

**INHIBIDOR DE PROTEÍNA DE TRANSFERENCIA DEL ÉSTER DE
COLESTERILO (CETP) Y COMPOSICIONES FARMACÉUTICAS QUE
COMPRENDEN EL INHIBIDOR PARA USO EN EL TRATAMIENTO O
PREVENCIÓN DE ENFERMEDADES CARDIOVASCULARES**

5

CAMPO DE LA INVENCION

La presente invención se refiere a un inhibidor de proteína de transferencia del éster de colesterol (CETP) y una preparación farmacéutica que comprende el inhibidor de CETP para el uso en el tratamiento de sujetos que padecen de o que tienen un riesgo incrementado de enfermedades cardiovasculares, en particular hiperlipidemia o dislipidemia mezclada.

15

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

Estudios epidemiológicos prospectivos han mostrado una fuerte asociación entre niveles de lipoproteína-colesterol de baja densidad (LDL-C) y riesgo de enfermedad cardiovascular (CVD) (1). La aplicación subsecuente de la terapia de estatina para disminuir estos niveles de LDL-C aterogénicos ha dado por resultado una reducción marcada de morbilidad relacionada con CVD y mortalidad: cada disminución de 1 mmol/L en LDL-C da por resultado una reducción de 22% estimada de eventos de CVD y una reducción de 10% de

mortalidad por todas las causas (2). A pesar de estos beneficios impresionantes, persiste una gran carga de enfermedad residual que tiene un gran impacto en pacientes tanto individuales así como en costos de salud globales (3).

5 Se requieren agentes terapéuticos novedosos para reducir adicionalmente este riesgo de CVD residual en los pacientes.

Un nuevo procedimiento que reduce el LDL-C y eleva los niveles de HDL-C es inhibir la Proteína de Transferencia del Éster de Colesterol (CETP). La CETP es una proteína
10 plasmática secretada principalmente por el tejido hepático y adiposo. La CETP media la transferencia de ésteres de colesterilo de HDL a las partículas que contienen apolipoproteína B (Apo B) (principalmente LDL y VLDL) en el intercambio de triglicéridos, disminuyendo de esta manera el
15 contenido de colesterol en el HDL en favor de aquel en (V)LDL. Por consiguiente, la inhibición de CETP se ha hecho la hipótesis de que retiene los ésteres de colesterilo en HDL-C y disminuye el contenido de colesterol de la fracción Apo B aterogénica.

20 A pesar de la evidencia que respalda el potencial de inhibición de CETP en reducir la morbilidad cardiovascular, no ha sido sencillo el desarrollo clínico de inhibidores de CETP. El primer compuesto para progresar a los ensayos clínicos de fase 3 fue el torcetrapib que se dosificó a 60

mg. El torcetrapib mostró que incrementa la HDL-C por 72% y disminuye la LDL-C por 25%, pero se retiró subsecuentemente de desarrollo debido a problemas de seguridad incluyendo un incremento inesperado en los eventos cardiovasculares y muerte cuando estuvo en combinación con la atorvastatina, comparada con la atorvastatina sola (11).

Aunque el mecanismo de esos eventos no se entiende completamente, existe una evidencia creciente que podría haber sido debido a los efectos inespecíficos del torcetrapib tal como presión sanguínea incrementada, cambios en los electrolitos (incremento en el sodio y bicarbonato y disminuciones en el potasio) e incrementos en la aldosterona, consistente con la actividad mineralocorticoide (11,12,13,14,15). También existe alguna evidencia de estudios animales que el torcetrapib incrementa la expresión de endotelina-1, que se ha postulado por haber contribuido al incremento evidente (no significativo) en las muertes de cáncer en el ensayo ILLUMINATE (16,17). Estas observaciones se podrían relacionar con la dosis relativamente alta de torcetrapib.

