacéuticas líquidas de la invención adecuadas para la administración oral, la cantidad del enantiómero 2S,4R del ketoconazol puede estar en el intervalo de aproximadamente 1 mg/ml a aproximadamente 200 mg/ml. La cantidad terapéuticamente eficaz también puede ser una cantidad en el intervalo de aproximadamente 10 mg/ml a aproximadamente 100 mg/ml. En una realización, la dosis de la composición farmacéutica líquida administrada es una cantidad entre 0,5 ml y 5,0 ml. En otra realización, la dosis está entre aproximadamente 1 ml y 3 ml. En las composiciones farmacéuticas líquidas de la invención diseñadas para la administración intravenosa o subcutánea, la cantidad del enantiómero 2S,4R del ketoconazol puede estar en el intervalo de aproximadamente 0,01 a 1 mg/ml y se puede administrar a una velocidad de entre 0,01 a 1 ml/min por administración subcutánea o intravenosa. Alternativamente, la cantidad del enantiómero 2S,4R puede estar en el intervalo de aproximadamente 0,1 mg/ml a 10 mg/ml le puede administrar a una velocidad entre 0,001 ml/min y 0,1 ml/min por administración subcutánea o intravenosa.

Como se ha indicado antes, las composiciones farmacéuticas de la invención se administrarán típicamente durante múltiples días consecutivos, durante periodos en el intervalo de una o más semanas a uno, varios o muchos meses (p. ej., al menos 7, 14, 28, 60 o 120 días). En una realización, las composiciones farmacéuticas de la invención se administran para el tratamiento de una enfermedad, afección o indicación crónica durante periodos de tratamiento en el intervalo de 1 mes a 12 meses. En otra realización, el enantiómero 2S,4R se administra durante 1 año a 5 años. En otra realización, el enantiómero 2S,4R se administra durante 5 años a 20 años. En otra realización, el enantiómero 2S,4R se administra hasta que hay una remisión de la enfermedad o durante toda la vida del paciente.

La duración de la administración de acuerdo con la invención depende de la enfermedad o afección que se va a tratar, la medida en la que la administración de la composición farmacéutica ha mejorado los síntomas de la enfermedad y afecciones, y la reacción del paciente individual al tratamiento.

III. Tratamiento de enfermedades y afecciones con las composiciones farmacéuticas de la invención

Inhibición de la síntesis de cortisol

El enantiómero 2S,4R del ketoconazol es significativamente más eficaz por unidad de peso en la disminución de la concentración plasmática de glucocorticoides fisiológicamente activos que el ketoconazol racémico o el otro enantiómero en el ketoconazol racémico, el enantiómero 2R,4S. Además, y como se demuestra en las figuras y en los siguientes ejemplos, y a diferencia del ketoconazol racémico, el enantiómero 2S,4R no produce un aumento dependiente del tiempo de la exposición al enantiómero 2S,4R. Por lo tanto, la composición de la presente invención ofrece un beneficio terapéutico significativo frente a la administración del ketoconazol racémico en el tratamiento de las enfermedades y afecciones citadas en las reivindicaciones, que están asociadas con niveles elevados o una actividad aberrante del cortisol, o enfermedades en las que se puede obtener un beneficio mediante la disminución de los niveles o actividad normales del cortisol.

El cortisol promueve tanto la acumulación de tejido adiposo como la liberación de ácidos grasos libres del tejido adiposo. Cuando se oxidan, los ácidos grasos libres actúan de una forma antagónica a la insulina en el hígado, reduciendo la sensibilidad a la insulina en el hígado (es decir, aumentando la resistencia a la insulina hepática). El cortisol también actúa directamente como un antagonista de la acción de la insulina en el hígado, de modo que la sensibilidad a la insulina se reduce más. El cortisol también aumenta directamente la cantidad de enzimas limitantes de la velocidad que controlan la producción de glucosa por el hígado. Estas acciones dan como resultado una mayor gluconeogénesis y niveles elevados de producción de glucosa por el hígado. La resistencia a la insulina hepática también produce un deterioro de la síntesis de lipoproteínas por el hígado y por lo tanto es un factor de contribución principal a la dislipidemia conocida en pacientes con diabetes de tipo 2 y en pacientes con síndrome metabólico. Los pacientes que ya tenía intolerancia a la glucosa tienen una probabilidad mayor de desarrollar la diabetes de tipo 2 en

presencia de niveles anormalmente altos de cortisol. Los niveles altos de cortisol también pueden llevar a la hipertensión, en parte por la activación del receptor de mineralocorticoides. La inhibición de la enzima 11 β -HSD-I desplaza la relación de cortisol y cortisona en tejidos específicos en favor de la cortisona. El enantiómero 2S,4R del ketoconazol es un inhibidor de la síntesis de cortisol que actúa en la enzima 11 β -hidroxilasa y también puede ejercer su efecto terapéutico, al menos en parte, por la inhibición de la enzima 11 β -HSD-I.

Se describe en el presente documento un método para usar el enantiómero 2S,4R del ketoconazol, un inhibidor de la síntesis de cortisol, para el tratamiento, control, mejora, prevención, retraso del inicio o reducción del riesgo de desarrollar enfermedades y afecciones debidas al menos en parte al cortisol y/o otros corticosteroides en un paciente mamífero, en particular un ser humano. El método implica la administración de una cantidad terapéuticamente eficaz del enantiómero 2S,4R del ketoconazol o una sal o solvato del mismo farmacéuticamente aceptables, sustancial o enteramente exento del otro enantiómero del ketoconazol, a un paciente que padece la enfermedad o afección.

La actividad del cortisol puede contribuir a un gran número de enfermedades y afecciones, incluyendo, pero sin limitación, la diabetes de tipo 2, síndrome metabólico, obesidad, dislipidemia, resistencia a la insulina e hipertensión. Se describen a continuación estas y otras enfermedades y afecciones susceptibles de tratamiento con la composición de la invención.

20 *Diabetes, síndrome metabólico y enfermedades y afecciones relacionadas*

La diabetes es causada por múltiples factores y se caracteriza de forma sencilla por los niveles elevados de glucosa plasmática (hiperglucemia) en estado de ayuno. Hay dos formas reconocidas en general de diabetes: la diabetes de tipo 1, en la que los pacientes producen poca o no producen insulina, la hormona que regula la producción y uso de la glucosa, y la diabetes de tipo 2, en la que los pacientes producen insulina e incluso presentan hiperinsulinemia (niveles de insulina plasmática que pueden ser similares o incluso elevados en comparación con sujetos no diabéticos), mientras que al mismo tiempo presentan hiperglucemia. Los pacientes con diabetes de tipo 2 normalmente tienen algún grado de resistencia a la glucosa disminuyendo las acciones de la insulina. La diabetes de tipo 1 normalmente se trata con insulina exógena administrada por inyección.

Sin embargo, los pacientes con diabetes de tipo 2 normalmente desarrollan "resistencia a la insulina", de modo que disminuye el efecto de la insulina en la estimulación del metabolismo de la glucosa y lípidos en los principales tejidos sensibles a la insulina, en concreto, tejidos de músculo, hígado y adiposo. Los pacientes que tienen resistencia a la insulina pero no tienen diabetes, tienen niveles elevados de insulina que compensan su resistencia a la insulina, de modo que los niveles de glucosa en el suero no son elevados. En los pacientes con diabetes de tipo 2, los niveles de insulina plasmática, incluso cuando son elevados, son insuficientes para superar la resistencia a la insulina pronunciada, dando como resultado la hiperglucemia. Los pacientes con diabetes de tipo 2 también pueden tener niveles y/o tasas de producción elevados de cortisol circulante (véase, "Plasma insulin, growth hormone, Cortisol, and central obesity among young Chinese type 2 diabetic patients." *Diabetes Care* 1999; 22(9): 1450-7; Homma y col., "Assessing systemic 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase with serum cortisone/cortisol ratios in healthy subjects and patients with diabetes mellitus and chronic renal failure." *Metabolism* 2001; 50(7): 801-4; y Richardson y Tayek, "Type 2 diabetic patients may have a mild form of an injury response: a clinical research center study." *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 2002; 282(6): E1286-90; Chiodini y col. "Association of subclinical hypercortisolism with type 2 diabetes mellitus: a case-control study in hospitalized patients." *Eur. J. Endocrinol.* 2005; 153(6): 837- 844; Liu y col. "Elevated late-night salivary cortisol levels in elderly male type 2 diabetic veterans." *Clin. Endocrinol. (Oxf)* 2005; 63(6): 642-9; y Catargi y col. "Occult Cushing's syndrome in type-2 diabetes." *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2003; 88(12): 5808-13, cada uno de los cuales se incorpora en el presente documento por referencia). Ahora se sabe que el exceso de cortisol (véase la patente de EE.UU. nº 5.849.740, incorporada en el presente documento por referencia) induce resistencia a la insulina y dos características principales de la diabetes de tipo 2: menor absorción de glucosa periférica y mayor producción de glucosa hepática. Véase también Rizza y col., "Cortisol-induced insulin resistance in man: impaired suppression of glucose production and stimulation of glucose utilization due to a postreceptor defect of insulin action". *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1982; 54(1): 131-8; Holmang y Bjorntorp, "The effects of cortisol on insulin sensitivity in muscle". *Acta Physiol. Scand.* 1992; 144(4): 425-31; Lecavalier y col., "Glucagon-cortisol interactions on glucose turnover and lactate gluconeogenesis in normal humans". *Am. J. Physiol.* 1990; 258(4 Pt 1): E569-75; y Khani y Tayek, "Cortisol increases gluconeogenesis in humans: its role in the metabolic syndrome." *Clin. Sci. (Lond)* 2001; 101(6): 739-47; cada uno de los cuales se incorpora en el presente documento por referencia.

La hiperglucemia persistente o no controlada que se produce en la diabetes está asociada con una mayor morbilidad y mortalidad prematura. La homeostasis de la glucosa anómala también está asociada directa e indirectamente con la obesidad, hipertensión y alteraciones del metabolismo de lípidos, lipoproteínas y apolipoproteínas. Los pacientes con diabetes de tipo 2 tienen un mayor riesgo de complicaciones cardiovasculares, p. ej., aterosclerosis, enfermedad cardíaca coronaria, accidente cerebrovascular, enfermedad vascular periférica, hipertensión, nefropatía, neuropatía y retinopatía. Por lo tanto, el control terapéutico de la homeostasis de la glucosa, metabolismo de lípidos, obesidad e hipertensión, tiene una importancia crítica en la gestión y tratamiento clínicos de la diabetes mellitus.

Muchos pacientes que tienen resistencia a la insulina pero que (todavía) no han desarrollado la diabetes de tipo 2, también tienen riesgo de desarrollar un conjunto de signos o síntomas denominados previamente "síndrome de resistencia a la insulina, síndrome dismetabólico o síndrome X", ahora más ampliamente conocidos como "síndrome metabólico". El síndrome metabólico se caracteriza por la resistencia a la insulina, junto con la obesidad abdominal, hiperinsulinemia, hipertensión arterial, niveles bajos de HDL, niveles altos de triglicéridos VLDL y partículas de LDL densas pequeñas y niveles elevados de glucosa. Estos pacientes, desarrollen o no la diabetes mellitus manifiesta, tienen un mayor riesgo de desarrollar las complicaciones cardiovasculares listadas antes. Se ha descrito que los pacientes con síndrome metabólico tienen anomalías en los niveles, producción o catabolismo del cortisol (véase, Berceanu-Gabrielescu y col., "Hypercorticism-a risk factor in arterial hypertension and atherosclerosis." *Endocrinologie* 1981; 19(2): 123-7; Phillips y col., "Elevated plasma Cortisol concentrations: a link between low birth weight and the insulin resistance syndrome?" *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1998; 83(3): 757-60; y Ward y col., "Cortisol and the metabolic syndrome in South Asians." *Clin. Endocrinol. (Oxf)* 2003; 58(4): 500-5; cada uno de los cuales se incorpora en el presente documento por referencia).

El tratamiento de la diabetes de tipo 2 normalmente incluye una terapia de dieta y aumento del ejercicio físico solos o en combinación con terapia farmacológica. El aumento del nivel plasmático de insulina por administración de sulfonilureas (p. ej., tolbutamida y glizipida) o meglitinidas, que estimulan las células beta pancreáticas para segregar más insulina, y/o por inyección de insulina cuando las sulfonilureas o meglitinidas son ineficaces, puede dar como resultado concentraciones altas de insulina suficientes para estimular los tejidos resistentes a la insulina. Sin embargo, se pueden producir niveles bajos peligrosos de glucosa plasmática, y finalmente se puede producir un mayor nivel de resistencia a la insulina.

Las biguanidas reducen la producción excesiva de glucosa por el hígado y aumentan la sensibilidad a la insulina, dando como resultado cierta corrección de la hiperglucemia. Sin embargo, muchas biguanidas, p. ej., la fenformina y metformina, pueden producir acidosis láctica, náuseas y diarrea.

Las tiazolidinonas o glitazonas (es decir, 5-benciltiazolidina-2,4-dionas) son una clase más nueva de compuestos caracterizados por tener potencial para mejorar la hiperglucemia y otros síntomas de la diabetes de tipo 2. Estos agentes aumentan la sensibilidad a la insulina en el músculo, hígado y tejido adiposo, dando como resultado la corrección parcial o completa de los niveles elevados de glucosa en el plasma sustancialmente sin producir hipoglucemia. Las glitazonas que se comercializan actualmente son agonistas del subtipo γ del receptor activado por el proliferador de peroxisomas (PPAR). Se cree en general que el agonismo del PPAR γ es responsable de la mejor sensibilización a la insulina que se observa con las glitazonas. Los agonistas del PPAR más nuevos que se están desarrollando para el tratamiento de la diabetes de tipo 2 y/o dislipidemia, son agonistas de uno o más de los subtipos α , γ y δ del PPAR. Una desventaja de todas las glitazonas conocidas es su efecto de aumento de peso, mediado por un aumento de la masa de tejido adiposo. Otra desventaja es que las glitazonas se han asociado con un mayor riesgo de insuficiencia cardíaca mediada por la retención de fluidos.

Siguen siendo necesarios nuevos tratamientos para la diabetes y afecciones relacionadas, tales como las diferentes afecciones que contribuyen de forma individual y colectiva al síndrome metabólico. La presente invención satisface esta necesidad. La presente invención proporciona una composición para su uso en un método para tratar la diabetes, y las afecciones relacionadas de hiperglucemia y resistencia a la insulina en un paciente mamífero que necesite dicho tratamiento, como se define en la reivindicación 1, en el que el método comprende administrar a dicho paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de la composición farmacéutica de la invención. En una realización, la composición se usa para tratar la diabetes de tipo 2. La administración de una cantidad terapéuticamente eficaz de un inhibidor de la 11 β -hidroxilasa tal como el enantiómero 2S,4R del ketoconazol sustancialmente exento del enantiómero 2S,4R, es eficaz en el tratamiento, control y mejora de los síntomas de la diabetes, en particular de la diabetes de tipo 2, y la administración de una cantidad terapéuticamente eficaz de un inhibidor de la 11 β -hidroxilasa tal como el enantiómero 2S,4R del ketoconazol sustancialmente exento del enantiómero 2S,4R, diariamente de forma regular, puede retrasar o prevenir el comienzo de la diabetes de tipo 2.

Mediante la reducción de la resistencia a la insulina y el mantenimiento de la glucosa en el suero en concentraciones normales, la composición farmacéutica de esta invención también es útil en el tratamiento y prevención de afecciones que acompañan a la diabetes de tipo 2 y la resistencia a la insulina, incluyendo la obesidad (típicamente obesidad abdominal), síndrome metabólico ("síndrome X"), incluyendo cada uno de los síntomas y afecciones que contribuyan al síndrome, retinopatía diabética, neuropatía, nefropatía y enfermedad cardiovascular prematura.

Los niveles excesivos de cortisol se han asociado con la obesidad, que se puede asociar con la capacidad del cortisol para estimular la adipogénesis en la obesidad general y visceral (también conocida como abdominal) en particular. La obesidad visceral/abdominal está estrechamente asociada con la intolerancia a la glucosa, hiperinsulinemia, hipertrigliceridemia, y otros factores (afecciones y síntomas) del síndrome metabólico, tales como la hipertensión arterial, VLDL elevado y HDL reducido, así como la diabetes. Por lo tanto, la administración de una cantidad eficaz de un inhibidor de la 11 β -hidroxilasa tal como el enantiómero 2S,4R del ketoconazol sustancialmente exento del enantiómero 2R,4S, es útil para el tratamiento o control de la obesidad (p. ej., obesidad abdominal) y el síndrome metabólico. El tratamiento a largo plazo con un inhibidor de la 11 β -hidroxilasa tal como el enantiómero

2S,4R del ketoconazol sustancialmente exento del enantiómero 2R,4S, también es útil en el retraso o la prevención de la aparición de obesidad, en especial si el paciente usa un inhibidor de la 11 β -hidroxilasa tal como el enantiómero 2S,4R del ketoconazol sustancialmente exento del enantiómero 2R,4S, en combinación con dieta controlada y ejercicio.

5

Por lo tanto, en otra realización, la presente invención proporciona una composición para su uso en un método de tratamiento de la obesidad (p. ej., obesidad abdominal) en un paciente mamífero que necesite dicho tratamiento, como se define en la reivindicación 1, cuyo método comprende administrar a dicho paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de la composición. Igualmente, en otra realización, la presente invención proporciona una

10 composición para su uso en un método para tratar el síndrome metabólico en un paciente mamífero que necesite dicho tratamiento, como se define en la reivindicación 1, que comprende administrar a dicho paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de la composición farmacéutica.

Aterosclerosis, trastornos lipídicos, hipertensión

15

La inhibición de la 14 α -lanosterol desmetilasa y una reducción del colesterol y la inhibición de la actividad de la 11 β -hidroxilasa y una reducción de la cantidad de cortisol, son beneficiosos en el tratamiento o control de la hipertensión y dislipidemia. Debido a que la hipertensión y la dislipidemia contribuyen al desarrollo de la aterosclerosis, la administración de una cantidad terapéuticamente eficaz de un inhibidor de la 14 α -lanosterol desmetilasa y un

20 inhibidor de la 11 β -hidroxilasa tal como el enantiómero 2S,4R del ketoconazol sustancialmente exento del enantiómero 2R,4S, puede ser beneficiosa en el tratamiento, control, retraso de la aparición o prevención de la hipertensión, dislipidemia y aterosclerosis. En una realización, la invención proporciona una composición para su uso en un método de tratamiento de la aterosclerosis en un paciente mamífero que necesite dicho tratamiento, como se define en la reivindicación 1, comprendiendo dicho método administrar a dicho paciente una cantidad

25 terapéuticamente eficaz de la composición farmacéutica.

En otra realización, la presente invención proporciona una composición para su uso en un método de tratamiento de un trastorno lipídico seleccionado del grupo que consiste en dislipidemia, hiperlipidemia, hipertrigliceridemia, hipercolesterolemia, HDL bajo y LDL alto, en un paciente mamífero que necesite dicho tratamiento, como se define

30 en la reivindicación 3, comprendiendo dicho método administrar a dicho paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de la composición farmacéutica.

Accidente cerebrovascular

35 La inhibición de la 14 α -lanosterol desmetilasa y una reducción del colesterol y la inhibición de la actividad de la 11 β -hidroxilasa y una reducción de la cantidad de cortisol, son beneficiosos en el tratamiento del accidente cerebrovascular isquémico. Debido a que el cortisol, la hipertensión y la dislipidemia contribuyen a la gravedad y mortalidad de los accidentes cerebrovasculares isquémicos, la administración de una cantidad terapéuticamente eficaz de un inhibidor de la 14 α -lanosterol desmetilasa y un inhibidor de la 11 β -hidroxilasa tal como el enantiómero

40 2S,4R del ketoconazol sustancialmente exento del enantiómero 2R,4S, puede ser beneficiosa en el tratamiento, o reducción de la gravedad de los accidentes cerebrovasculares isquémicos. En una realización, la invención proporciona una composición para su uso en un método de tratamiento de un accidente cerebrovascular isquémico en un paciente que necesite dicho tratamiento, como se define en la reivindicación 13, comprendiendo dicho método administrar a dicho paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de la composición farmacéutica.

45

Enfermedad de Alzheimer

La inhibición de la 14 α -lanosterol desmetilasa y una reducción del colesterol y la inhibición de la actividad de la 11 β -hidroxilasa y una reducción de la cantidad de cortisol, son beneficiosos en el tratamiento de la enfermedad de

50 Alzheimer. Debido a que el cortisol elevado se ha asociado con el desarrollo de la enfermedad de Alzheimer y una reducción del colesterol por el uso de estatinas puede reducir la gravedad de la enfermedad de Alzheimer, la administración de una cantidad terapéuticamente eficaz de un inhibidor de la 14 α -lanosterol desmetilasa y un inhibidor de la 11 β -hidroxilasa tal como el enantiómero 2S,4R del ketoconazol sustancialmente exento del enantiómero 2R,4S, puede ser beneficiosa en el tratamiento, o reducción de la gravedad de la enfermedad de

55 Alzheimer. Por lo tanto, se describe un método de tratamiento de la enfermedad de Alzheimer en un paciente mamífero que necesite dicho tratamiento, comprendiendo dicho método administrar a dicho paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición farmacéutica que contiene el enantiómero 2S,4R del ketoconazol sustancialmente exento del enantiómero 2R,4S.

Deterioro cognitivo, demencia y depresión

Los niveles excesivos de cortisol en el cerebro también pueden producir la pérdida neuronal o disfunción a través de la potenciación de neurotoxinas. La disfunción cognitiva se ha asociado con el envejecimiento y los niveles excesivos de cortisol en el cerebro (véase Seckl Walker, "Minireview: 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 1- a

65 tissue-specific amplifier of glucocorticoid action." *Endocrinology* 2001; 142(4): 1371-6, incorporado en el presente

documento por referencia). La administración de una cantidad eficaz de un inhibidor de la 11 β -hidroxilasa tal como el enantiómero 2S,4R del ketoconazol sustancialmente exento del enantiómero 2R,4S, produce la reducción, mejora, control o prevención del deterioro cognitivo asociado con el envejecimiento y la disfunción neuronal. En una realización, la invención proporciona una composición para su uso en un método de tratamiento del deterioro cognitivo y/o la demencia en un paciente mamífero que necesite dicho tratamiento, como se define en la reivindicación 13, comprendiendo dicho método administrar a dicho paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de la composición farmacéutica.

Otra afección en la que se ha descrito que los niveles elevados de cortisol son una causa importante en la depresión. Muck-Seler y col. (Muck-Seler y col., "Platelet serotonin and plasma prolactin and Cortisol in healthy, depressed and schizophrenic women." *Psychiatry Res* 2004; 127(3): 217-26, incorporado en el presente documento por referencia) describieron que los niveles de cortisol en el plasma era significativamente mayores tanto en los pacientes con esquizofrenia como los deprimidos comparado con los valores en los controles sanos. En una realización, la invención proporciona una composición para su uso en un método de tratamiento de la depresión en un paciente mamífero que necesite dicho tratamiento, como se define en la reivindicación 13, comprendiendo dicho método administrar a dicho paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de la composición farmacéutica.