Subsecuentemente, otro inhibidor de CETP, dalcetrapib, ingresó en los ensayos clínicos de 2b. El Dalcetrapib mostró que es un inhibidor débil que incrementó la HDL-C por 30-40% con efectos mínimos en las concentraciones de LDL-C pero no

pareció que mostrara los efectos inespecíficos del torcetrapib (18,19,20). Recientemente, el desarrollo de dalcetrapib también se ha determinado por motivos de inutilidad en un estudio de Fase 3 donde el fármaco se dosificó a 600mg. La falta de eficacia se relacionó probablemente con la modesta inhibición de CETP (18). Dos más inhibidores de CETP, anacetrapib y evacetrapib, están actualmente en ensayos clínicos de fase 3. Los datos de los estudios de fase 2 sugieren que ambos son inhibidores de CETP sin actividad mineralocorticoide. 200 mg de anacetrapib una vez al día ha mostrado que incrementa la HDL C por 97% y disminuye la LDL-C por 36% en sujetos sanos en ayunas (21) y 150 mg una vez al día de anacetrapib ha mostrado que incrementa la HDL C por 139% y disminuye la LDL-C por 40% en pacientes (22). El evacetrapib (500 mg una vez al día de monoterapia en los pacientes) ha mostrado que incrementa la HDL-C por 129% y disminuye la LDL-C por 36% (23).

En los estudios de fase 3 en curso, la dosis una vez al día de 100 mg de anacetrapib está siendo clínicamente evaluada, mientras que para el evacetrapib una dosis de una vez al día de 130 mg está siendo evaluada. Tales cantidades relativamente altas de ingredientes activos puede conducir a varios problemas.

Debido al hecho de que una cantidad relativamente alta

de los inhibidores de CETP mencionados en lo anterior se han minimizado, las formas de dosificación oral sólidas, tales como comprimidos o cápsulas, será relativamente alta. Esto causa problemas con la deglución de tales comprimidos y cápsulas. Alternativamente, se puede elegir al minimizar múltiples comprimidos o cápsulas más pequeñas; sin embargo eso tiene una influencia negativa en el cumplimiento del paciente y los costos.

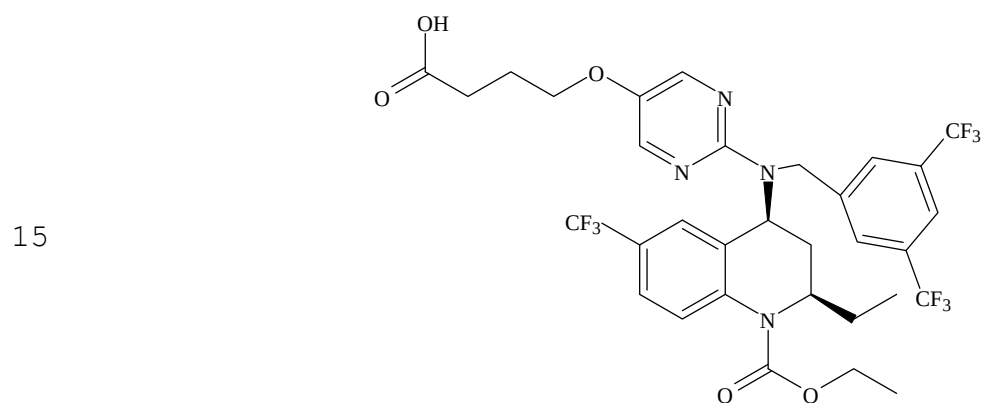
Una desventaja adicional del uso de los presentes inhibidores de CETP es que debido a la dosificación relativamente alta que tiene que ser usada para obtener la inhibición de CETP, se pueden presentar efectos secundarios más y más potentes. Esto puede tener una influencia negativa en tanto el bienestar físico del paciente así como en el cumplimiento del paciente. Por otra parte, debido a una menor biodisponibilidad de los inhibidores de CETP conocidos, se puede presentar la variabilidad farmacocinética inter-sujeto. Adicionalmente, puesto que una dosis relativamente alta es necesaria para los inhibidores de CETP conocidos (tal como anacetrapib) que sea efectiva, tomará varios años para eliminar esos inhibidores de CETP del cuerpo (referirse a The American Journal of Cardiology available online 4 de Octubre de 2013: Evaluation of Lipids, Drug Concentration, and Safety Parameters Following Cessation of Treatment With the

Cholesteryl Ester Transfer Proteína Inhibitor Anacetrapib in Patients With or at High Risk for Coronary Heart Disease Antonio M. Gotto Jr. y colaboradores).