Síndrome de Cushing

El síndrome de Cushing es una enfermedad o afección metabólica en la que los pacientes tienen niveles altos de cortisol en el torrente sanguíneo. Estos niveles altos pueden ser resultado de un mal funcionamiento de la glándula suprarrenal debido a un tumor hipofisario o a un tumor secundario, que producen ambos el cortisol secretado de ACTH en exceso, o debido a un tumor o trastorno de la propia glándula suprarrenal que directamente produce cortisol en exceso. Los pacientes con síndrome de Cushing a menudo desarrollan diabetes de tipo 2. El tratamiento del síndrome de Cushing puede implicar la eliminación del tumor causal y/o el tratamiento con inhibidores de la síntesis de cortisol tales como metirapona, ketoconazol o aminoglutetimida (véase Murphy, "Steroids and depression". *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 1991; 38(5): 537-59, incorporado en el presente documento por referencia). En una realización, la presente invención proporciona una composición para su uso en un método de tratamiento del síndrome de Cushing en un paciente que necesite dicho tratamiento, como se define en la reivindicación 13, comprendiendo dicho método administrar a dicho paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de la composición farmacéutica, sola o en combinación con otro inhibidor de la síntesis de cortisol, tal como metirapona o aminoglutetimida.

Disminución de la secreción de insulina

Se ha mostrado que los glucocorticoides reducen la secreción de insulina in vivo (véase, Billaudel y Sutter, "Direct effect of corticosterone upon insulin secretion studied by three different techniques". *Horm. Metab. Res.* 1979; 11(10): 555-60, incorporado en el presente documento por referencia). Por lo tanto, la inhibición de la síntesis de cortisol proporcionada por las composiciones farmacéuticas de la invención, puede ser beneficiosa en el tratamiento de la disminución de la secreción de insulina. Además, se ha observado que una menor actividad de la 11 β -HSD-I, en células beta pancreáticas murinas aisladas, mejora la secreción de insulina estimulada por glucosa (véase, Davani y col., "Type 1 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase mediates glucocorticoid activation and insulin release in pancreatic islets". *J. Biol. Chem.* 2000; 275(45): 34841-4, incorporado en el presente documento por referencia). En una realización, la invención proporciona una composición para su uso en un método para tratar la disminución de la secreción de insulina en un paciente mamífero que necesite dicho tratamiento, como se define en la reivindicación 13, comprendiendo dicho método administrar a dicho paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de la composición farmacéutica.

Glaucoma y presión intraocular

Hay una relación entre los niveles de receptores dirigidos a glucocorticoides y las enzimas 11 β -HSD-I y la susceptibilidad al glaucoma (véase, Stokes y col., "Altered peripheral sensitivity to glucocorticoids in primary open-angle glaucoma." *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2003; 44(12): 5163-7, incorporado en el presente documento por referencia). Se ha descrito que los niveles altos de cortisol son una causa importante en el glaucoma. La mediana de los niveles de cortisol total en el plasma, niveles de cortisol libre en plasma y porcentaje de cortisol libre son más altos en el paciente con hipertensión ocular y glaucoma. Las diferencias más significativas aparecen en los valores de porcentaje de cortisol libre entre los sujetos normales y con glaucoma (véase, Schwartz y col., "Increased plasma free Cortisol in ocular hypertension and open angle glaucoma." *Arch. Ophthalmol.* 1987; 105(8): 1060-5, incorporado en el presente documento por referencia).

La inhibición de la actividad de la 11 β -hidroxilasa por administración del enantiómero 2S,4R del ketoconazol sustancialmente exento del enantiómero 2R,4S, es útil en la reducción de la presión intraocular y en el tratamiento del glaucoma. En una realización, la invención proporciona una composición para su uso en un método para tratar el glaucoma y reducir la presión intraocular en un paciente mamífero que necesite dicho tratamiento, como se define en la reivindicación 13, comprendiendo dicho método administrar a dicho paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de la composición farmacéutica.

Inmunomodulación

En algunos estados patológicos, tales como la tuberculosis, psoriasis, e incluso en condiciones de estrés excesivo, la actividad glucocorticoide alta desplaza la respuesta inmunitaria a una respuesta humoral, cuando de hecho una respuesta celular puede ser más beneficiosa para el paciente. La inhibición de la actividad de la 11 β -HSD-I y la reducción de los niveles de glucocorticoides que acompaña, desplazan la respuesta inmunitaria hacia una respuesta celular (véase, Mason, "Genetic variation in the stress response: susceptibility to experimental allergic encephalomyelitis and implications for human inflammatory disease." *Immunol. Today* 1991; 12(2): 57-60; y Rook, "Glucocorticoids and immune function." *Baillieres Best Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab.* 1999; 13(4): 567-81; cada uno de los cuales se incorpora en el presente documento por referencia). Por lo tanto, se describe un método para modular la respuesta inmunitaria a una respuesta celular, en un paciente mamífero que necesite dicho tratamiento, comprendiendo dicho método administrar a dicho paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de la composición farmacéutica del enantiómero 2S,4R del ketoconazol sustancialmente exento del enantiómero 2R,4S.

Insuficiencia renal

La presión sanguínea intrarrenal aumentada puede conducir al daño renal. El cortisol puede competir con los verdaderos mineralocorticoides en el acceso al receptor de aldosterona y aumentar la presión arterial. El ketoconazol se ha probado en pacientes con insuficiencia renal y se ha mostrado que aumenta la velocidad de filtración glomerular. También se ha mostrado que el ketoconazol disminuye la pérdida de albúmina de los riñones en pacientes con diabetes de tipo 2 sin insuficiencia renal. Por lo tanto, se describe un método para tratar la función renal deteriorada o reducir la pérdida de albúmina, en un paciente mamífero que necesite dicho tratamiento, comprendiendo dicho método administrar a dicho paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición farmacéutica del enantiómero 2S,4R del ketoconazol sustancialmente exento del enantiómero 2R,4S.

Usos terapéuticos del enantiómero 2S,4R del ketoconazol

En vista de lo anterior, los expertos en la materia apreciarán que la presente invención proporciona una composición para su uso en un método para tratar una afección seleccionada del grupo que consisten en: (1) hiperglucemia, (2) baja tolerancia a la glucosa, (3) resistencia a la insulina, (4) obesidad, (5) trastornos lipídicos, (6) dislipidemia, (7) hiperlipidemia, (8) hipertrigliceridemia, (9) hipercolesterolemia, (10) niveles bajos de HDL, (11) niveles altos de LDL, (12) aterosclerosis, (13) reestenosis vascular, (14) pancreatitis, (15) obesidad abdominal, (16) retinopatía, (17) nefropatía, (18) neuropatía, y (19) síndrome metabólico, en un paciente mamífero que necesite dicho tratamiento, como se define en la reivindicación 1, comprendiendo dicho método administrar al paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de la composición farmacéutica.

En otro aspecto, la presente invención proporciona una composición para su uso en un método para retrasar la aparición de una afección seleccionada del grupo que consisten en: (1) hiperglucemia, (2) baja tolerancia a la glucosa, (3) resistencia a la insulina, (4) obesidad, (5) trastornos lipídicos, (6) dislipidemia, (7) hiperlipidemia, (8) hipertrigliceridemia, (9) hipercolesterolemia, (10) niveles bajos de HDL, (11) niveles altos de LDL, (12) aterosclerosis, (13) reestenosis vascular, (14) pancreatitis, (15) obesidad abdominal, (16) retinopatía, (17) nefropatía, (18) neuropatía, y (19) síndrome metabólico, en un paciente mamífero que necesite dicho tratamiento, como se define en la reivindicación 1, comprendiendo dicho método administrar al paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de la composición farmacéutica.

En otro aspecto, la presente invención proporciona una composición para su uso en un método para reducir el riesgo de desarrollar una afección seleccionada del grupo que consisten en: (1) hiperglucemia, (2) baja tolerancia a la glucosa, (3) resistencia a la insulina, (4) obesidad, (5) trastornos lipídicos, (6) dislipidemia, (7) hiperlipidemia, (8) hipertrigliceridemia, (9) hipercolesterolemia, (10) niveles bajos de HDL, (11) niveles altos de LDL, (12) aterosclerosis, (13) reestenosis vascular, (14) pancreatitis, (15) obesidad abdominal, (16) retinopatía, (17) nefropatía, (18) neuropatía, y (19) síndrome metabólico, en un paciente mamífero que necesite dicho tratamiento, como se define en la reivindicación 1, comprendiendo dicho método administrar al paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de la composición farmacéutica.

Otras afecciones

También se describe un método para reducir los niveles de cortisol plasmático en un sujeto al que no se ha diagnosticado o no está sometido a tratamiento de una infección fúngica, administrando al sujeto una composición farmacéutica que comprende un portador farmacéuticamente aceptable y una cantidad terapéuticamente eficaz del enantiómero 2S,4R del ketoconazol sustancialmente exento del enantiómero 2R,4S. Por ejemplo, este método también se puede usar para tratar enfermedades y afecciones en las que los niveles de cortisol no son elevados (p. ej., niveles normales o inferiores a los normales) pero en los que se puede obtener un beneficio terapéutico mediante la reducción de los niveles de cortisol.

Características opcionales adicionales del sujeto

En algunos aspectos de la invención, un paciente al que se trata con la composición farmacéutica de la invención no se le ha diagnosticado y/o no está bajo tratamiento de una infección fúngica. En algunos aspectos de la invención, un paciente al que se trata con la composición farmacéutica de la invención no se le ha diagnosticado y/o no está bajo tratamiento de hipercolesterolemia. En algunos aspectos de la invención, un paciente al que se trata con la composición farmacéutica de la invención no se le ha diagnosticado y/o no está bajo tratamiento de una o más enfermedades, trastornos o afecciones seleccionados independientemente de los siguientes: (1) hiperglucemia, (2) baja tolerancia a la glucosa, (3) resistencia a la insulina, (4) obesidad, (5) un trastorno lipídico, (6) dislipidemia, (7) hiperlipidemia, (8) hipertrigliceridemia, (9) hipercolesterolemia, (10) niveles bajos de HDL, (11) niveles altos de LDL, (12) aterosclerosis, (12) aterosclerosis y sus secuelas, (13) reestenosis vascular, (14) pancreatitis, (15) obesidad abdominal, (16) enfermedad neurodegenerativa, (17) retinopatía, (18) nefropatía, (19) neuropatía, (20) síndrome metabólico, (21) cáncer de próstata, (22) hiperplasia prostática benigna, y (23) otras afecciones y trastornos en los que la resistencia a la insulina es un componente.

Reducción de los niveles de cortisol en un sujeto proporcionando una exposición constante a la 1-acetil-4-[4-[[2-(2,4-diclorofenil)-2-[(1H-imidazol-1-il)-metil]-1,3-dioxolan-4-il]metoxi]fenil]piperazina

En un aspecto, la presente invención proporciona una composición que contiene el enantiómero 2S,4R del ketoconazol, en la que el contenido total de ketoconazol de la composición comprende al menos 80% del enantiómero 2S,4R del ketoconazol, para su uso en un método para reducir los niveles de cortisol en un paciente al que se le ha diagnosticado una afección caracterizada por niveles elevados de cortisol, sin la acumulación significativa de fármaco en el paciente, comprendiendo dicho método proporcionar una exposición constante del paciente a la 1-acetil-4-[4-[[2-(2,4-diclorofenil)-2-[(1H-imidazol-1-il)-metil]-1,3-dioxolan-4-il]metoxi]fenil]piperazina, a lo largo de un periodo de al menos 14 días, opcionalmente al menos 28 días, en el que dicha exposición diaria constante se proporciona mediante la administración de una dosis diaria constante del enantiómero 2S,4R, en el que la afección es hiperglucemia, diabetes o resistencia a la insulina, y el paciente no está sometido a tratamiento de una infección fúngica.

El enantiómero 2S,4R se administra a lo largo de un periodo de al menos 14 días (p. ej., 14 días) y preferiblemente al menos 28 días (p. ej., 28 días). Las dosis del enantiómero 2S,4R se administran diariamente (como una sola o múltiples administraciones diarias).

La acumulación de fármaco o la ausencia de acumulación, se pueden medir determinando el nivel plasmático del fármaco el primer día y midiendo el nivel plasmático del fármaco uno o más días posteriores. Por ejemplo, si se mide el nivel plasmático el primer día, indicado Día 1, se pueden hacer posteriores mediciones el Día 7 y/o Día 14 y/o Día 28, o diariamente durante 1, 2 ó 4 semanas. En una realización, la determinación del nivel plasmático implica medir el AUC de 12 horas o 24 horas. En una realización, el nivel plasmático de cortisol el Día 1 y al menos un día posterior seleccionado del Día 7, Día 14 y Día 28, difieren en menos de aproximadamente 50%, preferiblemente menos de aproximadamente 25%, y a veces menos de 15%. Se apreciará, que guiados por esta descripción, una exposición constante de un sujeto a la 1-acetil-4-[4-[[2-(2,4-diclorofenil)-2-[(1H-imidazol-1-il)-metil]-1,3-dioxolan-4-il]metoxi]fenil]piperazina, también se puede deducir de la administración de dosis que los estudios farmacocinéticos muestran que dan como resultado la exposición constante en un número estadísticamente significativo de sujetos similares.

La exposición constante se proporciona administrando una dosis diaria total constante (en una o más administraciones al día) del enantiómero 2S,4R. En una realización, el sujeto no se ha tratado previamente con ketoconazol racémico o enantiomérico. En una realización, no se ha administrado al sujeto fármaco durante al menos 14 días, al menos 28 días, o al menos 6 meses antes del Día 1. En una realización, el sujeto es un paciente humano. En otra realización, el sujeto es un perro o es una rata Sprague-Dawley.

Terapias de combinación

Por lo tanto, se pueden tratar, controlar, prevenir o retrasar una variedad de enfermedades, trastornos y afecciones con las composiciones farmacéuticas de la invención, incluyendo, pero sin limitación: (1) hiperglucemia, (2) baja tolerancia a la glucosa, (3) resistencia a la insulina, (4) obesidad, (5) trastornos lipídicos, (6) dislipidemia, (7) hiperlipidemia, (8) hipertrigliceridemia, (9) hipercolesterolemia, (10) niveles bajos de HDL, (11) niveles altos de LDL, (12) aterosclerosis, (13) reestenosis vascular, (14) pancreatitis, (15) obesidad abdominal, (16) retinopatía, (17) nefropatía, (18) neuropatía, y (19) síndrome metabólico. En una realización, la invención se pone en práctica en un paciente que recibe simultáneamente otro tratamiento para una o más de estas afecciones.

Como es evidente a partir de las figuras y los ejemplos proporcionados en el presente documento, el enantiómero 2S,4R del ketoconazol no altera la farmacocinética del enantiómero 2S,4R y, por extensión, el enantiómero 2S,4R del ketoconazol no alterará la farmacocinética de otros fármacos que son metabolizados y excretados por las mismas rutas que las usadas por el enantiómero 2S,4R. Por lo tanto, la presente invención proporciona la coadministración

de fármacos que normalmente se coadministran con el ketoconazol racémico sin el riesgo de una farmacocinética aberrante del fármaco coadministrado o del ketoconazol racémico que acompañan a la administración de ketoconazol racémico.

- 5 Las composiciones farmacéuticas de la invención se pueden coadministrar o usar de otra forma en combinación con uno o más fármacos distintos en el tratamiento, prevención, supresión o mejora de las enfermedades, trastornos y afecciones descritos en el presente documento como susceptibles de intervención terapéutica de acuerdo con la invención. Normalmente, la combinación de los fármacos proporcionada por la presente invención es más segura o más eficaz que el fármaco sólo o el fármaco que no es el enantiómero 2S,4R del ketoconazol en combinación con el ketoconazol racémico, o la combinación es más segura o más eficaz de lo que se esperaría basándose en las propiedades aditivas de los fármacos individuales. Dichos otro u otros fármacos se pueden administrar por una vía y en una cantidad usadas habitualmente contemporánea o secuencialmente con una composición farmacéutica de la invención. Cuando una composición farmacéutica de la invención se usa contemporáneamente con uno o más fármacos distintos, se puede usar un producto de combinación que contiene dicho otro u otros fármacos y el enantiómero 2S,4R del ketoconazol, si los dos fármacos activos se pueden formular conjuntamente. La terapia de combinación de acuerdo con los métodos de la invención, también incluye terapias en las que la composición farmacéutica de la invención y uno o más fármacos distintos se administran con esquemas diferentes que se superponen. Se contempla que, cuando se usa en combinación con otros principios activos, la composición farmacéutica de la presente invención o el otro principio activo o ambos, se pueden usar de forma eficaz con dosis menores que cuando se usan solos. Por consiguiente, la composición farmacéutica de la presente invención incluye aquellas que contienen uno o más principios activos diferentes, además del enantiómero 2S,4R del ketoconazol.

Los ejemplos de otros fármacos que se pueden administrar en combinación con la composición farmacéutica de la presente invención, de forma separada, o en algunos casos, en la misma composición farmacéutica, incluyen, pero sin limitación:

- (a) inhibidores de la dipeptidil peptidasa IV (DPP-IV); (b) sensibilizadores de insulina incluyendo (i) agonistas del PPAR γ tales como las glitazonas (p. ej., pioglitazona, rosiglitazona y similares) y otros ligandos del PPAR, incluyendo agonistas duales del PPAR α/γ , tales como KRP-297, y agonistas del PPAR α tales como gemfibrozil, clofibrato, fenofibrato y bezafibrato, y (ii) biguanidas, tales como metformina y fenformina; (c) insulina, análogos de insulina o miméticos de insulina;
- (d) sulfonilureas y otros secretagogos de insulina tales como tolbutamida, glipizida, gliburida, meglitinida, y materiales relacionados; (e) inhibidores de la α -glucosidasa (tales como la acarbosa); (f) antagonistas del receptor de glucagón tales como los descritos en las publicaciones de solicitud de patente PCT nº WO 98/04528, WO 99/01423, WO 00/39088, y WO 00/69810, cada una de las cuales se incorpora en el presente documento por referencia; (g) GLP-1, análogos y miméticos de GLP-1, y agonistas del receptor de GLP-1 tales como los descritos en las publicaciones de solicitud de patente PCT nº WO 00/42026 and WO 00/59887, cada una de las cuales se incorpora en el presente documento por referencia; (h) GIP, análogos y miméticos de GIP, incluyendo, pero sin limitación, los descritos en la publicación de solicitud de patente PCT nº WO 00/58360, incorporada en el presente documento por referencia, y agonistas del receptor de GIP; (i) PACAP, análogos y miméticos de PACAP, y agonistas del receptor 3 de PACAP tales como los descritos en la publicación de solicitud de patente PCT nº WO 01/23420, incorporada en el presente documento por referencia; (j) agentes reductores del colesterol tales como (i) inhibidores de la HMG-CoA reductasa (lovastatina, simvastatina, pravastatina, fluvastatina, atorvastatina, rivastatina, itavastatina, rosuvastatina, y otras estatinas), (ii) secuestrantes (colestiramina, colestipol, y derivados de dialquilaminoalquilo de un dextrano reticulado), (iii) alcohol nicotínico, ácido nicotínico o una de sus sales, (iv) inhibidores de la absorción de colesterol, tales como por ejemplo ezetimiba y β -sitosterol, (v) inhibidores de la acil CoA:colesterol aciltransferasa, tales como por ejemplo avasimiba, y (vi) antioxidantes tales como probucol; (k) agonistas de PPAR δ , tales como los descritos en la publicación de solicitud de patente PCT nº WO 97/28149, incorporada en el presente documento por referencia; (l) compuestos antiobesidad tales como fenfluramina, dexfenfluramina, fentermina, sibutramina, orlistat, inhibidores del neuropéptido Y5, agonistas y antagonistas inversos del receptor CB1, y agonistas del receptor adrenérgico β_3 ; (m) un inhibidor del transportador de ácidos biliares ileales; (n) agentes destinados a usar en afecciones inflamatorias distintos de glucocorticoides, tales como aspirina, fármacos antiinflamatorios no esteroideos, azulfidina, e inhibidores selectivos de la ciclooxigenasa 2, y (o) inhibidores de la proteína tirosina fosfatasa-1B (PTP-1B).

Por lo tanto, se describe una composición farmacéutica que comprende: (1) una cantidad terapéuticamente eficaz del enantiómero 2S,4R del ketoconazol sustancialmente exento del enantiómero 2R,4S; (2) una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto seleccionado del grupo que consiste en: (a) inhibidores de la DPP-IV; (b) sensibilizadores de insulina seleccionados del grupo que consiste en (i) agonistas del PPAR y (ii) biguanidas; (c) insulina y análogos y miméticos de insulina; (d) sulfonilureas y otros secretagogos de insulina; (e) inhibidores de la α -glucosidasa; (f) antagonistas del receptor de glucagón; (g) GLP-1, análogos y miméticos de GLP-1, y agonistas del receptor de GLP-1; (h) GIP, análogos y miméticos de GIP, y agonistas del receptor de GIP; (i) PACAP, análogos y miméticos de PACAP, y agonistas del receptor 3 de PACAP; (j) agentes reductores del colesterol seleccionados del grupo que consiste en (i) inhibidores de la HMG-CoA reductasa, (ii) secuestrantes, (iii) alcohol nicotínico, ácido

nicotínico o una de sus sales, (iv) agonistas del PPAR α , (v) agonistas duales del PPAR α/γ , (vi) inhibidores de la absorción de colesterol, (vii) inhibidores de la acil CoA:colesterol aciltransferasa y (viii) antioxidantes; (k) agonistas de PPAR δ ; (l) compuestos antiobesidad; (m) un inhibidor del transportador de ácidos biliares ileales; (n) agentes antiinflamatorios distintos de glucocorticoides, y (o) inhibidores de la proteína tirosina fosfatasa-1B (PTP-1B); y (3) un portador farmacéuticamente aceptable.

Las composiciones farmacéuticas y terapias de combinación anteriores, incluyen aquellas en las que el enantiómero 2S,4R del ketoconazol sustancial o enteramente exento del enantiómero 2R,4S, o una sal, hidrato o solvato del mismo farmacéuticamente aceptable, se coformula o coadministra con uno o más compuestos activos distintos. Los ejemplos no limitantes incluyen combinaciones del enantiómero 2S,4R del ketoconazol con dos o más compuestos activos seleccionados de biguanidas, sulfonilureas, inhibidores de la HMG-CoA reductasa, agonistas del PPAR, inhibidores de la PTP-1B, inhibidores de la DPP-IV y compuestos antiobesidad.