Por consiguiente, sigue habiendo una necesidad para la provisión de un inhibidor de CETP potente y bien tolerado y una composición farmacéutica del mismo, que no muestre las desventajas mencionadas en lo anterior.

SUMARIO DE LA INVENCION

Un primer aspecto de la presente invención se refiere al compuesto



(a partir de ahora referido como el Compuesto A) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para el uso en el tratamiento de sujetos que padecen de o que tienen un riesgo incrementado de enfermedades cardiovasculares, en donde la dosis del Compuesto A administrado a los sujetos varía de 1 a 25 mg al día.

Un segundo aspecto de la presente invención se refiere a

una composición farmacéutica para el uso en el tratamiento de sujetos que padecen de o que tienen un riesgo incrementado de enfermedades cardiovasculares, en donde la composición comprende una cantidad terapéuticamente efectiva del Compuesto A o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo junto con un excipiente farmacéuticamente aceptable. La dosis del Compuesto A que se administra a los sujetos con la composición farmacéutica de acuerdo con la presente invención varía de manera preferente de aproximadamente 1 a 25 mg al día.

Los estudios clínicos han mostrado que el Compuesto A es un inhibidor de CETP potente. Comparado con otros inhibidores de CETP conocidos, solamente una dosis relativamente baja el Compuesto A es necesaria para alcanzar la inhibición de CETP casi completa. Típicamente, las dosificaciones una vez al día repetidas tan bajas como 2.5 mg del Compuesto A han probado que son ya suficientes para alcanzar la inhibición de CETP casi completa. Estas son dosificaciones considerablemente más bajas que han tenido que ser usadas para otros inhibidores de CETP.

Por otra parte, los estudios clínicos también han mostrado que el Compuesto A es bien tolerado y que no conduce a efectos secundarios serios. Por ejemplo, no hubo efectos clínicamente significativos observados en la presión

sanguínea o en el ritmo cardíaco, tampoco el Compuesto A parece que tiene un efecto en las concentraciones de electrolitos o aldosterona en el suero. Estudios clínicos también mostraron que el Compuesto A no sufre de efectos alimenticios y que en la dosis reclamada no muestra efectos residuales prolongados en el cese de la dosificación.

Un tercer aspecto de la presente invención se refiere a una composición farmacéutica *per se*, la composición que comprende de 1 a 25 mg de Compuesto A o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y un excipiente farmacéuticamente aceptable.

Un cuarto aspecto de la presente invención se refiere a un método para preparar tal composición.

DEFINICIONES

El término "*composición farmacéutica*" como se usa en la presente tiene su significado convencional y se refiere a una composición que es farmacéuticamente aceptable.

El término "*farmacéuticamente aceptable*" como se usa en la presente tiene su significado convencional y se refiere a compuestos, material, composiciones y/o formas de dosificación, que están, dentro del alcance del buen juicio médico adecuado para hacer contacto con los tejidos de mamíferos, especialmente humanos, sin toxicidad excesiva, irritación, respuesta alérgica y otras complicaciones

problemáticas acorde con una relación de beneficio/riesgo razonable.

El término "*cantidad terapéuticamente efectiva*" como se usa en la presente tiene su significado convencional y se
5 refiere a una cantidad o concentración que es efectiva en producir el efecto deseado en un mamífero, por ejemplo, en reducir, eliminar, tratar, prevenir o controlar los síntomas de una enfermedad o afección que afecta a un mamífero, en particular humano.

10 El término "*controlar*" se propone a para referirse a todos los procesos en donde puede haber una desaceleración, interrupción, detención o paro de la progresión de las enfermedades y afecciones que afectan al mamífero. Sin embargo, "controlar" no afecta necesariamente una eliminación
15 total de todos los síntomas de enfermedad y afección, y se propone para incluir un tratamiento profiláctico.

El término "*excipiente*" como se usa en la presente tiene su significado convencional y se refiere a un ingrediente farmacéuticamente aceptable, que se usa comúnmente en la
20 tecnología farmacéutica para preparar una formulación de dosificación oral granulada, sólida o líquida.