Por lo tanto, en una realización, la presente invención proporciona una composición farmacéutica para su uso en un método para tratar una afección seleccionada del grupo que consiste en (1) hiperglucemia, (2) baja tolerancia a la glucosa, (3) resistencia a la insulina, (4) obesidad, (5) trastornos lipídicos, (6) dislipidemia, (7) hiperlipidemia, (8) hipertrigliceridemia, (9) hipercolesterolemia, (10) niveles bajos de HDL, (11) niveles altos de LDL, (12) aterosclerosis, (13) reestenosis vascular, (14) pancreatitis, (15) obesidad abdominal, (16) retinopatía, (17) nefropatía, (18) neuropatía, y (19) síndrome metabólico, en un paciente mamífero que necesite dicho tratamiento, como se define en la reivindicación 4, comprendiendo dicho método administrar al paciente cantidades terapéuticamente eficaces de la composición farmacéutica y un compuesto, o la composición farmacéutica que comprende dicho compuesto seleccionado del grupo que consiste en: (a) inhibidores de la DPP-IV; (b) sensibilizadores de insulina seleccionados del grupo que consiste en (i) agonistas del PPAR, y (ii) biguanidas; (c) insulina y análogos y miméticos de insulina; (d) sulfonilureas y otros secretagogos de insulina; (e) inhibidores de la α -glucosidasa; (f) antagonistas del receptor de glucagón; (g) GLP-1, análogos y miméticos de GLP-1, y agonistas del receptor de GLP-1; (h) GIP, análogos y miméticos de GIP, y agonistas del receptor de GIP; (i) PACAP, análogos y miméticos de PACAP, y agonistas del receptor 3 de PACAP; (j) agentes reductores del colesterol seleccionados del grupo que consiste en (i) inhibidores de la HMG-CoA reductasa, (ii) secuestrantes, (iii) alcohol nicotínico, ácido nicotínico y sales de los mismos, (iv) agonistas del PPAR α , (v) agonistas duales del PPAR α/γ , (vi) inhibidores de la absorción de colesterol, (vii) inhibidores de la acil CoA:colesterol aciltransferasa y (viii) antioxidantes; (k) agonistas de PPAR δ ; (l) compuestos antiobesidad; (m) un inhibidor del transportador de ácidos biliares ileales; (n) agentes antiinflamatorios excluyendo glucocorticoides, y (o) inhibidores de la proteína tirosina fosfatasa-1B (PTP-1B).

En otra realización, la presente invención proporciona una composición para su uso en un método para tratar una afección seleccionada del grupo que consiste en hipercolesterolemia, aterosclerosis, niveles bajos de HDL, niveles altos de LDL, hiperlipidemia, hipertrigliceridemia y dislipidemia, en un paciente mamífero que necesite dicho tratamiento, como se define en la reivindicación 6, comprendiendo dicho método administrar al paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de la composición farmacéutica y un inhibidor de la HMG-CoA reductasa. En una realización, el inhibidor de la HMG-CoA reductasa es una estatina. En una realización, la estatina se selecciona del grupo que consiste en lovastatina, simvastatina, pravastatina, fluvastatina, atorvastatina, itavastatina, ZD-4522, rosuvastatina y rivastatina.

En otra realización, la presente invención proporciona una composición para su uso en un método para reducir el riesgo de desarrollar una afección seleccionada del grupo que consiste en hipercolesterolemia, aterosclerosis, niveles bajos de HDL, niveles altos de LDL, hiperlipidemia, hipertrigliceridemia y las secuelas de dichas afecciones, como se define en la reivindicación 12, que comprende administrar a un paciente mamífero que necesite dicho tratamiento, una cantidad terapéuticamente eficaz de la composición farmacéutica y un inhibidor de la HMG-CoA reductasa. En otra realización, la invención proporciona una composición para su uso en un método para retrasar la aparición o reducir el riesgo de desarrollar aterosclerosis en un paciente humano que necesite dicho tratamiento, como se define en la reivindicación 10, comprendiendo dicho método la administración de un inhibidor de la absorción de colesterol en combinación con una estatina inhibidora de la HMG-CoA reductasa y la composición farmacéutica. En una realización, el inhibidor de la absorción de colesterol es un inhibidor de la proteína de transferencia de ésteres de colesterol (CTEP). En otra realización, el inhibidor de la CTEP es ezetimiba.

En otra realización, la invención proporciona una composición para su uso en un método para retrasar el inicio o reducir el riesgo de desarrollar aterosclerosis en un paciente mamífero que necesite dicho tratamiento, como se define en la reivindicación 7, comprendiendo dicho método administrar a dicho paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de la composición farmacéutica y un inhibidor de la HMG-CoA reductasa. En una realización, el inhibidor de la HMG-CoA reductasa es una estatina. En una realización, la estatina se selecciona del grupo que consiste en: lovastatina, simvastatina, pravastatina, fluvastatina, atorvastatina, itavastatina, ZD-4522, rosuvastatina y rivastatina. En una realización, la estatina es la simvastatina.

La invención, de la cual se han descrito antes numerosas realizaciones, se puede apreciar y entender mejor mediante los siguientes ejemplos, que demuestran que el enantiómero 2S,4R es más eficaz que el ketoconazol racémico o el enantiómero 2R,4S en el racemato, en la reducción de la concentración del glucocorticoide activo en el

plasma y no perjudica (o perjudica en una extensión significativamente menor) el metabolismo de fármacos como lo hace el ketoconazol racémico.

EJEMPLOS

5

EJEMPLO 1. Medición de corticoesterona y colesterol después de la administración de ketoconazol racémico y los enantiómeros del ketoconazol

Se determinó el efecto del ketoconazol y de los enantiómeros del ketoconazol en los niveles de corticoesterona en el plasma de ratas Sprague-Dawley. Para los experimentos descritos en la figura 1, se suspendieron los 4 enantiómeros y el ketoconazol racémico en aceite de oliva. Para generar los resultados mostrados en la figura 1, se usaron 5 grupos (8 por grupo) de ratas. Las ratas se mantuvieron en un ciclo de 14/10 horas de luz/oscuridad y se les permitió acceso libre al alimento y al agua. A cada rata se le administró la dosis (200 mg de fármaco/kg de peso corporal) mediante un tubo gástrico. A las ratas en el grupo 1 se les administró vehículo (aceite de oliva), mientras que a las ratas en los otros 4 grupos se les administró uno de los cuatro enantiómeros del ketoconazol como se indica. A todas las ratas se les administró la dosis entre las 2,00 y 3,00 pm y se sacrificaron 4 horas más tarde (entre las 6,00 y 7,00 pm). Se preparó el plasma y la concentración de corticoesterona se determinó mediante ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA). En las ratas, el glucocorticoide activo predominante es la corticoesterona; en los seres humanos, el glucocorticoide activo predominante es la molécula estrechamente relacionada cortisol. Los resultados mostrados en la figura 1, demuestran que, en comparación con el control de vehículo, los dos enantiómeros trans (2S,4S y 2R,4R), cuando se administra a las ratas 200 mg/kg, tienen poco efecto en el nivel de corticoesterona en la sangre. En contraste, ambos enantiómeros cis reducen la corticoesterona, siendo el 2S,4R significativamente más eficaz que el 2R,4S.

Para el experimento resumido en la figura 2, había un grupo de vehículo (aceite de oliva) de 9 ratas, y 15 grupos de 10 ratas/grupo tratados con la dosis especificada de ketoconazol o uno de los dos enantiómeros cis (2S,4R y 2R,4S) del ketoconazol. Las ratas se mantuvieron y se les administró las dosis como se ha descrito antes. Se preparó el plasma y se determinó la concentración de corticoesterona en el plasma por ELISA. Los resultados mostrados en la figura 2 demuestran que hay un efecto dependiente de la dosis tanto para el ketoconazol como para los enantiómeros en los niveles de corticoesterona y que el enantiómero 2S,4R es significativamente más eficaz que el racemato del ketoconazol y que el otro enantiómero cis (2R,4S).

Para el experimento resumido en la figura 3 y la figura 8, había 6 grupos de 10 ratas/grupo que se trataron con vehículo (aceite de oliva), y 18 grupos de 10 ratas/grupo tratados con ketoconazol o uno de los dos enantiómeros cis (2S,4R y 2R,4S) del ketoconazol. Las ratas se mantuvieron como se ha descrito antes; los fármacos se suspendieron en aceite de oliva, y se administró a cada rata una dosis mediante tubo gástrico para alcanzar una dosis de 200 mg/kg. Todas las ratas recibieron la dosis en un tiempo especificado, de modo que todas terminaron entre las 6 y 7 pm. Por ejemplo, las ratas tratadas durante 24 horas recibieron la dosis entre las 6 y 7 pm el día antes del sacrificio, y las ratas tratadas durante 12 horas recibieron la dosis entre las 6 y las 7 pm el día del sacrificio. Después del sacrificio, se preparó el plasma y se determinó la concentración de corticoesterona en el plasma por ELISA. En las mismas muestras de plasma, se determinaron también los niveles de colesterol total. Los resultados mostrados en la figura 3 demuestran que el enantiómero 2S,4R es significativamente más eficaz que el enantiómero 2R,4S en la reducción de la corticoesterona y que esta mayor eficacia persistía durante al menos 24 horas. La eficacia del racemato es intermedia entre los dos enantiómeros. Igualmente, los resultados mostrados en la siguiente tabla demuestran que el 2S,4R era significativamente más eficaz que el enantiómero 2R,4S en la reducción del colesterol. Los resultados muestran que la eficacia del racemato es intermedia entre los dos enantiómeros.

Efecto del ketoconazol racémico y los enantiómeros 2S,4R y 2R,4S en los niveles de colesterol en ratas en el tiempo indicado después de la administración oral de 200 mg del fármaco indicado (o vehículo)

Tiempo (horas)	Niveles de colesterol (media $\pm$ ETM; mg/dl)			
	Vehículo	2S,4R (DIO-902)	2R,4S	Racemato
4	77,3 $\pm$ 3,9	69,6 $\pm$ 1,9	85,1 $\pm$ 7	81,2 $\pm$ 3,9
8	73,5 $\pm$ 0,5	73,5 $\pm$ 3,1	85,1 $\pm$ 5,4	73,5 $\pm$ 2,3
12	69,6 $\pm$ 3,5	77,3 $\pm$ 3,9	77,3 $\pm$ 1,9	69,6 $\pm$ 2,3
16	69,6 $\pm$ 1,9	61,9 $\pm$ 3,1	77,3 $\pm$ 4,6	69,6 $\pm$ 3,1
20	69,6 $\pm$ 1,9	58 $\pm$ 1,2	69,6 $\pm$ 2,7	65,7 $\pm$ 2,7
24	65,7 $\pm$ 2,7	61,9 $\pm$ 3,1	69,6 $\pm$ 1,5	65,7 $\pm$ 3,9

EJEMPLO 2. Medición de la exposición al fármaco después de la administración de ketoconazol racémico y el enantiómero cis del ketoconazol

En este ejemplo, se trataron perros con ketoconazol o solo con el enantiómero 2S,4R, y se determinaron los niveles plasmáticos del correspondiente fármaco.

Farmacocinética del ketoconazol racémico

Se estudiaron dos grupos de perros de 3 machos y 3 hembras por grupo. Se administró a cada perro ketoconazol racémico, y se determinó la concentración de ketoconazol racémico en el plasma de los perros el primer día de la administración y después de 4 semanas de administración diaria. Los dos grupos se diferenciaban en que, en un grupo, el ketoconazol racémico se proporcionó en forma de un polvo seco blanco en una cápsula de gelatina, y en el otro, el ketoconazol racémico se proporcionó en forma de una suspensión en aceite de oliva.

Los perros eran perros beagle criados para este fin obtenidos de Covance Research Products, Inc., Cumberland, VA, EE.UU. Los perros tenían de 4,5 a 5 meses de edad cuando se inició la administración. Los perros se alojaron en jaulas de acero inoxidable suspendidas. El aire acondicionado proporcionaba un mínimo de 10 cambios de aire/hora. La temperatura y la humedad relativa estaban en el intervalo de 18 a 29°C y de 30% a 70%, respectivamente. Con algunas excepciones, cuando se usó el mando manual para estudiar las actividades relacionadas, la luz fluorescente se controló de forma automática para dar un ciclo de 12 horas de luz (07:00-19:00) y 12 horas de oscuridad. Tenían acceso a voluntad a la dieta canina certificada (nº 8727C, Harlan Teklad). El agua se proporcionó a voluntad mediante un sistema de suministro de agua automático. Después de llegar al laboratorio de ensayo, los perros se aclimataron durante 19 días y después se asignaron aleatoriamente, según necesidad, a un grupo de tratamiento usando un procedimiento de bloqueo computerizado, diseñado para lograr el equilibrio de peso corporal. Después de la asignación, se calcularon los pesos corporales medios y se analizaron para asegurarse de que no había diferencias inaceptables entre grupos. Los animales se identificaron individualmente mediante un implante electrónico.

En el primer grupo, se administró a los perros diariamente por suministro oral una cápsula de gelatina (tamaño 13, Torpac, New Jersey, EE.UU.). La cápsula contenía suficiente ketoconazol racémico para proporcionar una dosis de 40 mg de fármaco/kg de peso corporal/día. Las cápsulas se prepararon semanalmente para cada animal basándose en los pesos corporales individuales. Las cápsulas y el fármaco a granel se almacenaron a temperatura ambiente en envases sellados. Para el segundo grupo, las cápsulas de gelatina contenían suficiente ketoconazol racémico suspendido en aceite de oliva para proporcionar una dosis de 40 mg de fármaco/kg de peso corporal/día. Se observó a los animales aproximadamente 1 a 2 horas después de la administración, diariamente, durante todo el experimento. Se tomaron muestras de sangre (1 ml en heparina de litio) de la vena yugular de cada animal el primer día de la administración y otra vez la semana 4 (después de 28 dosis diarias), a 0 (predosis), 1, 2, 4, 8, 12 y 24 horas después de la administración. La semana 4, la muestra predosis se programó para que fuera 24 horas después de la administración del día previo. Las muestras de plasma se almacenaron congeladas a -70°C hasta el análisis. Se analizó en las muestras de plasma el ketoconazol racémico como se describe a continuación, usando ketoconazol racémico como referencia.

Como se muestra en la figura 4, el perfil farmacocinético (concentración en función del tiempo) del ketoconazol racémico en el plasma de perros a los que se administró una sola dosis (y se analizó el plasma a lo largo de las primeras 24 horas después de la administración) disminuyó significativamente comparado con el perfil farmacocinético del ketoconazol racémico en el plasma de perros a los que se administró dosis diarias durante 28 días (y el plasma se ensayó a lo largo de 24 horas después de la última de las 28 dosis). Este efecto se obtuvo en ambos grupos (ketoconazol racémico administrado en forma de un polvo seco y ketoconazol racémico administrado en forma de una suspensión en aceite de oliva). El área bajo la curva (AUC) se calculó usando la regla del trapecioide lineal. El AUC determinada después de una sola administración era significativamente menor en comparación con el AUC determinada después de 28 dosis diarias (véase la figura 5). Otra vez, este efecto se vio en ambos grupos (ketoconazol racémico administrado en forma de un polvo seco y ketoconazol racémico administrado en forma de una suspensión en aceite de oliva).

Farmacocinética del enantiómero 2S,4R

A otro grupo de perros de 3 hembras y 3 machos se les administró el enantiómero 2S,4R del ketoconazol, y se determinó la concentración del enantiómero en el plasma de los perros el primer día de la administración y otra vez después de 4 semanas de administración diaria.

Los perros eran perros beagle criados para este fin obtenidos de Harlanm Bicester, Kent, Inglaterra. Los perros tenían de 4,5 a 5 meses de edad y pesaban entre 6,7 y 8,85 kg cuando llegaron al laboratorio de ensayo. Tenían aproximadamente de 6 a 6,5 meses de edad al comienzo de la administración. Los perros se alojaron en una habitación exclusiva individual, con aire acondicionado para proporcionar un mínimo de 10 cambios de aire/hora. La temperatura y la humedad relativa estaban en el intervalo de 16 a 24°C y de 30% a 80%, respectivamente. Con algunas excepciones, cuando se usó el mando manual para estudiar las actividades relacionadas, la luz fluorescente

se controló de forma automática para dar un ciclo de 12 horas de luz (07:00-19:00) y 12 horas de oscuridad. Los animales se alojaron individualmente durante el día en recintos de 2,25 m², y los animales del mismo grupo experimental y sexo se alojaron durante la noche en recintos de al menos 4,5 m².

- 5 Se dejó a cada animal 400 g de dieta de mantenimiento para perro Harlan Teklad (Harlan, Teklad, Bicester, Inglaterra) y una galleta Winalot Shapes (Friskies Pet Care, Suffolk, Inglaterra) cada mañana después de administrar el ketoconazol o el enantiómero 2S,4R. Se les suministró agua a voluntad mediante un sistema de suministro de agua automático. Se proporcionó diariamente a cada animal un lecho usando copos/virutas de madera limpios (Datesand Ltd. Manchester, Inglaterra). Después de llegar al laboratorio, los perros se aclimataron durante 7
- 10 semanas y después se distribuyeron aleatoriamente, según necesidad, a un grupo de tratamiento basándose en un procedimiento de aleatorización estratificado, usando datos de la camada y los datos de peso corporal más recientes. Después de la asignación, se calcularon los pesos corporales medios y se analizaron para asegurarse de que no había diferencias inaceptables entre grupos. Los animales se identificaron individualmente mediante un implante electrónico.
- 15 Se administró diariamente a 3 perros macho y 3 perros hembra por suministro oral una cápsula de gelatina (tamaño 13, Torpac, New Jersey, EE.UU.). La cápsula contenía suficiente enantiómero 2S,4R para proporcionar una dosis de 20 mg de fármaco/kg de peso corporal/día. Las cápsulas se prepararon semanalmente para cada animal basándose en los pesos corporales individuales. Las cápsulas y el fármaco a granel se almacenaron a temperatura ambiente en
- 20 envases sellados. Se observó a los animales aproximadamente 1 a 2 horas después de la administración, diariamente, durante todo el experimento. Se tomaron muestras de sangre (1 ml en heparina de litio) de la vena yugular de cada animal el primer día de la administración y otra vez la semana 4 (después de 28 dosis diarias), a 0 (predosis), 1, 2, 4, 8 y 24 horas después de la administración. La semana 4, la muestra predosis se programó para que fuera 24 horas después de la administración del día previo. Las muestras de plasma se almacenaron
- 25 congeladas a -70°C hasta el análisis. Se analizó en las muestras de plasma el enantiómero 2S,4R como se describe a continuación, usando ketoconazol racémico como referencia.

Como se muestra en la figura 6, el perfil farmacocinético (concentración en función del tiempo) del enantiómero 2S,4R en el plasma de perros a los que se administró una sola dosis (y se analizó el plasma a lo largo de las

30 primeras 24 horas después de la administración) no era distinguible del perfil farmacocinético del enantiómero 2S,4R en el plasma de perros a los que se administró dosis diarias durante 28 días (y el plasma se ensayó a lo largo de 24 horas después de la última de las 28 dosis). El área bajo la curva (AUC) se calculó usando la regla trapezoidal lineal. El AUC determinada después de una sola dosis no era distinguible del AUC determinada después de 28 dosis diarias (véase la figura 7).

35 Procedimientos de ensayo del ketoconazol

Se establecieron y validaron los ensayos usando el ketoconazol racémico. Se preparó el plasma de los perros tratados con el ketoconazol racémico, el enantiómero 2S,4R o el vehículo de control, mediante procedimientos

40 estándar, y se congelaron a -70°C hasta el ensayo. Para ensayar la concentración de ketoconazol racémico (o del enantiómero 2S,4R), las muestras de plasma se descongelaron y se mezclaron con flujo vortical brevemente, y se tomaron alícuotas de 100 µl. Se añadió una referencia interna (25 µl de clotrimazol, 100 µg/ml, Sigma Aldrich) a las muestras y se mezclaron brevemente. Las muestras se sometieron a extracción en fase sólida usando OASIS HLB (Waters Ltd. 730-740 Centennial Court, Centennial Park, Elstree, Hertsfordshire WD6 3SZ Inglaterra). Los eluatos se

45 evaporaron hasta sequedad bajo una corriente de nitrógeno a 40°C nominales y los residuos se volvieron a disolver en una fase móvil antes del análisis por cromatografía de líquidos con detección con luz ultravioleta.

Las concentraciones del ketoconazol racémico y el enantiómero 2S,4R del ketoconazol en las referencias de calibración y las muestras de estudio, se determinaron usando la regresión por mínimos cuadrados con el recíproco

50 de la concentración (1/x) como carga para mejorar la precisión en niveles bajos. El límite inferior de cuantificación (LLOQ) para el ketoconazol en el plasma de perros era 0,25 µg/ml con linealidad demostrable hasta 25 µg/ml. Los coeficientes de determinación (r²) eran mejores o iguales a 0,99226.

EJEMPLO 3. Formulación y ensayo clínico del enantiómero 2S,4R sustancialmente exento del enantiómero 2R,4S

55 del ketoconazol en la diabetes de tipo 2.

A. Abreviaturas

En este ejemplo se usan las siguientes abreviaturas.

60

Término/ abreviatura	Explicación
ALT	alanina transaminasa
AST	aspartato transaminasa
AUC	área bajo la curva
Bid	dos veces al día

Biw	dos veces a la semana
BUN	nitrógeno ureico en sangre
CV	coeficiente de variación
ELISA	ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas
FDA	Agencia de medicamentos y alimentos
GI	Gastrointestinal
GLP	Buenas prácticas de laboratorio
IND	Nuevo fármaco en investigación (solicitud)
IV	Intravenoso
MedDRA	Diccionario médico para actividades reguladoras (<i>Medical Dictionary for Regulatory Activities</i>)
NDA	Solicitud de nuevo fármaco
NOAEL	nivel sin efecto adverso no observable
PBS	disolución salina tamponada con fosfato
Qd	Diario
Qw	Semanal
RP-HPLC	Cromatografía de líquidos de alta eficacia de fase inversa
SBA	Resumen básico de aprobación
SC	subcutáneo, por vía subcutánea
DT	desviación típica
SDS-PAGE	electroforesis en gel de poliacrilamida-dodecilsulfato sódico
SE-HPLC	Cromatografía líquida de alta eficacia de exclusión por tamaño
USP	Farmacopea de Estados Unidos
WBC	Leucocito

B. Visión general

- En este ejemplo se describe una formulación ilustrativa del enantiómero 2S,4R del ketoconazol sustancialmente exento del enantiómero 2R,4S (en lo sucesivo denominada DIO-902) junto con los datos preclínicos que apoyan su ensayo como un nuevo fármaco en investigación en ensayos clínicos humanos para el tratamiento de la hiperglucemia asociada a la diabetes mellitus de tipo 2. Todas las referencias citadas en el presente documento se incorporan en el presente documento por referencia. Se espera que los beneficios secundarios de este fármaco candidato incluyan menor colesterol LDL y total, menor hipertensión sanguínea y menor adiposidad visceral. El ketoconazol racémico (la mezcla de los dos enantiómeros 2S,4R y 2R,4S) es un fármaco aprobado (NIZORAL®) para el tratamiento de una variedad de infecciones fúngicas. Puesto que el ketoconazol racémico también inhibe la síntesis de cortisol, este fármaco se usa como una terapia no aprobada para pacientes con síndrome de Cushing. En estos pacientes, el ketoconazol racémico reduce la glucosa, colesterol y la presión arterial. Puesto que el cortisol puede ser un factor causal que contribuye al desarrollo de la diabetes de tipo 2, se han llevado a cabo ensayos clínicos con el ketoconazol racémico en estos pacientes. Los resultados de estos ensayos clínicos apoyan el tratamiento de la diabetes de tipo 2 mediante la disminución del cortisol plasmático. Sin embargo, el ketoconazol racémico se ha asociado con el hepatotoxicidad. Los resultados preclínicos apoyan que el DIO-902 puede ser más seguro y más eficaz que la mezcla racémica.
- El DIO-902 es el enantiómero 2S,4R del ketoconazol (2S,4R-cis-1-acetil-4-[4-[[2-(2,4-diclorofenil)-2-(1H-imidazol-1-ilmetil)-1,3-dioxolan-4-il]metoxil]fenil]piperazina). El ketoconazol, un fármaco aprobado, es una mezcla racémica tanto del enantiómero 2S,4R como del enantiómero 2R,4S. El DIO-902 se ha purificado de la mezcla racémica y está mayoritariamente (más de 99%) exento del enantiómero 2R,4S. Se prevé que el efecto farmacológico principal del DIO-902 será a través de la supresión de la síntesis de cortisol, con beneficios secundarios obtenidos por una reducción en la síntesis del colesterol. El DIO-902 se ha formulado en comprimidos de liberación inmediata. La toxicología del DIO-902 se ha ensayado en perros. Con dosis orales de hasta 20 mg/kg/día durante 28 días, el único efecto observado era una reducción en la ingestión de alimento y una reducción del peso corporal y una tendencia a una disminución del colesterol. No había cambios observados en ninguno de los análisis químicos del suero o los parámetros hematológicos medidos. Se han usado dosis individuales mayores en ratas. Con 200 mg de fármaco/kg de peso corporal, el DIO-902 suprime la testosterona al 10% del nivel base. La supresión se produce en las siguientes 4 horas de la administración y los niveles de testosterona vuelven a niveles normales en las siguientes 8 horas. El DIO-902 está disponible por vía oral y alcanza la concentración plasmática máxima entre 2 y 8 horas en perros. El DIO-902 con 200 mg/kg de peso corporal reduce los niveles en el suero del glucocorticoide activo en roedores (corticoesterona) al 25% del nivel base en las siguientes 4 horas de la administración oral. Esta dosis de fármaco también suprime el colesterol plasmático. Por lo tanto, el DIO-902 (2S,4R) es significativamente más potente con respecto a la reducción de la corticoesterona en ratas que el otro enantiómero (2R,4S) y es más potente con respecto a la reducción de colesterol en ratas que el otro enantiómero.

- El DIO-902 no se ha administrado previamente como una única entidad química a pacientes humanos. Sin embargo, esta molécula se ha administrado ampliamente como parte de la mezcla racémica aprobada. Cuando se da a voluntarios normales la mezcla racémica, ambos enantiómeros están disponibles por vía oral, y después de una dosis de 200 mg, se alcanza una concentración plasmática máxima del DIO-902 (aproximadamente 3,6 µg/ml) a las

2 horas. El uso aprobado para la mezcla racémica es para el tratamiento de infecciones fúngicas y la dosis aprobada es 200 mg dos veces al día. Además, se han usado dosis mayores de la mezcla racémica (hasta 2000 mg/día). La mezcla racémica también se ha usado para indicaciones no aprobadas, incluyendo el síndrome de Cushing y el cáncer de próstata. La mezcla racémica puede producir hepatotoxicidad y reduce la testosterona, y la 1,25-dihidroxi-
5 vitamina D.

El criterio de diagnóstico para la diabetes de tipo 2 es la hiperglucemia. Específicamente, la Asociación Americana de la Diabetes reconoce un diagnóstico de diabetes en el que el paciente presenta una de las tres características siguientes: a) un valor de glucosa plasmática casual (en cualquier momento del día o la noche) mayor de 200 mg/dl (11,1 mmol/l) en dos ocasiones separadas en presencia o ausencia de los síntomas de la diabetes (poliuria, polidipsia o pérdida de peso inexplicada), o b) un valor de glucosa plasmática en ayunas (8 horas), mayor de 126 mg/dl (7 mmol/l), o c) un valor de glucosa plasmática mayor de 200 mg/dl (11,1 mmol/l), 2 horas después de una carga oral de glucosa de 75 gramos. Estudios prospectivos han demostrado convincentemente que la hiperglucemia está asociada causalmente con complicaciones microvasculares a largo plazo incluyendo nefropatía y retinopatía. Además del diagnóstico de hiperglucemia, los pacientes con diabetes de tipo 2 tienen una mayor incidencia de hipertensión, hipertrigliceridemia e hipercolesterolemia. Esto aumenta significativamente el riesgo de enfermedades macrovasculares y microvasculares.

El factor de riesgo adquirido más importante para el desarrollo de la diabetes de tipo 2 es la adiposidad, más específicamente la adiposidad visceral. También hay susceptibilidades genéticas. Excepto para un pequeño número de síndromes claramente definidos, tales como la diabetes del adulto de comienzo juvenil (MODY, causada principalmente por mutaciones en el gen que codifica la glucoquinasa) la mayoría de los genes que contribuyen al desarrollo de la diabetes de tipo 2 no se han identificado. Fisiológicamente, la hiperglucemia en pacientes con diabetes de tipo 2 es causada principalmente por la resistencia a la insulina, un fallo relativo de la insulina para estimular la absorción de glucosa y suprimir la producción de glucosa. Esta resistencia a la insulina inicialmente es compensada parcialmente por el aumento de la síntesis de insulina. En muchos pacientes, hay una etapa posterior en la que la producción de insulina disminuye con un empeoramiento significativo de la hiperglucemia. Todavía no existe certeza respecto a la causa de la resistencia a la insulina, con pruebas que apoyan las funciones clave de los lípidos intracelulares y las alteraciones directas en la actividad de las moléculas de señalización de la insulina. La mayor bioactividad de los glucocorticoides también podría ser una causa directa o indirecta de la resistencia a la insulina y el fracaso de las células beta.

Una opción de tratamiento importante en pacientes con diabetes de tipo 2 es la modificación de la dieta, el aumento de ejercicio y la pérdida de peso. Desgraciadamente, aunque eficaz, esta opción ha resultado difícil de implementar. Los productos terapéuticos farmacológicos incluyen metformina, sulfonilureas (y meglitinida y nateglinida que, como las sulfonilureas, aumentan la secreción de insulina), las glitizidas (pioglitazona y rosiglitazona) y la insulina. Aunque eficaz, el control de glucosa sigue sin ser el óptimo. En 2005, en su conferencia anual, la Asociación Americana de Endocrinólogos Clínicos (AACE) anunció una nueva referencia de hemoglobina glicosilada de 6,5% o inferior para los pacientes con diabetes de tipo 2. Esta nueva referencia es parte de un esfuerzo para prevenir las complicaciones de la diabetes. El Dr. Paul Jellinger, actual presidente del Colegio Americano de Endocrinología (ACE), dijo que la AACE ha emprendido este esfuerzo después de que un estudio mostrara que dos tercios de los americanos con diabetes de tipo 2 no están tratando la enfermedad adecuadamente. Además, ninguno de los fármacos aprobados para el control de la glucosa parece dirigirse a la o las causas subyacentes de la resistencia a la insulina y algunos (tales como la insulina y las glitazonas) pueden producir aumento de peso, lo cual puede exacerbar la resistencia a la insulina. Una ventaja del DIO-902 frente a los productos terapéuticos actualmente disponibles, es que se cree que este fármaco se dirige a una de las causas de la diabetes de tipo 2.

Una potencial ventaja adicional del DIO-902 es que se cree que es posible que este fármaco pueda mejorar significativamente otros factores de riesgo cardiovasculares incluyendo la hipercolesterolemia y la hipertensión. La mayoría de los pacientes con diabetes de tipo 2 tienen factores de riesgo cardiovasculares que coexisten, incluyendo la hipertensión, dislipidemia y microalbuminuria (Alexander y col. (2003). "NCEP-defined metabolic syndrome, diabetes, and prevalence of coronary heart disease among NHANES III participants age 50 years and older." *Diabetes* 52(5): 1210-4). Independiente del control glucémico, se ha mostrado que el control de la hipertensión y la microalbuminuria previenen las complicaciones tanto micro como macrovasculares de la diabetes. Además, el control de la dislipidemia contribuye a la reducción del riesgo cardiovascular y puede disminuir el riesgo de desarrollar nefropatía diabética (Bell (2002). "Chronic complications of diabetes." *South. Med. J.* 95(1): 30-4). El ketoconazol racémico reduce la presión arterial y el colesterol en pacientes con síndrome de Cushing (Sonino y col. (1991). "Ketoconazole treatment in Cushing's syndrome: experience in 34 patients." *Clin. Endocrinol. (Oxf)* 35(4): 347-52) y reduce el colesterol en pacientes con hipercolesterolemia (Gylling y col. (1993). "Effects of ketoconazole on cholesterol precursors and low density lipoprotein kinetics in hypercholesterolemia." *J. Lipid. Res.* 34(1): 59-67) y el cáncer de próstata (Miettinen (1988). "Cholesterol metabolism during ketoconazole treatment in man." *J. Lipid Res.* 29(1): 43-51). Los datos obtenidos en el ensayo clínico en fase 2 descrito por el IND 60.874 también apoyan que el ketoconazol racémico reduce el colesterol total y el LDL y la presión arterial en pacientes con diabetes de tipo 2. Los estudios preclínicos descritos aquí y en el ejemplo 1, indican que DIO-902 tendrá actividades mejoradas con respecto a la presión arterial y al colesterol.

Como se ha indicado antes, las opciones de comportamiento y terapéuticas disponibles para pacientes con diabetes de tipo 2 son inadecuadas. Se ha demostrado que los cambios en el estilo de vida son muy difíciles de implementar. Las opciones terapéuticas no se dirigen a la o las causas subyacentes de la enfermedad y algunas terapias, por ejemplo con insulina y glitazonas, pueden exacerbar factores tales como el peso corporal que contribuyen a la resistencia a la insulina subyacente. Además, la mayoría de las opciones terapéuticas reducen uno (hiperglucemia) o como mucho dos (hiperglucemia y la hipertensión o la dislipidemia) de los factores que contribuyen a las complicaciones micro y macrovasculares. Se cree que DIO-902 se dirige a un componente causal importante de la diabetes de tipo 2 (elevada bioactividad del cortisol) y es capaz de tratar la hiperglucemia, hipertensión y dislipidemia en estos pacientes.

Está bien establecido que los glucocorticoides pueden disminuir la sensibilidad a la insulina y aumentar los niveles de glucosa plasmática a través de efectos en el hígado, grasa, músculo y células beta pancreáticas en seres humanos (así como en animales experimentales) (McMahon y col. (1988). "Effects of glucocorticoids on carbohydrate metabolism." *Diabetes Metab. Rev.* 4(1): 17-30). En modelos de roedores, los glucocorticoides son necesarios para el desarrollo de la obesidad, la intolerancia a la glucosa y la diabetes, y en algunos casos la mayor actividad de los glucocorticoides es suficiente para causar la diabetes. En seres humanos, los aumentos patológicos de los niveles de glucocorticoides (como se ve en pacientes con síndrome de Cushing) también pueden producir diabetes. Más recientemente ha habido un reconocimiento cada vez mayor de que los pacientes con tumores suprarrenales casuales (incidentalomas) y aumentos más sutiles de la actividad del cortisol tienen un riesgo significativamente elevado de desarrollo de diabetes, intolerancia a la glucosa, hipertensión, obesidad difusa y dislipidemia (Terzolo y col. (1998). "Subclinical Cushing's syndrome in adrenal incidentaloma." *Clin. Endocrinol. (Oxf)* 48(1): 89-97; Rossi y col. (2000). "Subclinical Cushing's syndrome in patients with adrenal incidentaloma: clinical and biochemical features." *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 85(4): 1440-8).

Hay múltiples publicaciones que sugieren que los pacientes con diabetes de tipo 2 tienen niveles mayores de cortisol plasmático, en particular, en el periodo entre el nadir en el ritmo diurno que se produce alrededor de la medianoche y el aumento de cortisol de madrugada. Cameron (Cameron y col. (1987). "Hypercortisolism in diabetes mellitus." *Diabetes Care* 10(5): 662-4) ha publicado que aunque los niveles de cortisol de 24 horas eran mayores en todos los tiempos de medición en pacientes diabéticos que en los no diabéticos, la diferencia mayor era a las 8 am. Este estudio también examinaba los niveles de cortisol en pacientes diabéticos después de un ensayo de supresión de dexametasona. Después de la ingestión de 1 mg de dexametasona, los niveles de cortisol permanecían significativamente elevados en la madrugada en los pacientes diabéticos pero no en los de control. Igualmente, los niveles de cortisol durante la noche (Lentle y Thomas (1964). "Adrenal Function And The Complications Of Diabetes Mellitus." *Lancet* 14: 544-9; Vakov (1984). "English translation of Circadian rhythm of Cortisol secretion in diabetes mellitus patients.") y la madrugada (Lee y col. (1999). "Plasma insulin, growth hormone, Cortisol, and central obesity among young Chinese type 2 diabetic patients." *Diabetes Care* 22(9): 1450-7) eran mayores en pacientes con diabetes de tipo 2 que en los de control.

Puesto que el cortisol aumentará la presión arterial y la glucosa plasmática, se ha estudiado la relación entre estos parámetros y el cortisol en pacientes con diabetes de tipo 2. Un estudio publicó que en pacientes con diabetes de tipo 2, hay una mayor alteración del ritmo diurno del cortisol en aquellos pacientes con hipertensión comparado con los diabéticos normotensos (Kostic y Secen (1997). "Circadian rhythm of blood pressure and daily hormonal variations" *Med. Pregl.* 50(1-2): 37-40). Un estudio publicó que los pacientes diabéticos que no requerían insulina, con ligero sobrepeso, de inicio en la madurez, tenían niveles de cortisol más altos que los pacientes no diabéticos y que los pacientes diabéticos tenían un ritmo diurno de glucosa claro y que su máximo de glucosa coincidía con el máximo de cortisol (Faiman y Moorhouse (1967). "Diurnal variation in the levels of glucose and related substances in healthy and diabetic subjects during starvation." *Clin. Sci.* 32(1): 111-26). Igualmente, otro estudio publicó una fuerte correlación ($r = 0,82$; $p < 0,01$) entre las concentraciones de cortisol y glucosa a las 8:00 am en pacientes con diabetes de tipo 2 (Atiea y col. (1992). "The dawn phenomenon and diabetes control in treated MDDM and IDDM patients." *Diabetes Res. Clin. Pract.* 16(3): 183-90). Un estudio encontró un aumento en los niveles de cortisol a las 6 am en pacientes diabéticos de tipos 2 relativamente delgados y una correlación ($r = 0,55$; $p < 0,05$) entre el cortisol plasmático y la velocidad de producción de glucosa medida por dilución del trazador (Richardson y Tayek (2002). "Type 2 diabetic patients may have a mild form of an injury response: a clinical research center study." *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 282(6): E1286-90).

La hormona adrenocorticotrópica (ACTH, la hormona hipofisaria que regula la producción suprarrenal de corticoesteroides) también se ha medido en un número menor de estudios. Un estudio examinaba el cortisol y la ACTH en voluntarios normales y en pacientes diabéticos con y sin neuropatía autonómica (AN). Los pacientes diabéticos con AN tenían niveles de HbA1c mayores que los pacientes diabéticos sin AN y también tenían niveles mayores de ACTH y cortisol que ambos pacientes sin AN y los controles (Tsigos y col. (1993). "Diabetic neuropathy is associated with increased activity of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis." *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 76(3): 554-8). El aumento de ACTH en los pacientes diabéticos y con AN comparado con los controles no alcanzó significancia estadística. Un estudio publicó que la ACTH era elevada en pacientes con diabetes de tipo 2 (pero no de tipo 1) (Vermes y col. (1985). "Increased plasma levels of immunoreactive beta-endorphin and corticotropin in non-insulin-dependent diabetes." *Lancet* 2(8457): 725-6).

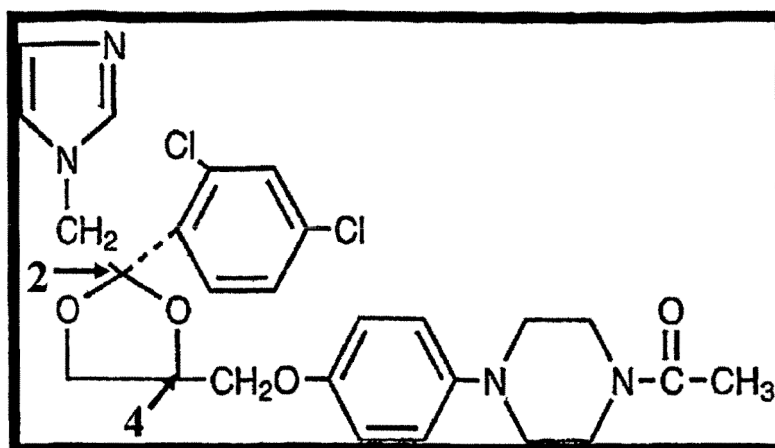
- Al contrario que estos datos correlativos predominantemente positivos, otro estudio (Serio y col. (1968). "Plasma Cortisol response to insulin and circadian rhythm in diabetic subjects." *Diabetes* 17(3): 124-6) publicó niveles plasmáticos normales de cortisol en pacientes diabéticos. Estos pacientes tenían diabetes bastante leve ya que su glucosa estaba controlada solo por la dieta. Igualmente, otro estudio (con un número menor de individuos) no encontró un aumento en los niveles de cortisol circulante en pacientes con diabetes de tipo 2 (Kerstens y col. (2000). "Lack of relationship between 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase setpoint and insulin sensitivity in the basal state and after 24h of insulin infusion in healthy subjects and type 2 diabetic patients." *Clin. Endocrinol. (Oxf)* 52(4): 403-11).
- 10 La intervención farmacológica para reducir el cortisol plasmático ha demostrado ser eficaz en el tratamiento de la diabetes, hipertensión y dislipidemia en pacientes con síndrome de Cushing. Sonino publicó que 34 pacientes con síndrome de Cushing habían reducido su hipercolesterolemia mediante el ketoconazol con dosis entre 400 y 800 mg/día (Sonino y col., 1991, véase antes). Tres pacientes que eran hiperglucémicos pero no eran tratados con ningún medicamento para la diabetes se convirtieron en euglucémicos; de otros tres pacientes hiperglucémicos eran tratados con medicamentos para la diabetes, uno de ellos pudo suspender el fármaco y los otros dos pudieron reducir el uso de sus medicamentos hipoglucémicos. Winquist publicó resultados similares (Winquist y col., 1995, "Ketoconazole in the management of paraneoplastic Cushing's syndrome secondary to ectopic adrenocorticotropin production." *J. Clin. Oncol.* 13(1): 157-64). El ketoconazol también disminuye la hipertensión en la mayoría de los pacientes con síndrome de Cushing (Sonino y col. 1991, véase antes; Fallo y col. (1993). "Response of hypertension to conventional antihypertensive treatment and/or steroidogenesis inhibitors in Cushing's syndrome." *J. Intern. Med.* 234(6): 595-8).
- 15 La reducción farmacológica de la síntesis del cortisol también se ha evaluado en pacientes con diabetes de tipo 2. La metirapona también inhibe la 11 β -hidroxilasa, la etapa final de la síntesis del cortisol, y se ha usado en estudios a corto plazo para determinar si la supresión aguda del cortisol puede tener efectos beneficiosos en la homeostasis de la glucosa. Un estudio (Atiea y col. (1990). "Early morning hyperglycaemia "dawn phenomenon" in non-insulin dependent diabetes mellitus (NIDDM): effects of Cortisol suppression by metyrapone." *Diabetes Res.* 14(4): 181- 5) usó la metirapona para suprimir la elevación normal de madrugada del cortisol y publicó que esta intervención prevenía la elevación normal de glucosa que se produce a lo largo de este periodo de tiempo. Un estudio suprimía la síntesis del cortisol endógeno en pacientes con diabetes de tipo 1 usando metirapona y después infundía cortisol para imitar la elevación nocturna normal de cortisol o producir un nivel base menor de cortisol. En los pacientes con un perfil de cortisol "suprimido" había una tasa significativamente menor de producción de glucosa (Dinneen y col. (1995). "Effects of the normal nocturnal rise in Cortisol on carbohydrate and fat metabolism in EDDM." *Am. J. Physiol.* 268(4 Pt 1): E595-603). La carbenoxolona inhibe la actividad tanto de HSD1 como de HSD2 y por lo tanto reduce la exposición del hígado y la grasa al cortisol. Otro estudio trataba tanto voluntarios normales como pacientes con diabetes de tipo 2 durante 7 días con carbenoxolona (Andrews y col. (2003). "Effects of the 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase inhibitor carbenoxolone on insulin sensitivity in men with type 2 diabetes." *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 88(1): 285-91). Los pacientes con diabetes de tipo 2 (pero no los voluntarios normales) demostraron una disminución de la tasa de producción de glucosa durante una pinza hiperinsulinémica euglucémica hiperglucagonémica. El ketoconazol racémico también se ha probado en pacientes con diabetes de tipo 2. Estos ensayos están de acuerdo con la conclusión de que el uso terapéutico de este fármaco para suprimir la síntesis de cortisol puede tener efectos beneficiosos en la glucosa, tensión arterial y colesterol en pacientes con diabetes de tipo 2. Aunque puede haber un aumento en los niveles o actividad del cortisol en los pacientes con diabetes de tipo 2, se puede obtener un beneficio terapéutico mediante una reducción mayor de los niveles o actividad del cortisol incluso en pacientes con niveles o actividad normales del cortisol.
- Aunque el uso terapéutico del ketoconazol racémico en pacientes con diabetes de tipo 2 ha producido resultados esperanzadores, DIO-902 será tanto más eficaz como más seguro. El DIO-902 tiene una Cl_{50} significativamente menor frente a la enzima clave en la síntesis del cortisol (11 β -hidroxilasa) y una Cl_{50} menor frente a una enzima clave en la síntesis del colesterol (14 α -lanosterol desmetilasa) que las del enantiómero 2R,4S (Rotstein y col. (1992). "Stereoisomers of ketoconazole: preparation and biological activity." *J. Med. Chem.* 35(15): 2818-25), permitiendo, por lo tanto, potencialmente una menor dosis de fármaco para lograr la misma eficacia. Como se demuestra en el ejemplo 1, en ratas, el DIO-902 es más potente con respecto a la reducción de corticoesterona y colesterol que el enantiómero 2R,4S.
- Además, el DIO-902 tiene una Cl_{50} 12 veces mayor frente a CYP7A (Cl_{50} = 2,4 μ M) que el enantiómero 2R,4S (Cl_{50} = 0,195 μ M) (Rotstein y col., 1992, véase antes). Sin querer ligarse a un mecanismo particular, la supresión de CYP7A puede conducir a la colestasis funcional y como consecuencia puede haber acumulación hepática y plasmática de metabolitos potencialmente tóxicos, tales como oxisteroles y bilirrubina y xenobióticos tales como el propio ketoconazol. La inhibición reducida del CYP7A asociada con el DIO-902 (comparado con el ketoconazol racémico) puede dar cuenta, al menos en parte, de la toxicocinética inalterada del DIO-902 observada después de la administración repetida.

Estudios preclínicos han asociado la actividad de glucocorticoides con resistencia a la insulina, hiperglucemia y mayor adiposidad, y estudios clínicos apoyan el fundamento para usar inhibidores de la síntesis de cortisol tales

como el ketoconazol como opciones terapéuticas en pacientes con diabetes de tipo 2. Estudios preclínicos indican que el DIO-902 es más seguro y más eficaz que el ketoconazol racémico.