El término "*sal*" como se usa en la presente tiene su significado convencional e incluye la adición ácida y sales base del Compuesto A.

El término "*riesgo incrementado*" tiene su significado convencional y se refiere a una situación en un sujeto, de manera preferente humano, donde en los individuos, ya sea masculinos o femeninos, tienen un nivel de LDL-colesterol de aproximadamente 2.6 mmol/l, tal que se exponen en un riesgo incrementado de un evento cardiovascular, comparado con aquellos con niveles más bajos.

El término "*tratamiento*" como se usa en la presente tiene su significado convencional y se refiere a tratamiento curativo, paliativo y profiláctico.

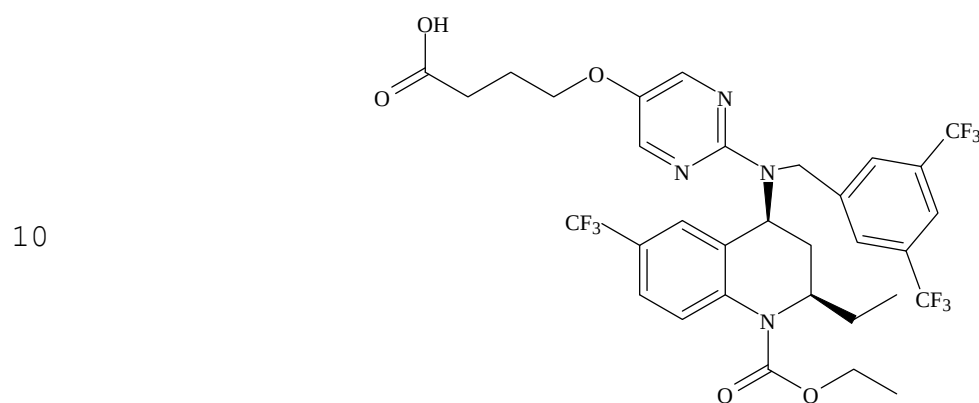
El término "*enfermedad cardiovascular*" tiene su significado convencional e incluye arteriosclerosis, enfermedad vascular periférica, hiperlipidemia, dislipidemia mezclada, betalipoproteinemia, hipoalfalipoproteinemia, hipercolesteremia, hipertrigliceridemia, hipercolesteremia familiar, angina, isquemia, isquemia cardíaca, apoplejía, infarto al miocardio, lesión por reperfusión, restenosis después de la angioplastia, hipertensión, infarto cerebral y apoplejía cerebral.

El término "*forma de dosificación unitaria*" tiene su significado convencional y se refiere a una forma de dosificación que tiene la capacidad de ser administrada a un sujeto, de manera preferente un humano, para ser efectiva, y que se puede manejar y empacar fácilmente, permaneciendo como

una dosis unitaria física y químicamente estable que comprende el agente terapéutico, es decir el Compuesto A.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

5 Un primer aspecto de la presente invención se refiere al compuesto:



(a partir de ahora referido como el Compuesto A) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para el uso en el tratamiento de sujetos, de manera preferente humanos, que padecen de o que tienen un riesgo incrementado de enfermedades cardiovasculares, en donde la dosis del Compuesto A administrado a los sujetos varía de aproximadamente 1 a 25 mg al día.

20 El Compuesto A como tal ya se ha descrito en la solicitud de patente Europea EP1730152, en donde se ha identificado como un inhibidor de CETP entre muchos otros inhibidores de CETP. Sorprendentemente, ahora se ha descubierto que el Compuesto A tiene propiedades

farmacodinámicas y farmacocinéticas excepcionalmente buenas comparadas con los otros inhibidores de CETP mencionados en EP 1730152 o usados clínicamente en particular, el Compuesto A tiene una sorprendentemente mejor biodisponibilidad que los
5 otros inhibidores de CETP conocidos. También se ha descubierto que el Compuesto A se puede usar de manera eficaz clínicamente en una dosis relativamente baja de aproximadamente 1 a 25 mg al día, de manera preferente 1 hasta e incluyendo 10 mg al día. Tales dosis se administran
10 de manera preferente como una composición farmacéutica que comprende el Compuesto A y un excipiente. La técnica anterior no describe o sugiere que es posible usar inhibidores de CETP de manera eficaz en tal dosis baja. En este aspecto se hace referencia al anacetrapib y evacetrapib, ambos de los cuales
15 son requeridos en una instalación clínica en dosis de una vez al día de más de 100 mg.