C. Propiedades físicas, químicas y farmacéuticas de una formulación farmacéutica ilustrativa de la invención - DIO-902

El DIO-902 es el enantiómero 2S,4R del ketoconazol solo y se obtiene del ketoconazol racémico. Se formula usando celulosa, lactosa, almidón de maíz, dióxido de silicio coloidal y estearato magnésico, en forma de un comprimido de liberación inmediata de 200 mg de concentración. El nombre químico es la 2S,4R-cis-1-acetil-4-[4-[[2-(2,4-diclorofenil)-2-(1H-imidazol-1-ilmetil)-1,3-dioxolan-4-il]metoxil]fenil]piperazina, la fórmula es $C_{26}H_{28}Cl_2N_4O_4$, y el peso molecular es 531,44. El número CAS es 65277-42-1, y se proporciona a continuación la fórmula estructural. Los centros quirales están en los átomos de carbono 2 y 4 tal como se marca.



El ketoconazol es un compuesto fungistático que contiene imidazol. El DIO-902 es un comprimido de liberación inmediata para tomar por vía oral y formulado como se muestra en la siguiente tabla.

Componente	Porcentaje
2S,4R-ketoconazol; DIO-902	50%
Celulosa microcristalina silicificada, NF (Prosolv HD 90)	16,5
Lactosa monohidrato, NF (316 Fast-Flo)	22,4
Almidón de maíz, NF (STA-Rx)	10
Dióxido de silicio coloidal, NF (Cab-O-Sil M5P)	0,5
Estearato magnésico, NF	0,6

El fármaco se puede almacenar a temperatura ambiente y se prevé que sea estable durante al menos 2 años a 25°C y 50% de HR. El fármaco se envasa en envases blíster.

D. Estudios no clínicos

1. *Visión general de los estudios no clínicos*

Esta sección contiene información farmacológica y toxicológica tanto del DIO-902 como del ketoconazol racémico. Los estudios farmacológicos han incluido estudios llevados a cabo para demostrar los efectos de supresión de DIO-902 en la síntesis de la corticoesterona, niveles de colesterol y testosterona en el suero en ratas. También se ha investigado la actividad antifúngica de DIO-902 en un estudio in vitro. Los estudios toxicológicos con DIO-902 en perros incluían un estudio MTD, un estudio de 7 días y un estudio de 28 días (con toxicocinéticas). También se han llevado a cabo estudios de genotoxicidad con DIO-902. Debido a que el DIO-902 se purifica a partir del ketoconazol racémico, la seguridad de la mezcla es importante para la de DIO-902. Por lo tanto, esta sección incluye un resumen de los datos de farmacología y toxicología tomados principalmente del resumen básico de aprobación para NDA 18-533 para el ketoconazol oral así como los datos de la bibliografía científica y de un estudio de toxicidad de 28 días en perros.

2. Farmacología no clínica

El efecto farmacológico principal del DIO-902 será a través de la supresión de la síntesis de cortisol. La intervención farmacológica para reducir el cortisol plasmático ha demostrado ser eficaz en el tratamiento de la diabetes,

hipertensión y dislipidemia en pacientes con síndrome de Cushing (Sonino y col. 1991, véase antes; Winqvist y col. 1995, véase antes). Estudios preclínicos han asociado la actividad de glucocorticoides con la resistencia a la insulina, hiperglucemia y mayor adiposidad (para una revisión véase McMahon y col. 1988, véase antes). Los beneficios secundarios de la administración de DIO-902 incluirán menores niveles de colesterol, menor adiposidad visceral y menor tensión arterial.

Una actividad enzimática clave importante para el beneficio terapéutico de DIO-902 es la 11 β -hidroxilasa, una enzima que cataliza la etapa final en la síntesis suprarrenal del cortisol. Se ha mostrado que DIO-902 inhibe esta enzima con una CI_{50} de 0,15 μ M (véase la tabla a continuación). Debido a que en la ratas el glucocorticoide principal es la corticoesterona (en seres humanos el glucocorticoide principal es el cortisol), se investigaron los efectos de supresión de DIO-902 en la síntesis de corticoesterona en ratas. En un estudio, ratas macho Sprague-Dawley (10 por grupo) recibieron una sola dosis por vía oral (por tubo gástrico) de 0, 50, 100, 200, 400 y 600 mg/kg de 2S,4R-ketoconazol (DIO-902), 2R,4S-ketoconazol o ketoconazol racémico, y se sacrificaron 4 horas después. En otro estudio, ratas macho Sprague-Dawley (10 por grupo) recibieron una sola dosis por vía oral (por tubo gástrico) de 0 ó 200 mg/kg de 2S,4R-ketoconazol (DIO-902), 2R,4S-ketoconazol o el racemato, y se sacrificaron 4, 8, 12, 16, 20 y 24 horas después de la administración. Los resultados indicaban que el DIO-902 (el enantiómero 2S,4R) reduce la corticoesterona plasmática y lo hace con mayor potencia que el enantiómero 2R,4S, como se muestra en las siguientes tablas. Para más detalles véase el ejemplo 1.

20 Inhibición por DIO-902 de las enzimas que catalizan la síntesis de glucocorticol

Enzima	CI_{50} para el ketoconazol	CI_{50} para el 2S,4R (DIO-902)	CI_{50} para el 2R,4S	Referencia
17 α -hidroxilasa	0,91	ND	ND	(Ideyama y col. 1999*)
17,20-liasa	0,017	0,05	2,38	(Rotstein y col. 1992, véase antes; Ideyama y col. 1999)
11 β -hidroxilasa	ND	0,15	0,61	(Rotstein y col. 1992)
aromatasa	ND	110	39,6	(Rotstein y col. 1992)

Todos los valores de CI_{50} en la tabla anterior se dan en μ M. Aunque puede haber una sola enzima o un complejo responsable de las actividades tanto de la 17 β -hidroxilasa como de la 17,20-liasa, se han publicado diferentes valores de CI_{50} para varios inhibidores. ND significa datos no disponibles.* Ideyama y col. (1999). "YM116,2-(1H-imidazol-4-ylmethyl)-9H-carbazole, decreases adrenal androgen synthesis by inhibiting C17-20 lyase activity in NCI-H295 human adrenocortical carcinoma cells." *Jpn. J. Pharmacol.* 79(2): 213-20.

En la siguiente tabla, se describe el efecto de los enantiómeros del ketoconazol en los niveles de corticosteroides en ratas. En la tabla, los niveles de corticoesterona (media $\pm$ ETM; ng/ml) se determinaron 4 horas después de la administración oral por sonda del fármaco indicado (N = 10/grupo). Había un solo grupo de control (al que se administra vehículo).

Efecto de los enantiómeros del ketoconazol en los niveles de corticosteroides en ratas

Dosis (mg/kg)	Niveles de corticosteroides (media $\pm$ ETM; ng/ml)		
	2S,4R (DIO-902)	2R,4S	Racemato
0	320 $\pm$ 9,4	320 $\pm$ 9,4	320 $\pm$ 9,4
50	186 $\pm$ 14,9	226 $\pm$ 30,1	215 $\pm$ 20,7
100	139 $\pm$ 10,9	196 $\pm$ 17,2	210 $\pm$ 15,5
200	100 $\pm$ 8,6	217 $\pm$ 25,8	135 $\pm$ 13,7
400	84 $\pm$ 11,6	192 $\pm$ 11,6	113 $\pm$ 6,6
600	80 $\pm$ 7,8	167 $\pm$ 6,8	115 $\pm$ 14,3

La siguiente tabla presenta los datos de un estudio la evolución en el tiempo de la inhibición de la corticoesterona en ratas después de una sola dosis oral de 200 mg/kg de enantiómeros del ketoconazol. Los niveles de corticoesterona (media $\pm$ ETM; ng/ml) se determinaron en los tiempos indicados después de administración oral por sonda del fármaco indicado con 200 mg/kg. Para minimizar el efecto del factor de confusión del ritmo diurno de la corticoesterona, todas las ratas se sacrificaron a la misma hora del día (18:00 horas) y el tiempo de administración del fármaco se determinó para que permitiera esto (N = 10 por grupo). Las medias de los grupos tratados con vehículos se usan como puntos de control de tiempo cero.

45 Evolución en el tiempo de la inhibición de corticoesterona en ratas después de una sola dosis oral de 200 mg/kg de enantiómeros del ketoconazol.

Tiempo (horas)	Niveles de corticosteroides (media $\pm$ ETM; ng/ml)			
	Vehículo	2S,4R (DIO-902)	2R,4S	Racemato
4	298 $\pm$ 15,8	98 $\pm$ 10	191 $\pm$ 14	134 $\pm$ 10
8	374 $\pm$ 17	116 $\pm$ 13	206 $\pm$ 13	163 $\pm$ 11
12	296 $\pm$ 21	113 $\pm$ 8	175 $\pm$ 9	153 $\pm$ 14
16	289 $\pm$ 16	133 $\pm$ 17	171 $\pm$ 9	132 $\pm$ 6
20	323 $\pm$ 26	136 $\pm$ 12	169 $\pm$ 7	147 $\pm$ 17
24	341 $\pm$ 24	103 $\pm$ 14	182 $\pm$ 10	151 $\pm$ 14

Los beneficios secundarios de la administración de DIO-902 incluirán el colesterol LDL y total menores, adiposidad visceral menor, presión arterial menor y actividad antifúngica. El mecanismo de acción para la supresión del colesterol inducida por el DIO-902 así como los estudios farmacológicos que demuestran los efectos del DIO-902 en los niveles de colesterol y testosterona en el suero en ratas se discuten a continuación.

El ketoconazol racémico puede disminuir directamente el colesterol a través de la inhibición de la actividad de la lanosterol 14 α desmetilasa, y el enantiómero 2S,4R tiene una Cl_{50} 2 veces inferior para esta enzima que el otro enantiómero (Rotstein y col., 1992, véase antes). La actividad de disminución del colesterol del enantiómero 2S,4R se espera que aumente más por la menor inhibición de la CYP7A, la enzima principal que controla el catabolismo del colesterol. La menor actividad de la CYP7A (tanto en seres humanos (Pullinger y col. (2002). "Human cholesterol 7 α -hydroxylase (CYP7A1) deficiency has a hypercholesterolemic phenotype." *J. Clin. Invest.* 110(1): 109-17) como en ratones (Erickson y col. (2003). "Hypercholesterolemia and changes in lipid and bile acid metabolism in male and female cyp7A1-deficient mice." *J. Lipid. Res.* 44(5): 1001-9) puede conducir a la hipercolesterolemia, y por lo tanto se espera que la supresión de la CYP7A por el ketoconazol en seres humanos (Pullinger y col. 2002, véase antes) atenúe el efecto de disminución del colesterol de este fármaco. El enantiómero 2S,4R del ketoconazol individual se espera que no reduzca la actividad de la CYP7A en la misma extensión que el ketoconazol racémico. Un estudio demostraba que la Cl_{50} del 2S,4R-ketoconazol (DIO-902) frente a la CYP7A (medido por la actividad de la colesterol 7 α -hidroxilasa) es 2,4 μ M y la Cl_{50} para el 2R,4S-ketoconazol es 0,195 μ M, apoyando que el DIO-902 tiene una Cl_{50} 12 veces mayor frente a la CYP7A que el 2R,4S-ketoconazol (Rotstein y col., 1992, véase antes).

Se llevó a cabo un estudio para demostrar el efecto del DIO-902 en los niveles de colesterol en ratas. En este estudio ratas macho Sprague-Dawley (10 por grupo) recibieron una sola dosis por vía oral (por tubo gástrico) de 0 ó 200 mg/kg de 2S,4R-ketoconazol (DIO-902), 2R,4S-ketoconazol o el racemato, y se sacrificaron 4, 8, 12, 16, 20 y 24 horas después de la administración. Los resultados, descritos en la siguiente tabla, mostraron una pequeña disminución de los niveles de colesterol a las 16, 20 y 24 horas después de tratamiento con el enantiómero 2S,4R, pero no con el racemato o con el otro enantiómero. Los niveles de colesterol (media $\pm$ ETM; mg/dl) se determinaron en los tiempos indicados después de administración oral por sonda del fármaco indicado con 200 mg/kg. Todas las ratas se sacrificaron a la misma hora del día (18:00 horas) y el tiempo de administración del fármaco se determinó de forma adecuada (N = 10/grupo).

Efecto de los enantiómeros del ketoconazol en el colesterol del suero en ratas

Tiempo (horas)	Niveles de colesterol (media $\pm$ ETM; mg/dl)			
	Vehículo	2S,4R (DIO- 902)	2R,4S	Racemato
4	77,3 $\pm$ 3,9	69,6 $\pm$ 1,9	85,1 $\pm$ 7	81,2 $\pm$ 3,9
8	73,5 $\pm$ 0,5	73,5 $\pm$ 3,1	85,1 $\pm$ 5,4	73,5 $\pm$ 2,3
12	69,6 $\pm$ 3,5	77,3 $\pm$ 3,9	77,3 $\pm$ 1,9	69,6 $\pm$ 2,3
16	69,6 $\pm$ 1,9	61,9 $\pm$ 3,1	77,3 $\pm$ 4,6	69,6 $\pm$ 3,1
20	69,6 $\pm$ 1,9	58 $\pm$ 1,2	69,6 $\pm$ 2,7	65,7 $\pm$ 2,7
24	65,7 $\pm$ 2,7	61,9 $\pm$ 3,1	69,6 $\pm$ 1,5	65,7 $\pm$ 3,9

Se llevaron a cabo dos estudios para investigar el efecto del DIO-902 en los niveles de testosterona en ratas. En un estudio, ratas macho Sprague-Dawley (10/grupo) recibieron una sola dosis por vía oral (por tubo gástrico) de 0, 50, 100, 200, 400 y 600 mg/kg de 2S,4R-ketoconazol (DIO-902), 2R,4S-ketoconazol o ketoconazol racémico, y se sacrificaron 4 horas después de la administración. En otro estudio, ratas macho Sprague-Dawley (10/grupo) recibieron una sola dosis por vía oral (por tubo gástrico) de 0 ó 200 mg/kg de 2S,4R-ketoconazol (DIO-902), 2R,4S-ketoconazol o el racemato, y se sacrificaron 4, 8, 12, 16, 20 y 24 horas después de la administración. Los resultados mostrados en las siguientes tablas demuestran que el enantiómero 2S,4R (DIO-902) es más potente en la supresión de la testosterona que el otro enantiómero (2R,4S). Para los resultados mostrados en la siguiente tabla, los niveles de testosterona (media $\pm$ ETM; nmol/l) se determinaron 4 horas después de administración oral por sonda del fármaco indicado (N = 10/grupo). Había un solo grupo de control (a los que se administró vehículo).

Efecto de los enantiómeros del ketoconazol en la testosterona en ratas

Dosis (mg/kg)	Niveles de testosterona (media $\pm$ ETM; nmol/l)		
	2S,4R (DIO-902)	2R,4S	Racemato
0	2,7 $\pm$ 0,5	2,7 $\pm$ 0,5	2,7 $\pm$ 0,5
50	2,6 $\pm$ 0,7	2,5 $\pm$ 0,5	2,7 $\pm$ 0,6
100	0,8 $\pm$ 0,3	1,3 $\pm$ 0,2	1,7 $\pm$ 0,5
200	0,2 $\pm$ 0,1	1,4 $\pm$ 0,4	0,4 $\pm$ 0,2
400	0,3 $\pm$ 0,1	0,7 $\pm$ 0,2	0,4 $\pm$ 0,2
600	0 $\pm$ 0	1,6 $\pm$ 0,3	0,8 $\pm$ 0,1

Para los resultados mostrados en la siguiente tabla, los niveles de testosterona (media $\pm$ ETM; nmol/l) se determinaron en los tiempos indicados después de administración oral por sonda del fármaco indicado con 200 mg/kg. Todas las ratas se sacrificaron a la misma hora del día (18:00 horas) y el tiempo de administración del fármaco se determinó de forma adecuada (N = 10/grupo). Las medias de los grupos tratados con vehículos se usan como puntos de control de tiempo cero. Aunque el 2S,4R es más potente que el 2R,4S con respecto a la supresión aguda de la testosterona, las consecuencias fisiológicas generales se pueden reducir con el 2S,4R frente al 2R,4S. Como se indica en el ejemplo 2, la concentración del enantiómero 2S,4R no aumenta con las dosis repetidas. Esto es al contrario que la concentración de la mezcla racémica, que aumenta con las dosis repetidas. Por lo tanto, con dosis repetidas de la mezcla racémica, la supresión de la testosterona se hará más pronunciada con el tiempo. También como se indica en el ejemplo 3, la concentración de la mezcla racémica 24 horas después de tomar el fármaco aumenta notablemente entre la primera dosis y las posteriores. Por lo tanto la supresión de la testosterona durará progresivamente más tiempo durante el día en el intervalo entre fármacos. Puesto que el enantiómero 2S,4R no inhibe su propia eliminación, el periodo durante el día en el que se suprime la producción de testosterona no se hará progresivamente más largo.

Evolución en el tiempo de la supresión de testosterona después de una sola dosis oral (200 mg/kg) de enantiómeros del ketoconazol en ratas.

Tiempo (horas)	Niveles de testosterona (media $\pm$ ETM; nmol/l)			
	Vehículo	2S,4R (DIO-902)	2R,4S	Racemato
4	3,7 $\pm$ 0,7	0,8 $\pm$ 0,2	3,4 $\pm$ 0,5	1,6 $\pm$ 0,6
8	8,9 $\pm$ 1,4	5,9 $\pm$ 0,8	8,6 $\pm$ 2,0	8,0 $\pm$ 1,0
12	5,4 $\pm$ 1,1	3,4 $\pm$ 0,5	5,6 $\pm$ 1,1	4,6 $\pm$ 0,6
16	5,6 $\pm$ 0,9	3,9 $\pm$ 0,6	5,5 $\pm$ 0,9	3,8 $\pm$ 0,5
20	5,7 $\pm$ 1,0	5,2 $\pm$ 0,6	5,2 $\pm$ 1,1	5,6 $\pm$ 0,8
24	5,5 $\pm$ 0,9	4,4 $\pm$ 0,7	6,0 $\pm$ 1,0	5,9 $\pm$ 0,5

3. Actividad antifúngica

En un estudio in vitro, tanto el DIO-902 como el 2R,4S-ketoconazol presentaron actividad antifúngica como se describe en la siguiente tabla. En este estudio, se incubaron levaduras aisladas con ketoconazol racémico, DIO-902 (2S,4R-ketoconazol), 2R,4S-ketoconazol o disolvente (DMSO) durante 48 horas a 36 $\pm$ 1°C, y se determinó la concentración mínima inhibidora (CMI). La CMI se definió como la concentración más baja que inhibía sustancialmente el crecimiento del organismo (es decir, que producía una disminución notable mayor o igual que 80% de la turbidez comparado con la de los controles).

Actividad antifúngica de DIO-902

Número de cepa DSM	Organismo	CMI (mg/l)		
		Ketoconazol	2R,4S	2S,4R (DIO- 902)
11948	<i>Candida albicans</i>	<0,015	<0,015	<0,015
11944	<i>Candida albicans</i>	<0,015	<0,015	<0,015
11949	<i>Candida albicans</i>	0,125	0,25	0,125
11945	<i>Candida albicans</i>	0,03	0,03	0,03
11943	<i>Candida albicans</i>	<0,015	<0,015	<0,015
11225	<i>Candida albicans</i>	<0,015	<0,015	<0,015
9S-St-00799	<i>Candida albicans</i>	<0,015	<0,015	<0,015
11950	<i>Candida glabrata</i>	0,25	0,25	0,25
11226	<i>Candida glabrata</i>	0,5	0,5	0,5
11947	<i>Candida guilliermondii</i>	0,125	0,25	0,06
11954	<i>Candida kefyr</i>	0,03	0,03	0,03
05784	<i>Candida parapsilosis</i>	0,03	0,06	0,03
11224	<i>Candida parapsilosis</i>	<0,015	0,06	0,03
11952	<i>Candida tropicalis</i>	4	4	2
11953	<i>Candida tropicalis</i>	0,06	0,125	0,06
11951	<i>Candida tropicalis</i>	0,125	0,125	0,06
11960	<i>Cryptococcus neoformans</i>	0,125	0,125	0,125
11959	<i>Cryptococcus neoformans</i>	0,06	0,03	0,03
11956	<i>Issatchenkia orientalis</i>	0,25	0,5	0,25
11958	<i>Issatchenkia orientalis</i>	1	2	1
01333	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	0,25	0,25	0,25

Aunque la actividad antifúngica del enantiómero 2S,4R se ha afirmado sin pruebas, estos resultados demuestran por primera vez, que este enantiómero es sorprendentemente más eficaz como agente antifúngico que el racemato o el enantiómero 2R,4S, contra una variedad de hongos, incluyendo *Issatchenkia orientalis*, *Issatchenkia orientalis*, *Cryptococcus neoformans*, *Candida tropicalis*, *Candida parapsilosis*, *Candida guilliermondii*, y *Candida albicans*, o algunas cepas de los mismos. En una realización, la presente invención proporciona un método para tratar una infección fúngica de uno de estos hongos o cepas de hongos, administrando una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición farmacéutica del enantiómero 2S,4R del ketoconazol sustancialmente exento del enantiómero 2R,4S.

4. Seguridad farmacológica

Se ha estudiado el potencial inhibidor del DIO-902 en la actividad inhibidora de la CYP3A. En este estudio, se mostró que el DIO-902 y el enantiómero 2R,4S del ketoconazol tenían valores de CI_{50} que eran comparables entre sí y con la mezcla racémica, aunque había un pequeño aumento (2X) de la CI_{50} del enantiómero 2S,4R frente a la CYP3A5. Se añadió DIO-902 (0,005-50 μ M para CYP3A4 y 0,01-100 μ M para CYP3A5) a microsomas preparados a partir de hígado humano o a 3A4 y 3A5 recombinantes. Como control positivo y como comparador, también se determinaron las actividades del otro enantiómero (2R,4S) y de la mezcla racémica. El sustrato usado en estos experimentos era la quinona, un sustrato establecido para la CYP3A4 y CYP3A5 (Mirghani y col (2002). "Enzyme kinetics for the formation of 3-hydroxyquinine and three new metabolites of quinine in vitro; 3-hydroxylation by CYP3A4 is indeed the major metabolic pathway." *Drug Metab. Dispos.* 30(12): 1368-71).

Actividad de DIO-902 frente a la hidroxilación de la quinina

	Mezcla de HLM Quinina 160 μ M CI_{50} μ M	rCYP3A4 Quinina 30 μ M CI_{50} μ M	rCYP3A5 Quinina 20 μ M CI_{50} μ M
racemato	0,27	0,12	0,38
2R, 4S	0,37	0,14	0,40
2S,4R (DIO- 902)	0,29	0,10	0,71

HLM: microsomas hepáticos humanos

La bibliografía científica describe la actividad inhibidora del enantiómero 2S,4R en la inhibición del citocromo P450. Un estudio (Rotstein y col., 1992, véase antes) evaluaba la actividad inhibidora de los dos enantiómeros del ketoconazol (2S,4R y 2R,4S-ketoconazol) frente a la hidroxilación de la progesterona, ácido láurico y colesterol, que son marcadores para diferentes enzimas P450. La CI_{50} del enantiómero 2S,4R era ligeramente mayor que la del 2R,4S. La CI_{50} para la inhibición de la CYP3A4 (por la 6 β -hidroxilasa) era similar a la del ketoconazol racémico como publican Swinney, 1990. Específicamente, la CI_{50} para la inhibición del metabolismo de la progesterona 6 β -hidroxilasa en microsomas hepáticos de rata era 1,4 μ M. Debido a la CI_{50} similar para la inhibición de CYP450 3A4 para el enantiómero 2S,4R y el ketoconazol racémico, se espera que el potencial de interacciones del metabolismo

del fármaco de estos dos compuestos sea similar. Sin embargo, como se indica a continuación y en el ejemplo 2, el potencial del DIO-902 para producir un cambio del perfil PK de un fármaco administrado, por una inhibición de la excreción del fármaco, es significativamente menor comparado con el del otro enantiómero.

- 5 En relación con la actividad de la enzima P450, CYP7A (colesterol 7 α -hidroxilasa), los resultados, mostrados en la siguiente tabla, demuestran que la Cl_{50} del enantiómero 2S,4R es aproximadamente 12 veces mayor que la Cl_{50} del enantiómero 2R,4S. La CYP7A es importante en el problema de la interacción de fármacos, porque esta enzima controla la formación de bilis, y por lo tanto, la exposición a los fármacos que normalmente son eliminados a través de la bilis se puede alterar en condiciones de una menor formación y flujo de bilis. Se ha mostrado que el
- 10 ketoconazol racémico inhibe la formación de bilis a través de la inhibición de CYP7A. Se ha mostrado que el ketoconazol racémico reduce el flujo de bilis y la eliminación de metabolitos endógenos (colesterol) y xenobióticos (bromosulfaleína) en la bilis (Princen y col. (1986). "Ketoconazole blocks bile acid synthesis in hepatocyte monolayer cultures and in vivo in rat by inhibiting cholesterol 7 α -hydroxylase." *J. Clin. Invest.* 78(4): 1064-71; Gaeta y Tripodi (1987). "Ketoconazole impairs biliary excretory function in the isolated perfused rat liver." *Naunyn*
- 15 *Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 335(6): 697-700). El que el enantiómero 2S,4R tenga un impacto menor en la farmacocinética de un fármaco (ketoconazol) que normalmente es eliminado por la bilis, puede deberse a la observación de que la Cl_{50} del enantiómero 2S,4R es aproximadamente 12 veces mayor que la Cl_{50} del enantiómero 2R,4S frente a la CYP7A. Como consecuencia de esta menor inhibición de la eliminación del fármaco, el enantiómero 2S,4R disminuirá significativamente el riesgo de daño hepático comparado con el otro enantiómero o la
- 20 mezcla racémica de los dos enantiómeros que constituyen el ketoconazol.

Actividad inhibidora de P450 de los enantiómeros del ketoconazol (Rotstein y col. 1992, véase antes)

Sustrato	Reacción	P450 asociado	Cl_{50} (μ M)	
			2S,4R (DIO-902)	2R,4S
Progesterona	2 α -hidroxilasa	2C11	104	84
Progesterona	6 β -hidroxilasa	3A	1,3	0,79
Progesterona	16 α -hidroxilasa	2B1, 2B2, 1A1, 2C11, 3A	84	69
Progesterona	21-hidroxilasa	2C6	9,0	11,2
Ácido láurico	hidroxilasa	4A	>100	<100
Colesterol	7 α -hidroxilasa	7A	2,4	0,195

25 5. Farmacocinética no clínica.

Se estudió la absorción de DIO-902 (enantiómero 2S,4R) durante un estudio toxicológico de 28 días con perros. En este estudio, se trató a los perros por vía oral con dosis de DIO-902 de 2, 6,5 y 20 mg/kg. Se tomaron muestras de suero después de la 1^a y 28^a dosis diaria del enantiómero 2S,4R. Para comparación, un grupo de perros recibió

30 ketoconazol racémico con una dosis de 40 mg/kg/día durante 28 días. Esta dosis se administró como se planeó durante los primeros 9 días del estudio; sin embargo, debido a la toxicidad, la dosis de 40 mg/kg se suspendió después de 9^o día, y los animales de este grupo se dejaron sin tratamiento durante los siguientes 5 días (días 10 a 14). Empezando el estudio el día 15 y continuando el estudio hasta el día 28, los animales se trataron con 20 mg/kg de ketoconazol. Los parámetros toxicocinéticos se resumen en la siguiente tabla.

35 Los niveles plasmáticos en los perros a los que se administró DIO-902 2 mg/kg/día estaban por debajo de la detección para la mayor parte del perfil de 24 horas. Por lo tanto, no se pudo calcular un AUC precisa para esta dosis. Cuando se calculó el AUC, se basó en los valores que estaban por encima del límite de detección a lo largo del periodo de tiempo de 0 a 12 horas después de la administración (véase la siguiente tabla). Como tal, el AUC de

40 la dosis de 2 mg/kg no se puede comparar de forma fiable con la de los otros niveles de dosis. Los valores del AUC y de $C_{m\acute{a}x}$ con 2, 6,5 y 20 mg/kg eran comparables entre el día 1 y el día 28 para cada nivel de dosis de DIO-902, indicando una acumulación de mínima a nada con la administración repetida. No se vieron diferentes entre sexos en los animales tratados con DIO-902. Los niveles de $C_{m\acute{a}x}$ y AUC en animales tratados con 2 mg/kg o 6,5 mg/kg de DIO-902 eran aproximadamente proporcionales a la dosis. Con los niveles de dosis de 6,5 y 20 mg/kg, el aumento

45 en los niveles del AUC y $C_{m\acute{a}x}$ era mayor que el aumento de la dosis. Los valores de $T_{m\acute{a}x}$ estaban en el intervalo de 1 a 8 horas el día 1 y de 1 a 12 horas el día 28 (véase la segunda de las siguientes tablas).

Para el ketoconazol racémico, el AUC y los niveles plasmáticos de fármaco el día 28 eran notablemente menores que los vistos el día 1 debido a la interrupción de la administración y los niveles de dosis menores administrados. Sin

50 embargo, los valores tanto del AUC como de la $C_{m\acute{a}x}$ disminuyen más que la disminución de la dosis del día 1 al día 28. Por lo tanto, los datos del día 1 y el día 28 para el ketoconazol racémico no se pueden comparar de forma fiable. Cuando se comparan los datos del día 1 para la dosis de ketoconazol de 40 mg/kg con los de la dosis de 20 mg/kg para el DIO-902, los valores del AUC y $C_{m\acute{a}x}$ en los animales tratados con el ketoconazol racémico son aproximadamente el doble que los de los animales tratados con 20 mg/kg de DIO-902. El día 28, los valores del

55 AUC y $C_{m\acute{a}x}$ de los animales tratados con 20 mg/kg de ketoconazol racémico eran sustancialmente menores que los de los animales tratados con 20 mg/kg de DIO-902.

Debido a los problemas discutidos antes con las dosis de ketoconazol racémico, con el fin de comparar, se obtuvieron datos adicionales para el ketoconazol racémico de otro estudio de toxicidad de 28 días en perros. En este estudio, los perros (3/sexo/grupo) se trataron con dosis orales de ketoconazol racémico de 2,5, 10 ó 40 mg/kg en una suspensión en polvo, o con 2,5, 10 ó 40 mg/kg de ketoconazol racémico en una suspensión en aceite una vez al día durante 28 días. Se recogieron muestras toxicocinéticas el día 1 y durante las semanas 2 y 4. Para la comparación con los datos actuales, se presentan los datos del día 1 y el día 28 de la suspensión en polvo de ketoconazol administrada (10 y 40 mg/kg). Los datos de la suspensión en aceite eran similares a la suspensión en polvo. Los valores de $C_{\text{máx}}$ para DIO-902 el día 28 para los perros a los que se administró 20 mg/kg/día eran 9,94 $\mu\text{g/ml}$ y 9,95 $\mu\text{g/ml}$ (véase la segunda de las tablas siguientes). Para la comparación, una dosis de 10 mg/kg de ketoconazol racémico producía una $C_{\text{máx}}$ de 7,52 a 9,20 $\mu\text{g/ml}$ (el día 28) y una dosis de 40 mg/kg conducía a una $C_{\text{máx}}$ de 42,78 a 46,75 $\mu\text{g/ml}$ (el día 28). A diferencia de lo visto con el ketoconazol racémico, es evidente que el AUC y la $C_{\text{máx}}$ para el 2S,4R-ketoconazol (DIO-902) no eran significativamente diferentes el día 28 comparado con el día 1. Se observó un aumento significativo entre el día 1 y el día 28 para el ketoconazol racémico (véase la segunda de las tablas siguientes). Para la siguiente tabla: *Días de tratamiento. El límite de detección era 0,25 $\mu\text{g/ml}$. a: Datos para el ketoconazol racémico. b: Datos para el ketoconazol racémico. Los valores representan la media de 3 animales.

Niveles plasmáticos de fármaco de DIO-902 y ketoconazol racémico en perros después de la administración oral única y repetida

Fármaco	Dosis (mg/kg)	Día *	Sexo	Concentración de fármaco (µg/ml) en el tiempo indicado (horas)					
				0	1	2	4	8	12
DIO-902	2	1	M	<0,25	0,40	0,45	<0,25	<0,25	<0,25
			H	<0,25	<0,25	0,27	0,28	<0,25	<0,25
	2	28	M	<0,25	0,66	0,54	0,38	<0,25	<0,25
			H	<0,25	0,29	0,52	0,30	<0,25	<0,25
	6,5	1	M	<0,25	1,19	1,62	1,25	0,41	0,40
			H	<0,25	<0,25	0,44	2,32	0,50	<0,25
Ketoconazol racémico ^a	6,5	28	M	<0,25	1,17	1,39	1,54	1,33	0,88
			H	<0,25	0,25	1,25	1,85	1,27	0,34
	20	1	M	<0,25	7,05	8,30	6,15	2,92	6,74
			H	<0,25	<0,25	0,65	9,72	9,95	5,44
	20	28	M	1,19	9,13	9,78	8,17	5,86	4,25
			H	2,88	1,78	2,43	6,42	9,83	6,53
Ketoconazol racémico ^b	20	28	M	<0,25	<0,25	0,28	<0,25	<0,25	<0,25
			H	<0,25	<0,25	0,27	0,35	0,31	<0,25
	40	1	M	<0,25	5,60	8,87	10,82	16,63	12,76
			H	<0,25	4,29	12,33	20,09	18,33	14,82
	10	1	M	<0,25	0,38	0,62	1,18	0,33	<0,25
			H	<0,25	1,30	1,23	0,59	<0,25	<0,25
	10	28	M	<0,25	7,53	8,63	6,20	1,44	0,43
			H	<0,25	7,28	7,21	4,39	0,85	<0,25
	40	1	M	<0,25	10,30	14,60	23,09	10,12	6,70
			H	<0,25	5,65	5,76	3,30	1,84	1,55
	40	28	M	3,97	11,90	24,63	32,72	46,75	28,29
			H	12,84	12,28	31,55	38,59	40,45	29,91

Tóxicocinética de DIO-902 en perros después de la administración oral única y repetida

Fármaco	Dosis (mg/kg)	Días de tratamiento	Sexo	AUC ₍₀₋₁₂₎ (µg.h/ml)	C _{máx} (µg/ml)	Intervalo T _{máx} (hora)
DIO-902	2	1	M	2,39*	0,51	1-2
			H	2,57*	0,45	2-4
	2	28	M	3,26	0,68	1-4
			H	2,76*	0,75	1-8
	6,5	1	M	12,23**	2,00	1-4
			H	4,70*	2,57	2-4
	6,5	28	M	14,65	2,01	1-8
			H	12,86	2,41	2-8
	20	1	M	60,59	9,38	1-4
			H	80,63**	14,66	4-8
	20	28	M	80,00	9,94	2-4
			H	77,85	9,95	8-12
Ketoconazol racémico ^a	40	1	M	142,80	16,63	8
			H	185,41	21,28	4-8
	20	28	M	3,42*	0,51	1-8
			H	4,70*	0,55	2-8
Ketoconazol racémico ^b	10	1	M	9,01	1,43	2-4
			H	6,73	1,58	1-8
	10	28	M	44,15	9,20	1-2
			H	33,11	7,52	1-2
	40	1	M	179,82	23,32	2-4
			H	42,94	6,23	2-12
			M	542,28	46,75	8
			H	639,19	42,78	4-8

5 Para la tabla precedente, los datos proporcionados en la primera de las dos tablas precedentes se usaron para obtener los valores de AUC y C_{máx} el primer día de administración y otra vez después de 28 días de administración diaria. Los valores representan la media de 3 animales. *n=1, **n=2. a: Datos para el ketoconazol racémico. b: Datos para el ketoconazol racémico. Los datos de AUC son para 0-24 h.

6. Toxicidad de las dosis repetidas de DIO-902

10

La toxicidad del DIO-902 se ha investigado en perros en un estudio de dosis máxima tolerada, un estudio de 7 días y un estudio de 28 días en perros. La investigación de la DMT y el estudio de 7 días se llevaron a cabo como fases separadas de un solo estudio.

15 En un estudio de la dosis máxima tolerada de acuerdo con GLP, perros beagle (2/sexo) se trataron por vía oral (cápsula) con dosis crecientes (20, 40, 60 y 80 mg/kg) del enantiómero 2S,4R. Como control, un grupo separado de perros de 2 machos y 2 hembras se trató con vehículo. Los animales se trataron con cada dosis durante 3 días antes de aumentar a la siguiente dosis más alta. No hubo muertes durante la fase ascendente. Se observaron signos clínicos con 40 mg/kg (vómitos). Con dosis más altas se observaron sacudidas de la cabeza, temblores, 20 salivación, orina coloreada y heces líquidas. La dosis de 80 mg/kg se abandonó por motivos de bienestar. La ingestión de alimento y la ganancia de peso disminuyeron con todas las dosis.

Después de terminar el estudio de la DMT, los 4 animales que se habían tratado con vehículo se trataron por vía oral (cápsula) con 40 mg/kg del enantiómero durante 7 días. No se incluyó grupo de control. Todos los animales 25 sobrevivieron hasta el sacrificio planificado. Durante la dosis fijada (7 días con 40 mg/kg/día), se notó que un perro estaba adelgazando y se notó que un perro tenía lágrimas. No hubo observaciones después de la administración. El consumo de alimento para los 4 animales disminuyó y los 4 perdieron peso a lo largo del periodo de estudio de 7 días. Los análisis hematológicos sugerían una disminución de reticulocitos (absoluta y relativa) en un perro y una reducción de 20% del número de leucocitos totales. Los niveles medios de ALT en los perros tratados aumentaron 30 en menos de dos veces comparado con la media determinada antes de la administración. No hubo cambio significativo en ninguna de las otras mediciones de enzimas hepáticas. Los descubrimientos macroscópicos en la necropsia estaban limitados a áreas de irritación GI. Podía haber habido un aumento de los pesos del hígado y riñón, pero en ausencia de un control simultáneo, esto no se podía concluir con seguridad.

35 En un estudio de 28 días de acuerdo con GLP, perros beagle (3/sexo/grupo) recibieron dosis orales diarias del enantiómero 2S,4R de 0 (placebo), 2, 6,5 o 20 mg/kg. Se incluyó un grupo de control separado (3/sexo) y se trataron por vía oral con ketoconazol racémico con una dosis inicial de 40 mg/kg/día. Con 40 mg/kg de ketoconazol racémico, las pérdidas de peso corporal significativas (hasta 17,3%) llevaron a suspender la administración después de 9 días. A los perros de este grupo (3/sexo) se les dejó fuera del tratamiento con fármaco durante 6 días y después volvieron

a empezar con 20 mg/kg/día. El perfil toxicocinético tomado a los 28 días indicaba que la $C_{\text{máx}}$ del ketoconazol racémico el día 28 era menos de 5% de la determinada el día 1. Por lo tanto, para la comparación de datos, este grupo no se podía usar con confianza como un comparador. Salvo que se indique otra cosa a continuación, todas las demás referencias a los fármacos y las dosis en este estudio se refieren al enantiómero 2S,4R solo.

5

Los datos toxicocinéticos indicaban que el DIO-902 era absorbido sistémicamente. Con un nivel de dosis de DIO-902 de 2 mg/kg, los niveles plasmáticos de fármaco estaban por debajo del límite de detección en muchos de los tiempos de medición entre 1 y 12 horas después de administración. Por lo tanto, el AUC se calculó usando los datos de los tiempos de medición en los que los niveles plasmáticos de fármaco estaban por encima del límite de detección. Para cada dosis, no se observaron diferencias entre sexos y no se produjo acumulación a lo largo de los 28 días de administración.

Los perros a los que se administró DIO-902 con 20 mg/kg/día comieron aproximadamente 25-35% menos de alimento que los del grupo de control con placebo. Los perros a los que se administró 20 mg/kg/día aumentaron 0,25 kg (machos) y 0,14 kg (hembras) comparado con los perros tratados con placebo que aumentaron 1,1 kg (machos) y 0,9 kg (hembras) de peso corporal. Las tendencias indican que la mayoría de los efectos en el peso corporal eran en las dos primeras semanas del estudio y que al final del estudio los perros a los que se administró la dosis de 20 mg/kg/día estaban aumentando de peso a una velocidad similar que el grupo de control con placebo. La ingestión de alimento también aumentó en el grupo de 20 mg/kg/día aunque todavía estaba por debajo del grupo de control con placebo. Con las dosis intermedias no había efectos evidentes en la ingestión de alimento o el aumento de peso.

No había efectos medibles del DIO-902 con esas dosis en ninguno de los parámetros oftalmológicos o electrocardiográficos que se midieron. Específicamente, en los perros tratados con 20 mg/kg/día de DIO-902, no hubo prolongaciones evidentes del QTc. No se observaron cambios hematológicos. No hubo cambio en los análisis de orina. El único cambio en cualquiera de las mediciones químicas del suero era la reducción del colesterol. Había una tendencia a la disminución de los pesos de los riñones en los perros hembra y una tendencia a un aumento de los pesos relativos (pero no absolutos) de los hígados y glándulas suprarrenales en machos y hembras. No había descubrimientos microscópicos remarcables con ninguna dosis.

30 7. Otros ensayos de toxicidad

No se han llevado a cabo estudios toxicológicos para la función reproductora con DIO-902; sin embargo, la toxicidad para la función reproductora del ketoconazol racémico se ha estudiado extensamente.

Se encontró que el DIO-902 era negativo para la genotoxicidad en un ensayo de Ames y en el ensayo de linfoma de ratón. En el ensayo de Ames, se ensayó el DIO-902 con respecto a la inducción de mutación en 5 cepas diferentes de *Salmonella typhimurium* que requieren histidina. La exposición al DIO-902 no produjo un aumento del número de revertientes repetible y relacionado con la dosis. En el ensayo del linfoma, se estudió el DIO-902 (con y sin activación de S-9) con respecto a la inducción de mutaciones en el locus de la timidina quinasa en células de linfoma L5178Y de ratón. El DIO-902 no indujo mutación de forma reproducible o significativa en el locus de TK en 3 experimentos independientes en ausencia de S-9 y dos experimentos independientes en presencia de S-9 cuando se ensayaron hasta dosis tóxicas.

No se han llevado a cabo estudios de carcinogenicidad con DIO-902. Se ha encontrado que el ketoconazol racémico no es carcinogénico (SBA para NDA 18-533).

Se espera que la administración del enantiómero 2S,4R sustancialmente exento del enantiómero 2R,4S reduzca el riesgo de reacciones hepáticas que se ven a veces después de la administración del ketoconazol racémico (Strieker y col. 1986). "Ketoconazole-associated hepatic injury. A clinicopathological study of 55 cases." *J. Hepatol* 3(3): 399-406; Lake-Bakaar y col. (1987). "Hepatic reactions associated with ketoconazole in the United Kingdom." *Br. Med. J. (Clin. Res. Ed.)* 294(6569): 419-22; Van Cauteren y col. (1990). "Safety aspects of oral antifungal agents." *Br. J. Clin. Pract. Suppl.* 71:47-9; y Rodríguez y Acosta (1997). "Metabolism of ketoconazole and deacetylated ketoconazole by rat hepatic microsomes and flavin-containing monooxygenases." *Drug Metab. Dispos.* 25(6): 772-7). Las reacciones hepáticas inducidas por el ketoconazol normalmente se describen como idiosincrásicas (Strieker y col. 1986, véase antes) que significa que no se conocen el o los mecanismos subyacentes. Se ha demostrado que el ketoconazol racémico inhibe la formación de bilis en ratas a través de la inhibición de la CYP7A (Princen y col. 1986, véase antes). Se ha mostrado que el ketoconazol racémico inhibe la CYP7A humana (Rotstein y col. 1992, véase antes), reduce la síntesis de ácidos biliares por los hepatocitos humanos (Princen y col. 1986, véase antes), e inhibe la producción de ácidos biliares (Miettinen 1988, véase antes) en pacientes tratados. Los autores de la invención creen que un componente clave de la hepatotoxicidad inducida por el ketoconazol es la inhibición de CYP7A. Debido a que DIO-902 tiene una CI_{50} 12 veces mayor frente a CYP7A ($CI_{50} = 2,4 \mu\text{M}$) que el otro enantiómero 2R,4S ($CI_{50} = 0,195 \mu\text{M}$) y no experimenta el aumento dependiente del tiempo de la concentración de fármaco visto en el racemato, el DIO-902 se asociará con una incidencia significativamente menor de reacciones hepáticas. Los dos efectos deberían ser interactivos; es decir, el racemato se acumulará más que el DIO-902, y la mayor acumulación de fármaco del racemato conducirá a un efecto inhibitorio relativo incluso mayor en CYP7A de lo que se infiere de los ensayos con células libres. Las concentraciones de fármaco relevantes alcanzadas en seres humanos, los niveles relativos en el

plasma de los dos enantiómeros, y los valores relativos de la Cl_{50} están de acuerdo con esta expectativa.

E. Farmacocinética de DIO-902 en seres humanos

- 5 Todavía no se han llevado a cabo ensayos clínicos con DIO-902. Sin embargo, el perfil farmacocinético de los enantiómeros individuales después de la primera y la quinta dosis de 200 mg de ketoconazol racémico (dosis dadas cada 12 horas) se ha presentado en póster (Gerber (2003). "Stereoselective pharmacokinetics (PK) of oral ketoconazole (K) in healthy subjects." póster en ACAA). Los datos farmacocinéticos se resumen en la siguiente tabla. La exposición al DIO-902, enantiómero 2S,4R, es aproximadamente 2,5 veces la del enantiómero 2R,4S. No está claro si esto es resultados de la biodisponibilidad o la eliminación. Después de 5 dosis, el AUC y la $C_{m\acute{a}x}$ aumentan para ambos enantiómeros. Puesto que la exposición del enantiómero 2R,4S podría alterar la eliminación de ambos enantiómeros 2S,4R y 2R,4S, este resultado no está necesariamente en desacuerdo con los datos farmacocinéticos obtenidos de los resultados preclínicos obtenidos en perros que recibieron DIO-902, el enantiómero solo. Datos farmacocinéticos (Gerber 2003, véase antes).