De manera preferente, una dosis de aproximadamente 5 hasta e incluyendo 10 mg de Compuesto A al día se usa, alternativamente una dosis de aproximadamente 5 mg de
20 Compuesto A, una dosis de aproximadamente 10 mg de Compuesto A o una dosis de aproximadamente 25 mg de Compuesto A.

Los estudios clínicos han mostrado que dentro del intervalo de dosificación reclamado de aproximadamente 1 a 25 mg al día es posible lograr una inhibición de CETP casi

completa, el incremento significativo de la concentración de HDL-colesterol y una disminución notable de los niveles de LDL-colesterol en sujetos que se les han administrado el Compuesto A. Los estudios clínicos también han mostrado que
5 estos efectos ya se presentan después de una sola dosis del Compuesto A.

Sin embargo, se prefiere administrar a un sujeto en necesidad del Compuesto A durante períodos de tiempo prolongados la dosis una vez al día de aproximadamente 1 a 25
10 mg, de manera preferente una dosis una vez al día de aproximadamente 5 a 10 mg. De manera preferente, los sujetos en necesidad de Compuesto A se les administra una dosis diaria de aproximadamente 1 a 25 mg, de manera preferente aproximadamente 5 a 10 mg, durante 1, 5, 10, 20, 40 52, 100 o
15 200 semanas.

Se prefiere particularmente administrar una dosis de 1 a 25 mg al día a un sujeto en necesidad del mismo, es decir una persona que padece de enfermedades cardiovasculares o una persona que tiene un riesgo incrementado de enfermedades
20 cardiovasculares durante al menos una semana, de manera preferente al menos tres semanas.

Los estudios clínicos han mostrado que una dosis relativamente baja de aproximadamente 1 a 25 mg de Compuesto A al día, de manera preferente aproximadamente 5 a 10 mg al

día, no se presentaron efectos adversos serios. Por ejemplo, no hubo efectos clínicamente significativos observados en la presión sanguínea o ritmo cardíaco, tampoco el Compuesto A en la dosis reclamada pareció que tiene efectos inespecíficos, tal como en concentraciones de electrolitos o aldosterona en suero. También se ha mostrado que con la dosis diaria reclamada de Compuesto A no sufren de efectos alimenticios y que en la dosis reclamada no muestran efectos residuales prolongados en el cese de la dosificación debido al lavado del fármaco incompleto.

La dosis de aproximadamente 1 a 25 mg de Compuesto A al día, de manera preferente la dosis de aproximadamente 5 a 10 mg, es particularmente adecuada para el uso de tratamiento de personas que padecen o que tienen un riesgo incrementado de enfermedades cardiovasculares, tales como arteriosclerosis, enfermedad vascular periférica, hiperlipidemia, dislipidemia mezclada, hiperbetalipoproteinemia, hipoalfalipoproteinemia, hipercolesteremia, hipertrigliceridemia, hipercolesteremia familiar, angina, isquemia, isquemia cardíaca, apoplejía, infarto al miocardio, lesión por reperfusión, restenosis después de la angioplastia, hipertensión, infarto cerebral, apoplejía cerebral.

En vista de la disminución notable de la actividad de la CETP, la disminución notable de la concentración en plasma de

LDL-colesterol y el incremento significativo de la concentración en plasma de HDL-colesterol, la falta de efectos secundarios y los efectos alimenticios, parece que la dosis diaria de aproximadamente 1 a 25 mg, de manera
5 preferente 1 a 10 mg de Compuesto A es particularmente adecuada para el uso en el tratamiento de pacientes que padecen de o tiene un riesgo incrementado de dislipidemia mezclada, hiperlipidemia, o en hiperlipidemia primaria particular.