	Después de la primera dosis		Después de la quinta dosis	
	DIO-902; 2S,4R	2R,4S	DIO-902; 2S,4R	2R,4S
AUC 0-12 ($\mu\text{g}\cdot\text{min}/\text{ml}$)	302 +/- 38	820 +/- 142	538 +/- 74	1543 +/- 231
T 1/2 (minutos)	133 +/- 14	97 +/- 8	217 +/- 30	158 +/- 19
$C_{m\acute{a}x}$ $\mu\text{g}/\text{ml}$	1,06 +/- 0,13	3,4 +/- 0,44	1,53 +/- 0,19	4,77 +/- 0,55

F. Reacciones hepáticas idiosincrásicas en seres humanos

- Las reacciones hepáticas idiosincrásicas al ketoconazol racémico se han descrito (Strieker y col. 1986, véase antes).
- 20 La descripción de estas respuestas como idiosincrásicas implica que no se entienden claramente el o los mecanismos. Cualquier explicación mecanística coherente debe abarcar el aumento asintomático de las enzimas hepáticas que se produce en un periodo de tiempo corto en 1-10% de los pacientes tratados después de la primera exposición, así como la incidencia relativamente infrecuente de respuestas más graves. No hay pruebas coherentes de la conexión del ketoconazol con los mecanismos mediados inmunitarios.
- 25 Aunque no se ha descrito una relación entre la dosis y la hepatotoxicidad en seres humanos, hay una clara correlación entre el AUC y el daño hepático en conejos (Ma y col. (2003). "Hepatotoxicity and toxicokinetics of ketoconazole in rabbits." *Acta Pharmacol. Sin.* 24(8): 778-82). Estos autores publicaron que en conejos, el ketoconazol 40 mg/kg inducía cambios morfológicos en los hepatocitos y un aumento de las enzimas hepáticas en el suero. Esta dosis es comparable a la dosis más alta ensayada en un estudio de un año con perros. Otros han estudiado la hepatotoxicidad aguda in vitro (Rodríguez y Acosta 1997, véase antes, y Rodríguez y Acosta (1997). "N-deacetyl ketoconazole-induced hepatotoxicity in a primary culture system of rat hepatocytes." *Toxicology* 117(2-3): 123-31). En estos estudios, se cultivaron hepatocitos de rata en presencia de dosis crecientes de ketoconazol (hasta 200 μM) durante tiempos en el intervalo de 0,5 horas a 4 horas. Estos autores encontraron que había tanto un componente de dosis como de tiempo con la liberación de lactato deshidrogenasa (LDH). En el tiempo más largo de exposición estudiado (4 horas) no había un efecto detectable del ketoconazol con concentraciones inferiores a 75 μM (39 $\mu\text{g}/\text{ml}$). A partir de modelos animales preclínicos también se sugiere que los metabolitos del ketoconazol (específicamente el ketoconazol desacetilado (DAK)) son un inhibidor mitocondrial más potente que el ketoconazol (Rodríguez y Acosta (1996). "Inhibition of mitochondrial function in isolated rat liver mitochondria by azole antifungals." *J. Biochem. Toxicol.* 11(3): 127-31). La Cl_{50} in vitro para la inhibición por el DAK de la succinato deshidrogenasa es 350 μM (en comparación con la $C_{m\acute{a}x}$ del ketoconazol no metabolizado de 12,3 μM después de una dosis de 400 mg en seres humanos (Huang y col., (1986). "Pharmacokinetics and dose proportionality of ketoconazole in normal volunteers." *Antimicrob. Agents Chemother.* 30(2): 206-10). Es posible que estos y efectos directos relacionados del ketoconazol (y los metabolitos) puedan conducir a una reacción idiosincrásica si hubiera 45 pacientes que fueran significativamente más susceptibles que la población general.

El material proporcionado aquí y en el ejemplo 2 indican que un componente clave de la hepatotoxicidad inducida por el ketoconazol es la inhibición de CYP7A. Debido a que DIO-902 tiene una Cl_{50} 12 veces mayor frente a la CYP7A ($Cl_{50} = 2,4 \mu\text{M}$) que el otro enantiómero 2R,4S ($Cl_{50} = 0,195 \mu\text{M}$) (Rotstein y col. 1992, véase antes) y no experimenta el aumento dependiente del tiempo de la concentración de fármaco visto para el racemato, el DIO-902 se asociará con una incidencia significativamente menor de reacciones hepáticas. Como se ha indicado antes, los dos efectos deberían ser interactivos; es decir, el racemato se acumulará más que el DIO-902, y la mayor acumulación de fármaco del racemato conducirá a un efecto inhibitorio relativo incluso mayor en CYP7A de lo que se infiere de los ensayos con células libres. La inhibición de la CYP7A por el ketoconazol racémico puede producir una 55 reacción hepática indirecta a través de la síntesis reducida de ácidos biliares y la consiguiente reducción del flujo biliar y aumento de los metabolitos potencialmente tóxicos. El ketoconazol puede además exacerbar este proceso aumentando directamente el nivel de oxisteroles potencialmente hepatotóxicos.

El ketoconazol racémico inhibe la formación de bilis en ratas por la inhibición de la CYP7A (Princen y col., 1986, véase antes) (la síntesis de bilis es bloqueada cuando se usa el colesterol como sustrato, pero no cuando se usa el

7 α -colesterol como sustrato). La inhibición de la síntesis de ácidos biliares por el ketoconazol es un efecto directo en los hepatocitos (Whiting y col., (1989). "Bile acid synthesis and secretion by rabbit hepatocytes in primary monolayer culture: comparison with rat hepatocytes." *Biochim. Biophys. Acta* 1001(2): 176-84). El flujo biliar también es reducido por el ketoconazol y la eliminación de los metabolitos endógenos (colesterol) (Princen y col. 1986, véase antes) y xenobióticos ((bromosulfoftaleína (Gaeta y Tripodi 1987, véase antes)) a la bilis es menor. Puesto que el ketoconazol es excretado a la bilis, se podría anticipar que el ketoconazol puede inhibir su propia eliminación y conducir a mayores concentraciones plasmáticas. Este aumento de la concentración de fármaco se ha observado en seres humanos y en perros. Que la inhibición de CYP7A produce colestasis funcional (menor síntesis de ácidos biliares y flujo biliar) está de acuerdo con el reconocimiento de que la CYP7A es la etapa limitante de la velocidad en la síntesis de ácidos biliares, y parece que la síntesis de ácidos biliares es limitante de la velocidad para el flujo biliar. En seres humanos, la ausencia genética de CYP7A funcional produce una disminución grande en los ácidos biliares fecales (Pullinger y col. 2002, véase antes) y en ratones, la ausencia genética de CYP7A puede producir colestasis (Arnon y col. (1998). "Cholesterol 7-hydroxylase knockout mouse: a model for monohydroxy bile acid-related neonatal cholestasis." *Gastroenterology* 115(5): 1223-8).

La relación entre la inhibición de CYP7A, la colestasis y el daño hepático también está de acuerdo con otros modelos de roedores que no usan ketoconazol como una herramienta experimental. Por lo tanto, la colestasis inducida por el etinilestradiol en ratas se correlaciona con la supresión del flujo biliar, el contenido de ácidos biliares hepáticos, y el contenido de colesterol hepático. El epomediol previene la colestasis inducida por el etinilestradiol y produce significativas inversiones (aunque pequeñas) de estas tres mediciones. La actividad de CYP7A era suprimida por el etinilestradiol y volvía a la normalidad con el epomediol (Cuevas y col. (2001). "Effect of epomediol on ethinylestradiol-induced changes in bile acid and cholesterol metabolism in rats." *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* 28(8): 637-42). El ketoconazol inhibe la CYP7A en microsomas humanos, reduce la síntesis de ácidos biliares por los hepatocitos humanos (Princen y col. 1986, véase antes) e inhibe la producción de ácidos biliares (Miettinen 1988, véase antes) en los pacientes tratados. La colestasis funcional puede producir daño hepático posterior por la menor eliminación de metabolitos exógenos tales como los oxisteroles (a continuación) y bilirrubina y por la menor eliminación de metabolitos exógenos tales como el ketoconazol.

Además del impacto más amplio de la inhibición mediada por el ketoconazol de la CYP7A indicado antes, puede haber un efecto más específico a través de la menor eliminación de los oxisteroles. Los oxisteroles (esteroides hidroxilados) se forman como precursores del colesterol o por la posterior hidroxilación del colesterol. Son eliminados por el hígado por la conversión en ácidos biliares o la solubilización en la bilis. La enzima humana más abundante que puede iniciar la conversión de los oxisteroles en ácidos biliares es la CYP7A (Norlin y col. (2000). "Oxysterol 7 α -hydroxylase activity by cholesterol 7 α -hydroxylase (CYP7A)." *J. Biol. Chem.* 275(44): 34046-53), y como se ha indicado antes, el ketoconazol puede inhibir esta enzima así como aumentar los niveles de algunos oxisteroles (Miettinen 1988, véase antes). Si la conversión falla o disminuye el flujo biliar, los oxisteroles se pueden acumular y se puede producir daño hepático. Los oxisteroles son citotóxicos para una variedad de tipos de células incluyendo las líneas celulares de hepatoma (Hietter y col. (1984). "Antagonist action of cholesterol towards the toxicity of hydroxysterols on cultured hepatoma cells." *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 120(2): 657-64; Leighton y col. (1991). "Activation of the silent endogenous cholesterol-7- α -hydroxylase gene in rat hepatoma cells: a new complementation group having resistance to 25-hydroxycholesterol." *Mol. Cell Biol.* 11(4): 2049-56; O'Callaghan y col. 1999). "Oxysterol-induced cell death in U937 and HepG2 cells at reduced and normal serum concentrations." *Eur. J. Nutr.* 38(6): 255-62). Más específicamente, un estudio ha publicado que las células de hepatoma de rata H35 mueren en presencia del oxisterol 25-hidroxicolesterol y que la resistencia al 25-hidroxicolesterol se puede producir por la expresión de CYP7 humana. El ketoconazol anula esta resistencia mediada por la CYP7 (Leighton y col. 1991, véase antes).

La magnitud de la disminución de la síntesis de ácidos biliares y el aumento de los oxisteroles después de la inhibición de la CYP7A mediada por el ketoconazol, dependerá del nivel de CYP7B (oxisterol 7 α -hidroxilasa). Puesto que CYP7B está bajo el control genético y fisiológico (Ren y col. (2003). "Regulation of oxysterol 7 α -hydroxylase (CYP7B1) in the rat." *Metabolism* 52(5): 636-42; Jakobsson y col. (2004). "A functional C-G polymorphism in the CYP7B1 promoter region and its different distribution in Orientals and Caucasians." *Pharmacogenomics* 4(4): 245-50), es probable que haya un espectro de actividades en la población humana, y se puede esperar que, en alguna proporción de los pacientes tratados con ketoconazol, el nivel de CYP7B sea insuficiente para compensar la supresión de CYP7A mediada por el ketoconazol. Se sabe que insuficiente CYP7B puede causar daño hepático si la actividad de CYP7A está significativamente reducida. En el extremo de esta insuficiencia, una falta completa de CYP7B puede ser mortal. Por lo tanto, un estudio publicó el daño hepático mortal que se desarrolló en un bebé que carecía de una copia funcional de CYP7B. Se sugirió que el daño hepático se produjo como un efecto tóxico directo así como de la inhibición de la formación de ácidos biliares y, posiblemente, de una inducción de estrés oxidante. Los oxisteroles que se acumulaban no podían ser metabolizados por la CYP7A porque esta enzima no es expresada en bebés (Setchell y col. (1998). "Identification of a new inborn error in bile acid synthesis: mutation of the oxysterol 7 α -hydroxylase gene causes severe neonatal liver disease." *J. Clin. Invest.* 102(9): 1690-703).

Las observaciones hechas en pacientes humanos tratados con ketoconazol, requieren una explicación de por qué solo un subconjunto de pacientes desarrolla un aumento leve transitorio de enzimas hepáticas en el suero y un

- subconjunto incluso menor desarrolla una reacción más grave. Es posible que, en la primera exposición al ketoconazol, la CYP7A sea inhibida, la formación y flujo de bilis se reducen y empiezan a acumularse los oxisteroles y otros metabolitos potencialmente tóxicos. En la mayoría de los pacientes, la CYP7B es expresada en niveles suficientes o es inducida rápidamente de forma suficiente para que el daño hepático no sea detectable. Se ha demostrado que en ausencia completa de CYP7A la ruta alternativa para la síntesis de ácidos biliares es favorecida (Pullinger y col. 2002, véase antes). En este modelo, en aproximadamente 1%-10% de los individuos, la CYP7B es expresada en niveles menores y/o la inducción de CYP7B es retrasada, y como consecuencia, se producen daños hepáticos poco importantes. Sin embargo, entonces la CYP7B estaría favorecida, y el daño está limitado y se resuelve incluso en la exposición continuada al ketoconazol. En un número menor de pacientes, la inducción de CYP7B puede ser insuficiente para compensar la inhibición de CYP7A, y se produce un daño hepático más grave. En los pacientes particularmente susceptibles, la inhibición de CYP7A mediada por el ketoconazol podría conducir a la acumulación de ketoconazol y a concentraciones de fármaco que son suficientemente altas para iniciar toxicidades directas.
- Es importante observar que a pesar de que el ketoconazol es un fármaco antifúngico importante disponible en el comercio y que las reacciones hepáticas causadas por el ketoconazol pueden ser potencialmente mortales, no hay publicaciones en la bibliografía de ninguna prueba que conecte directamente el ketoconazol con reacciones hepáticas a través de una inhibición de la CYP7A, y no hay publicaciones en la bibliografía que sugieran que el enantiómero 2S,4R sería un fármaco más seguro basándose en la menor Cl_{50} de este enantiómero frente a la CYP7A. La patente de EE.UU. 6.040.307 describe un procedimiento para determinar si un fármaco podría inducir hepatotoxicidad, que usa microsomas hepáticos obtenidos de tejido congelado. Sin embargo, la hepatotoxicidad solo se puede medir usando hepatocitos vivos intactos, preferiblemente en un animal vivo.

- El material proporcionado aquí y en el ejemplo 3 proporciona un mecanismo internamente coherente para las reacciones hepáticas causadas por el ketoconazol racémico. Debido a que DIO-902 tiene una Cl_{50} 12 veces menor frente a CYP7A que el enantiómero 2R,4S, los pacientes tratados con DIO-902 tendrán una incidencia significativamente menor de reacciones hepáticas. Las concentraciones de fármaco relevantes alcanzadas en seres humanos, los niveles relativos en el plasma de los dos enantiómeros, y los valores de Cl_{50} relativos están de acuerdo con esta posibilidad. Se ha obtenido el perfil farmacocinético para los dos enantiómeros después de 5 dosis de 200 mg dos veces al día del racemato. Para el enantiómero 2R,4S, la Cl_{50} frente a la CYP7A es 0,195 μ M, y si la concentración intrahepática del fármaco es aproximadamente 20% de la concentración plasmática total de fármaco (Venkatakrishnan y col. (2000). "Effects of the antifungal agents on oxidative drug metabolism: clinical relevance." *Clin. Pharmacokinetic* 38(2): 111-80), entonces el enantiómero tendrá que alcanzar una concentración plasmática total de 1 μ M (aproximadamente 0,5 μ g/ml) para inhibir eficazmente la CYP7A intrahepática. Esto está dentro de las concentraciones de este enantiómero después de administración de 200 mg del racemato. A diferencia de esto, DIO-902 tiene una Cl_{50} de 2,4 μ M. Por lo tanto, suponiendo una biodisponibilidad del fármaco similar, la concentración plasmática total necesaria para que DIO-902 inhiba la CYP7A significativamente sería 12 μ M (aproximadamente 6,3 μ g/ml). Incluso con la exposición significativamente mayor para DIO-902, la $C_{m\acute{a}x}$ de este enantiómero es solo 65% de este nivel, y por lo tanto, no es probable que la CYP7A sea inhibida por el DIO-902 en estas dosis.

G. Estudio clínico de DIO-902

- Se puede llevar a cabo un ensayo de fase 1 en pacientes con diabetes mellitus de tipo 2 para investigar la seguridad y tolerabilidad de DIO-902. A continuación se proporciona una sinopsis de dicho ensayo. Dicho ensayo sería el primer estudio clínico humano del enantiómero 2S,4R del ketoconazol administrado sustancialmente exento del enantiómero 2R,4S. El objetivo principal es evaluar la seguridad y tolerabilidad de 14 dosis diarias del enantiómero 2S,4R en sujetos con diabetes de tipo 2. Los objetivos secundarios son determinar el perfil farmacocinético (PK) en el plasma del enantiómero 2S,4R después de una sola administración y después de 14 dosis diarias. Además, se mide la actividad farmacocinética de 14 dosis diarias del enantiómero 2S,4R, reflejada en los cambios en la presión arterial, colesterol, cortisol plasmático y salival, globulina que se une a cortisol, medidas de control glucémico (fructosamina, seguimiento continuo de glucosa, niveles de insulina y glucosa en la sangre en ayunas) y ácidos grasos libres plasmáticos.
- Se estudian siete (7) grupos de dosis. Se incluyen 6 sujetos en cada grupo de dosis. Los grupos de dosis son los siguientes:
- ketoconazol 400 mg v.o. diarios
 - enantiómero 2S,4R 200 mg v.o. diarios
 - enantiómero 2S,4R 400 mg v.o. diarios
 - enantiómero 2S,4R 600 mg v.o. diarios
 - enantiómero 2S,4R 800 mg v.o. diarios
 - enantiómero 2S,4R 400 mg v.o. dos veces al día
 - Placebo v.o. diario
- La dosis de ketoconazol se basa en la dosis máxima recomendada en la etiqueta del producto para usar en

infecciones fúngicas. Los niveles de dosis del enantiómero 2S,4R que se estudian se basan en el conocimiento de que 50% del ketoconazol racémico es el enantiómero 2S,4R, en la amplia experiencia clínica con el ketoconazol racémico con dosis significativamente mayores que las recomendadas en la etiqueta del fármaco, perfiles toxicocinéticos del ketoconazol racémico y el enantiómero 2S,4R en perros, y un estudio toxicológico de 28 días del enantiómero 2S,4R en perros. El enantiómero 2S,4R y el ketoconazol racémico se suministran como comprimidos de 200 mg para la administración oral. También se suministran los comprimidos de placebo concordantes tanto con los comprimidos del enantiómero 2S,4R como los comprimidos del ketoconazol racémico.

10 Todas las publicaciones y documentos de patentes (patentes, solicitudes de patentes publicadas y solicitudes de patentes no publicadas) citadas en el presente documento se incorporan en el presente documento por referencia, como si se indicara específica e individualmente que se incorpora cada una de dichas publicaciones o documentos por referencia en el presente documento.

REIVINDICACIONES

1. Una composición que contiene el enantiómero 2S,4R del ketoconazol, en la que el contenido total de ketoconazol de la composición comprende al menos 80% del enantiómero 2S,4R del ketoconazol, para su uso en un método para tratar, retrasar el inicio, o reducir el riesgo de desarrollar una enfermedad o afección asociados con los niveles o actividad elevados del cortisol, sin la acumulación significativa de fármaco en el sujeto al que se administra el enantiómero 2S,4R del ketoconazol, en el que dicha enfermedad o afección se seleccionan de hiperglucemia, diabetes, hiperinsulinemia, hipertensión, resistencia a la insulina, diabetes mellitus de tipo 2, síndrome metabólico, obesidad, aterosclerosis, baja tolerancia a la glucosa, trastornos lipídicos, reestenosis vascular, pancreatitis, obesidad abdominal, retinopatía, nefropatía y neuropatía.
2. La composición de la reivindicación 1, en la que dicha obesidad es obesidad visceral u obesidad centrípeta.
3. La composición de la reivindicación 1, en la que dicho trastorno lipídico se selecciona del grupo que consiste en dislipidemia, hiperlipidemia, hipertrigliceridemia, hipercolesterolemia, HDL bajo y LDL alto.
4. La composición de cualquier reivindicación anterior, en la que un compuesto seleccionado del grupo que consiste en: (a) inhibidores de la DPP-IV; (b) sensibilizadores de insulina seleccionados del grupo que consiste en (i) agonistas del PPAR, y (ii) biguanidas; (c) insulina y análogos y miméticos de insulina; (d) sulfonilureas y otros secretagogos de insulina; (e) inhibidores de la α -glucosidasa; (f) antagonistas del receptor de glucagón; (g) GLP-1, análogos y miméticos de GLP-1, y agonistas del receptor de GLP-1; (h) GIP, análogos y miméticos de GIP, y agonistas del receptor de GIP; (i) PACAP, análogos y miméticos de PACAP, y agonistas del receptor 3 de PACAP; (j) agentes reductores del colesterol seleccionados del grupo que consiste en (i) inhibidores de la HMG-CoA reductasa, (ii) secuestrantes, (iii) alcohol nicotínico, ácido nicotínico y sales de los mismos, (iv) agonistas del PPAR α , (v) agonistas duales del PPAR α/γ , (vi) inhibidores de la absorción de colesterol, (vii) inhibidores de la acil CoA:colesterol aciltransferasa y (viii) antioxidantes; (k) agonistas de PPAR δ ; (l) compuestos antiobesidad; (m) un inhibidor del transportador de ácidos biliares ileales; (n) agentes antiinflamatorios excluyendo los glucocorticoides; y (o) inhibidores de la proteína tirosina fosfatasa-1B (PTP-1B), se administra de forma contemporánea o secuencial con el enantiómero.
5. Un producto que contiene el enantiómero 2S,4R del ketoconazol, en el que el contenido total de ketoconazol del producto comprende al menos 80% del enantiómero 2S,4R del ketoconazol y un compuesto seleccionado del grupo que consiste en: (a) inhibidores de la DPP-IV; (b) sensibilizadores de insulina seleccionados del grupo que consiste en (i) agonistas del PPAR, y (ii) biguanidas; (c) insulina y análogos y miméticos de insulina; (d) sulfonilureas y otros secretagogos de insulina; (e) inhibidores de la α -glucosidasa; (f) antagonistas del receptor de glucagón; (g) GLP-1, análogos y miméticos de GLP-1, y agonistas del receptor de GLP-1; (h) GIP, análogos y miméticos de GIP, y agonistas del receptor de GIP; (i) PACAP, análogos y miméticos de PACAP, y agonistas del receptor 3 de PACAP; (j) agentes reductores del colesterol seleccionados del grupo que consiste en (i) inhibidores de la HMG-CoA reductasa, (ii) secuestrantes, (iii) alcohol nicotínico, ácido nicotínico y sales de los mismos, (iv) agonistas del PPAR α , (v) agonistas duales del PPAR α/γ , (vi) inhibidores de la absorción de colesterol, (vii) inhibidores de la acil CoA:colesterol aciltransferasa y (viii) antioxidantes; (k) agonistas de PPAR δ ; (l) compuestos antiobesidad; (m) un inhibidor del transportador de ácidos biliares ileales; (n) agentes antiinflamatorios excluyendo los glucocorticoides, y (o) inhibidores de la proteína tirosina fosfatasa-1B (PTP-1B), como una preparación combinada para la administración contemporánea o secuencial a un sujeto, para su uso en un método para tratar, retrasar el inicio o reducir el riesgo de desarrollar una enfermedad o afección como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3.
6. La composición de la reivindicación 4 o el producto de la reivindicación 5, en el que la composición o el producto es para tratar una enfermedad o afección seleccionados del grupo que consiste en hipercolesterolemia, aterosclerosis, niveles bajos de HDL, niveles altos de LDL, hiperlipidemia, hipertrigliceridemia y dislipidemia, y dicho compuesto es un inhibidor de la HMG-CoA reductasa.
7. La composición de la reivindicación 4 o el producto de la reivindicación 5, en el que la composición o el producto es para retrasar el inicio o para reducir el riesgo de desarrollar aterosclerosis en un paciente humano y dicho compuesto es un inhibidor de la HMG-CoA reductasa.
8. La composición o el producto de las reivindicaciones 6 ó 7, en el que el inhibidor de la HMG-CoA reductasa es una estatina.
9. La composición o el producto de la reivindicación 8, en el que la estatina se selecciona del grupo que consiste en lovastatina, simvastatina, pravastatina, fluvastatina, atorvastatina, rosuvastatina, itavastatina, ZD-4522 y rivastatina.
10. La composición o el producto de las reivindicaciones 8 ó 9, en el que la composición o el producto es para retrasar el inicio o reducir el riesgo de desarrollar aterosclerosis en un paciente humano, en el que dicho

producto comprende además un inhibidor de la absorción de colesterol o se administra también un inhibidor de la absorción de colesterol.

11. La composición o el producto de la reivindicación 10, en el que el inhibidor de la absorción de
5 colesterol es ezetimiba.

12. La composición de la reivindicación 4 o el producto de la reivindicación 5, en el que la composición o
el producto es para reducir el riesgo de desarrollar una afección seleccionada del grupo que consiste en
hipercolesterolemia, aterosclerosis, niveles bajos de HDL, niveles altos de LDL, hiperlipidemia, hipertrigliceridemia y
10 dislipidemia, o las secuelas de dichas afecciones, y dicho compuesto es un inhibidor de la HMG-CoA reductasa.

13. Una composición que contiene el enantiómero 2S,4R del ketoconazol, en la que el contenido total de
ketoconazol de la composición comprende al menos 80% del enantiómero 2S,4R del ketoconazol, para su uso en un
método para tratar la depresión, síndrome de Cushing, glaucoma, accidente cerebrovascular, deterioro cognitivo,
15 demencia, secreción de insulina reducida, presión intraocular elevada, insuficiencia renal o enfermedad
cardiovascular prematura, sin acumulación de fármaco significativa en el sujeto al que se administra el enantiómero
2S,4R del ketoconazol.

14. Una composición que contiene el enantiómero 2S,4R del ketoconazol, en la que el contenido total de
20 ketoconazol de la composición comprende al menos 80% del enantiómero 2S,4R del ketoconazol, para su uso en un
método para reducir los niveles de cortisol en un paciente al que se ha diagnosticado una afección caracterizada por
niveles elevados de cortisol, sin acumulación significativa del fármaco en el paciente, comprendiendo dicho método
proporcionar una exposición constante del paciente a la 1-acetil-4-[4-[[2-(2,4-diclorofenil)-2-[(1H-imidazol-1-il)-metil]-
1,3-dioxolan-4-il]metoxi]fenil]piperazina, a lo largo de un periodo de al menos 14 días, opcionalmente al menos 28
25 días, en el que dicha exposición diaria constante se proporciona mediante la administración de una dosis diaria
constante del enantiómero 2S,4R, en el que la afección es hiperglucemia, diabetes o resistencia a la insulina, y el
paciente no está sometido a tratamiento para una infección fúngica.

15. La composición de la reivindicación 14, en la que el periodo de al menos 14 o al menos 28 días
30 empieza el día 1, y la 1-acetil-4-[4-[[2-(2,4-diclorofenil)-2-[(1H-imidazol-1-il)-metil]-1,3-dioxolan-4-
il]metoxi]fenil]piperazina no se ha administrado al paciente durante al menos 28 días, opcionalmente 6 meses, antes
del día 1.

16. La composición o el producto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 15, en el que el contenido
35 total de ketoconazol de la composición o el producto comprende al menos 90% del enantiómero 2S,4R del
ketoconazol.

17. La composición o el producto de la reivindicación 16, en el que el contenido total de ketoconazol de la
composición o el producto comprende al menos 99% del enantiómero 2S,4R del ketoconazol.

40 18. La composición o el producto de la reivindicación 17, en el que el contenido total de ketoconazol de la
composición o el producto comprende al menos 99,5% del enantiómero 2S,4R del ketoconazol.

19. La composición o el producto de la reivindicación 18, en el que el contenido total de ketoconazol de la
45 composición o el producto comprende al menos 99% del enantiómero 2S,4R del ketoconazol.

FIGURA 1

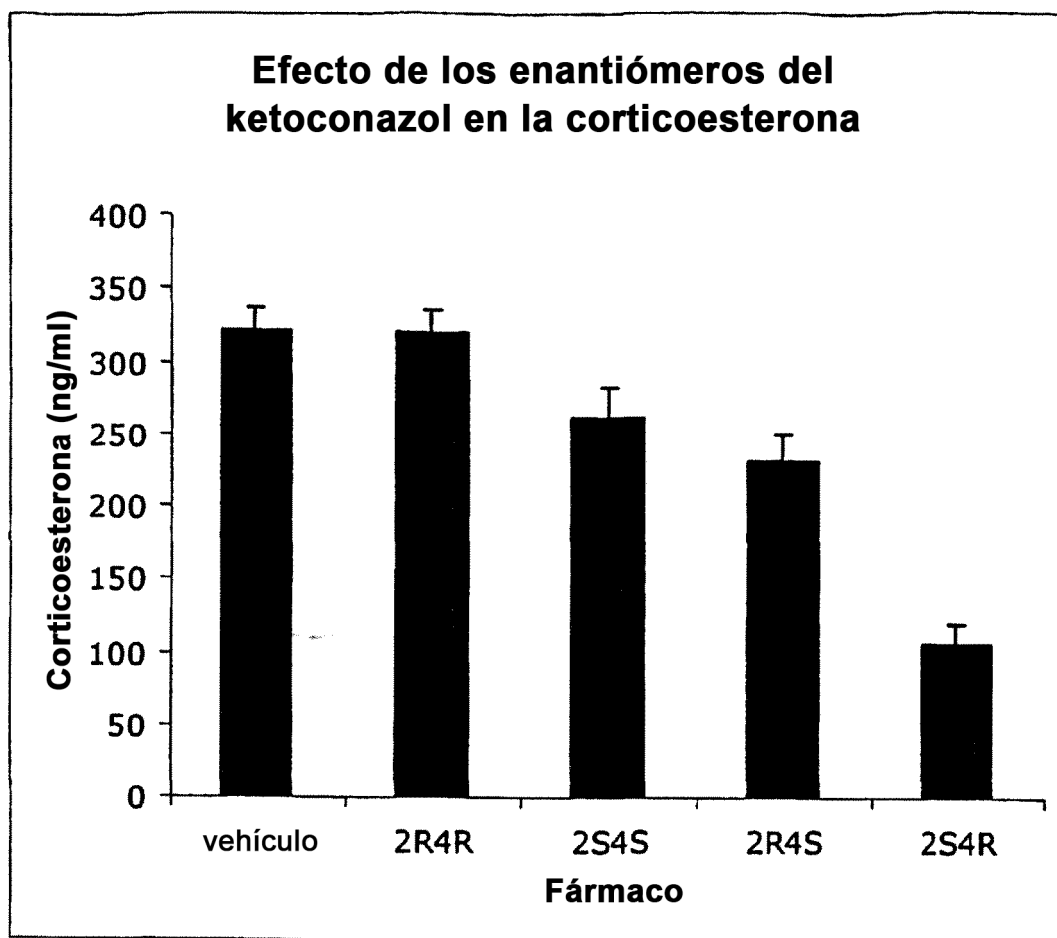


FIGURA 2

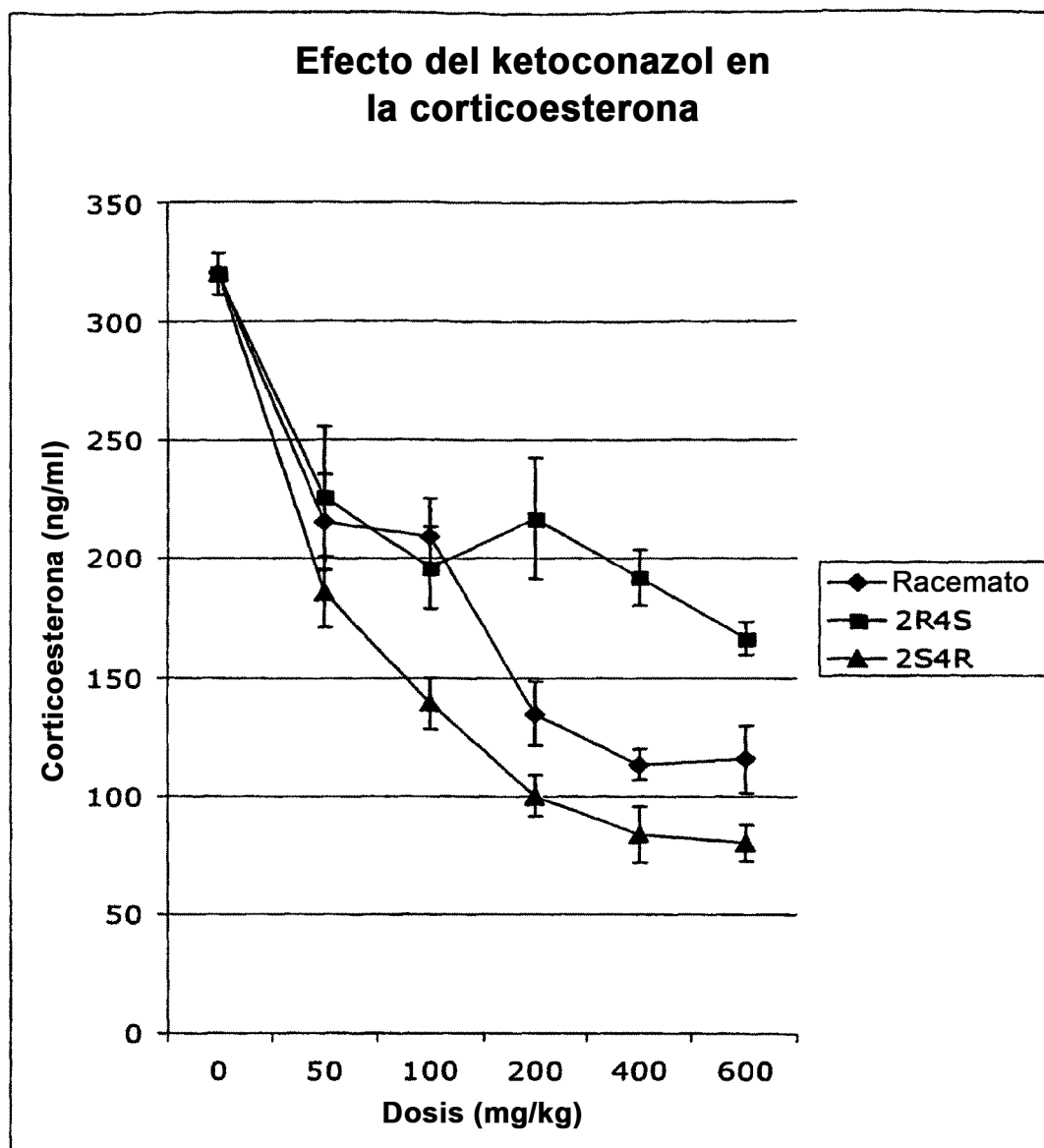


FIGURA 3

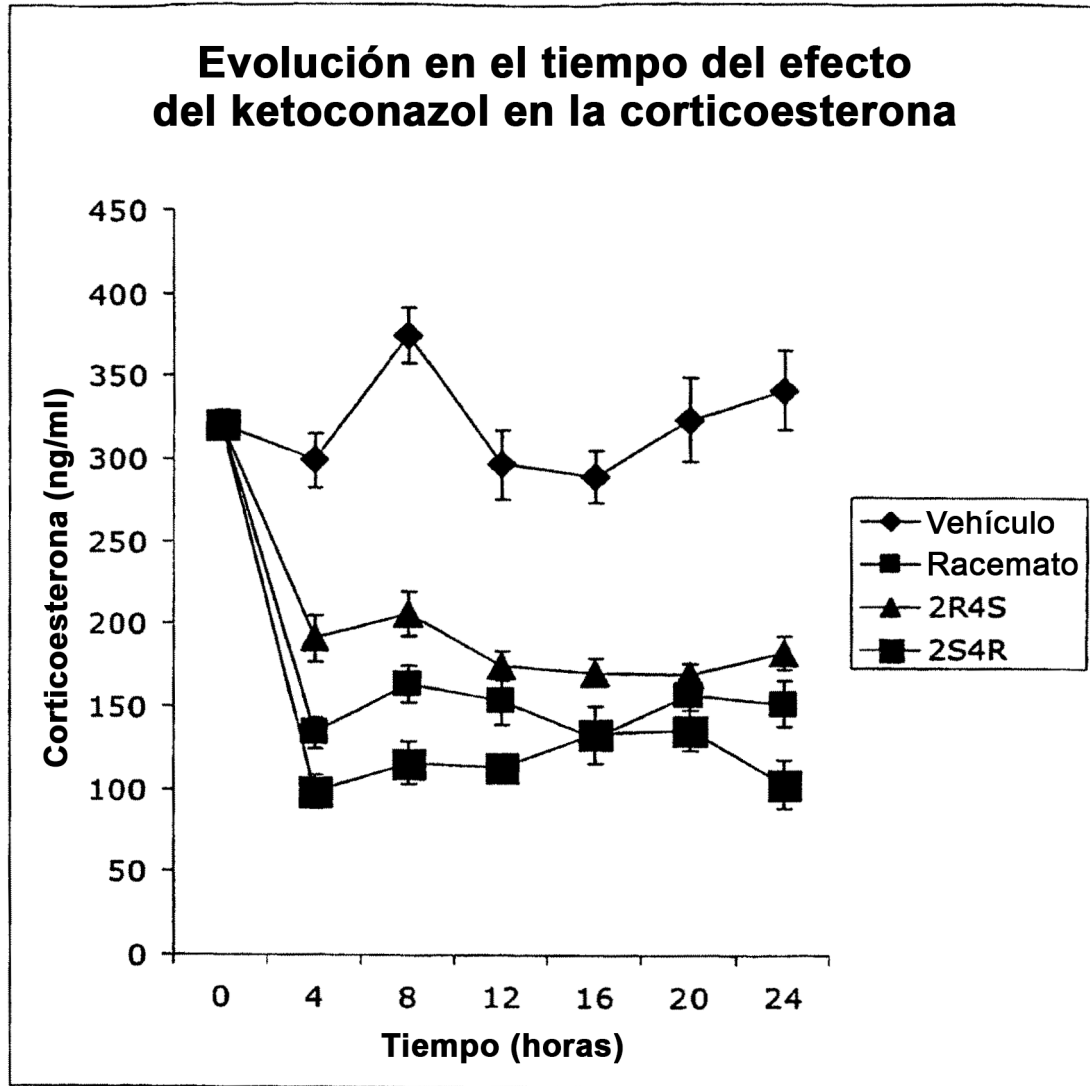


FIGURA 4

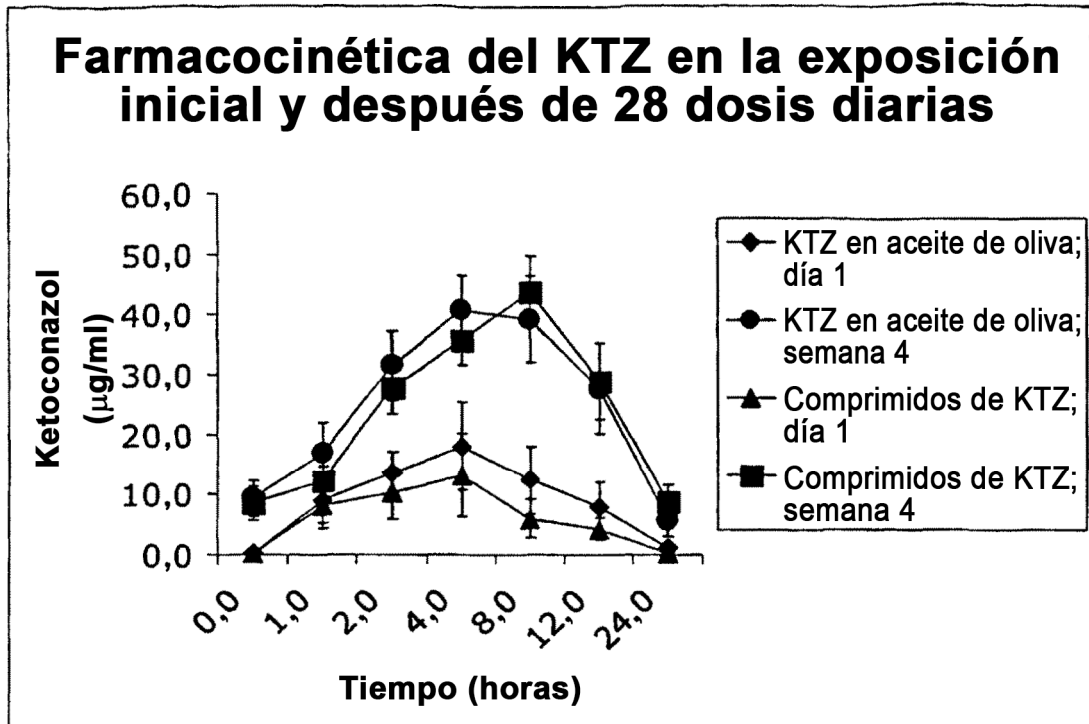


FIGURA 5

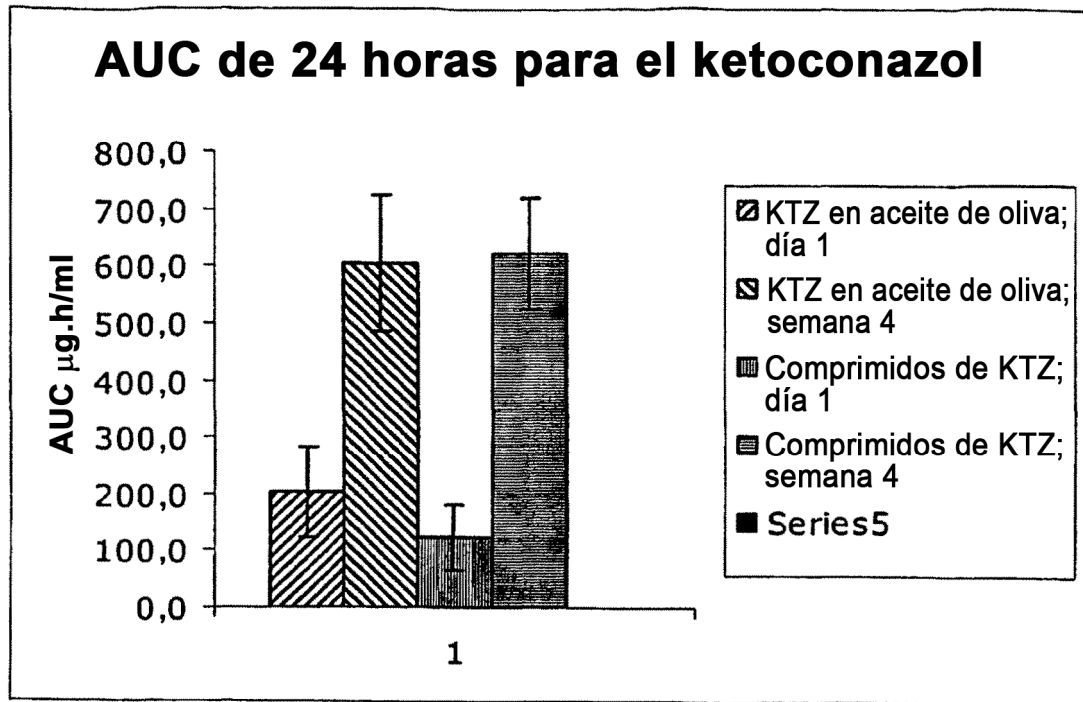


FIGURA 6

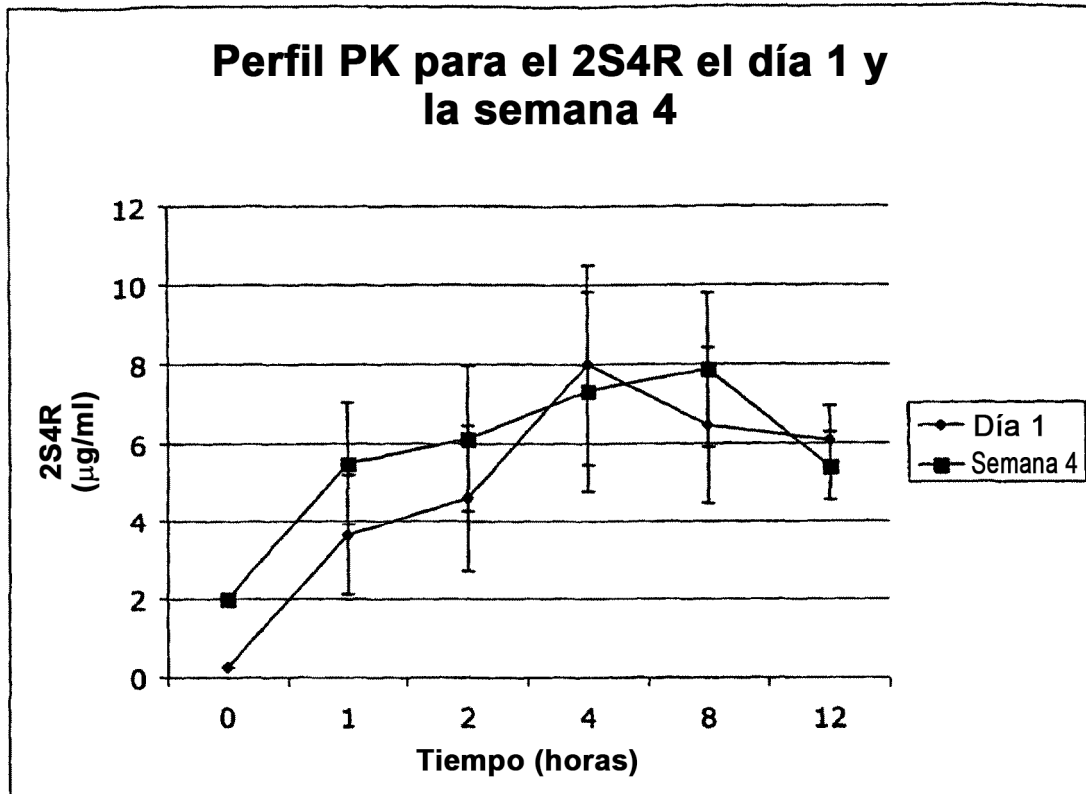


FIGURA 7