10 Además del Compuesto A como tal, las sales farmacéuticamente aceptables del mismo también se pueden usar. Las sales farmacéuticamente aceptables del Compuesto A incluyen las sales de adición y base ácidas del mismo, tal como de manera preferente las sales de calcio, potasio o
15 sodio. Para una revisión en las sales adecuadas, se hace referencia a "Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use" por Stahl and Wermuth (Wiley-VCH, Weinheim, Alemania, 2002).

Una sal farmacéuticamente aceptable de Compuesto A se
20 puede preparar fácilmente al mezclar conjuntamente soluciones de Compuesto A y el ácido o base deseada, como sea apropiado. La sal puede precipitarse de la solución y ser recolectada por filtración o se puede recuperar por evaporación del solvente. El grado de ionización en la sal puede variar de

completamente ionizado a casi no ionizado.

La presente invención también se refiere a solvatos farmacéuticamente aceptables del Compuesto A y a composiciones farmacéuticas que comprenden tales solvatos para el uso en el tratamiento de sujetos que padecen de o que tienen un riesgo incrementado de enfermedades cardiovasculares.

También dentro del alcance de la invención son los así llamados "profármaco" del Compuesto A. De esta manera, ciertos derivados del Compuesto A, que pueden tener poca o nada de actividad farmacológica a los mismos, cuando se pueden administrar en el cuerpo se convierten en un Compuesto A que tiene la actividad del inhibidor CETP deseada. Tales derivados están dentro del contexto de la presente invención preferidos como "profármacos". Los profármacos de acuerdo con la invención pueden, por ejemplo, ser producidos al reemplazar las funcionalidades apropiadas presentes en el Compuesto A dentro de ciertas porciones conocidas por aquellas personas expertas en la técnica como "pro-porciones" como se describe en por ejemplo "Design of Prodrugs" por H. Bundgaard (Elsevier, 1985).

La dosis reclamada del Compuesto A se administra preferiblemente de manera oral a los sujetos en necesidad del mismo. De manera preferente, el Compuesto A se administra por

medio de una composición farmacéutica. La administración oral puede implicar deglución, de modo que el compuesto entra al tracto gastrointestinal. Alternativamente, la administración bucal o sublingual también se puede emplear en donde el

5 Compuesto A entra al torrente sanguíneo directamente de la boca. Se pueden desarrollar preparaciones farmacéuticas, como se describe a continuación, lo cual facilita la administración oral.

Un segundo aspecto de la presente invención se refiere a

10 una composición farmacéutica para el uso en el tratamiento de sujetos que padecen de o que tienen un riesgo incrementado de enfermedades cardiovasculares, en donde la composición comprende una cantidad terapéuticamente efectiva del Compuesto A o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo

15 junto con un excipiente farmacéuticamente aceptable. El Compuesto A y sus sales farmacéuticas o profármacos pueden ser como se describe en lo anterior.

La dosis del Compuesto A que se administra a los sujetos con la composición farmacéutica de acuerdo con la presente

20 invención varía de manera preferente de aproximadamente 1 a 25 mg al día, de manera más preferente de aproximadamente 5 a 10 mg al día. Alternativamente, se usa una dosis de aproximadamente 5 mg de Compuesto A, una dosis de aproximadamente 10 mg de Compuesto A o una dosis de

aproximadamente 25 mg de Compuesto A.

Como ya se describió en lo anterior, los estudios clínicos han mostrado que con tal dosis relativamente baja de Compuesto A, una disminución notable de la actividad de la CETP, una disminución notable de la concentración en plasma de LDL-colesterol y un incremento significativo de la concentración en plasma de HDL-colesterol se alcanza. Adicionalmente, también se ha mostrado que no se presentaron efectos adversos serios en tal dosis y que no se observaron efectos alimenticios y que el Compuesto A no mostró efectos residuales prolongados en el cese de la dosificación.

La composición farmacéutica para el uso de acuerdo con la presente invención se administra de manera preferente al sujeto en necesidad del mismo durante 1, 5, 10, 20, 40, 52, 100 o 200 semanas. Se prefiere particularmente administrar la composición farmacéutica a un sujeto en necesidad del mismo durante al menos una semana, de manera preferente al menos tres semanas.

En una modalidad preferida de la presente invención, la composición farmacéutica se formula como una forma de dosificación unitaria individual. La forma de dosificación unitaria individual es de manera preferente una forma de dosificación oral sólida, tal como un comprimido o cápsula. De manera preferente, la forma de dosificación unitaria

individual comprende de aproximadamente 1 a 25 mg de Compuesto A, de manera preferente de aproximadamente 5 a 10 mg de Compuesto A. Se prefiere particularmente usar una forma de dosificación oral sólida, tal como un comprimido o cápsula
5 que comprende de aproximadamente 1 a 25 mg, de manera preferente aproximadamente 5 a 10 mg de Compuesto A.

Las formas de dosificación oral sólidas que se pueden usar dentro del contexto de la presente invención incluyen además de comprimidos y cápsulas entre otros comprimidos
10 ovalados, grageas, pastillas, mini-comprimidos, peletizados, cuentas y gránulos empacados en sobres. Las formas de dosificación oral líquidas que se pueden usar para la preparación farmacéutica de la presente invención incluyen, pero no se limitan a bebidas, soluciones y emulsiones.

15 La composición farmacéutica para el uso en la presente invención comprende además del Compuesto A también un excipiente, es decir un ingrediente farmacéuticamente aceptable, que se usa comúnmente en la tecnología farmacéutica para preparar formulaciones de dosificación oral
20 granuladas, sólidas o líquidas.

Ejemplos de categorías de excipientes incluyen, pero no se limitan a, aglutinantes, desintegrantes, lubricantes, deslizantes, rellenos y diluyentes. Una persona de experiencia ordinaria en la técnica puede seleccionar uno o

más de los excipientes mencionados en lo anterior con respecto a las propiedades deseadas particulares de la forma de dosificación oral granulada y/o sólida mediante experimentación de rutina y sin ninguna carga indebida. La cantidad de cada excipiente usado puede variar dentro de los intervalos convencionales en la técnica. Las siguientes referencias que todas se incorporan en la presente a manera de referencia describen técnicas y excipientes usados para formular las formas de dosificación oral. Ver "The Handbook of Pharmaceutical Excipients", 4th edition, Rowe y colaboradores, Eds., American Pharmaceuticals Association (2003); y "Remington: The Science and Practice of Pharmacy", 20^a Edición, Gennaro, Ed., Lippincott Williams & Wilkins (2000).

Un tercer aspecto de la presente invención se refiere a una composición farmacéutica *per se* que comprende aproximadamente 1 a 25 mg de Compuesto A o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y un portador farmacéuticamente aceptable. De manera preferente, la composición farmacéutica comprende de 5 a 10 mg de Compuesto A o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

El Compuesto A y sus sales farmacéuticas aceptables y posibles profármacos pueden estar en las formas como se describe en lo anterior.

La composición farmacéutica se formula de manera preferente como una forma de dosificación unitaria individual como se describe en lo anterior. De manera más preferente, la composición se formula como una forma de dosificación oral
5 líquida o como una forma de dosificación oral sólida, de manera más preferente un comprimido o cápsula.

En una modalidad preferida, la composición farmacéutica comprende un comprimido o cápsula que comprende de aproximadamente 1 a 25 mg, de manera preferente 5 a 10 mg de
10 Compuesto A o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

Un cuarto aspecto de la presente invención se refiere a un método para preparar las composiciones farmacéuticas mencionadas en lo anterior. Las composiciones farmacéuticas del Compuesto A se pueden preparar por medios comúnmente
15 conocidos por la persona experta en la técnica.

La presente invención se ilustrará adicionalmente por medio de los siguientes ejemplos no limitantes.

EJEMPLOS

20 En los siguientes ejemplos el Compuesto A se estudió en un ensayo *in vitro*, *ex vivo* y clínicamente. Para sintetizar el Compuesto A se usó el método descrito en la solicitud de patente internacional WO2005095409.

Ejemplo 1: In vitro y ex vivo**Método experimental del ensayo in vitro****(a) Preparación de plasma humano**

Se obtuvo sangre humana de voluntarios masculinos sanos
5 usando 0.1% de EDTA como un anticoagulante, y se centrifugó a
3,000 rpm durante 15 minutos a 4°C. El plasma humano se
acumuló, y después se usó para la preparación de HDL
etiquetada con ^3H o se almacenó a -80°C para el ensayo CETP.
La HDL etiquetada con ^3H se preparó con plasma humano como se
10 describe por Glenn y Melton (*Methods in enzymology*. 263; 339-
351, 1996). La gravedad específica del plasma se midió por un
hidrómetro, y la densidad se ajustó a 1.125 g/mL al agregar
KBr sólido. Después de la centrifugación a 100,000 rpm
durante 4 horas a 12°C (rotor: 100.4, Optima TLX, Beckman), d
15 > 1.125 g/mL de la fracción se dializó contra 4 L de solución
amortiguadora Tris-salina-EDTA (TSE; 50 mmol/L de Tris, 150
mmol/L de NaCl, 2 mmol/L de EDTA, pH7.4) durante 18 horas a
4°C. [1,2- ^3H (N)]-Colesterol (37 MBq/mL) se agregó a la
fracción de plasma dializada en la cantidad de 2 $\mu\text{Ci/mL}$. El
20 tubo se selló estrechamente bajo corriente de gas N_2 y se
incubó a 37°C durante 18 horas con agitación leve para
permitir la esterificación del colesterol etiquetado con
radio por LCAT endógeno. La fracción de plasma incubada se
ajustó a d = 1.21 g/mL con KBr sólido, y se centrifugó a

100,000 rpm, 12°C durante 5 horas. La fracción de HDL etiquetada con ^3H se dializó contra 2 L de TSE a 4°C durante 18 horas. La radioactividad del HDL etiquetada con ^3H se contó en un contador de centelleo líquido. La HDL etiquetada con ^3H se almacenó a 4°C hasta el uso.

(b) Ensayo CETP

La actividad de la CETP se determinó como la velocidad de transferencia de CE etiquetada con ^3H de la HDL donadora para las VLDL/LDL aceptoras. El plasma humano (94 μL) se pre-
 10 incubó con los compuestos disueltos en DMSO (1 μL) 24 horas a 37°C, y después se incubó durante 4 horas a 4°C o 37°C con 5 μL de HDL etiquetada con ^3H . Cien μL de reactivo de fosfotungstato/ MgCl_2 (Wako pure chemical) se agregaron para precipitar las lipoproteínas que contienen apoB. Después de
 15 la centrifugación a 3,000 rpm durante 10 minutos a temperatura ambiente, la radioactividad del sobrenadante se contó en un contador de centelleo líquido. La actividad de la CETP se determinó como la diferencia de la radioactividad entre las muestras incubadas a 37°C y 4°C como sigue: % de
 20 inhibición = $100 - \{ \text{dpm (DMSO a 4°C - compuestos de prueba a 37°C)} / \text{dpm(DMSO a 4°C - DMSO a 37°C)} \} \times 100$. Se estimó la concentración que logra 50% de inhibición de la actividad de la CETP (IC_{50}).

Método experimental del ensayo *ex vivo*(a) Administración del compuesto y recolección de la sangre

Se usaron hámster sirios dorado para el experimento después de una climatización de una semana. Después de un
5 ayuno durante la noche, los animales se les administró oralmente la suspensión del compuesto en 0.5% de carboximetilcelulosa de sodio en un volumen de 10 mL/kg. Bajo anestesia profunda con éter, la sangre se recolectó de la aorta abdominal 3 horas después de la administración. Para la
10 preparación del suero, la sangre recolectada se transfirió a un tubo de plástico que contiene un activador de coagulación, se dejó reposar durante 15 minutos a temperatura ambiente y se centrifugó. Las actividades de CETP en suero se determinaron inmediatamente.

15 (b) Determinación de la actividad de la CETP en suero *ex vivo*

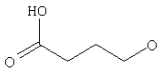
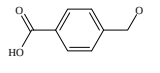
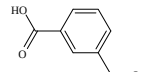
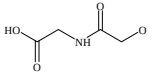
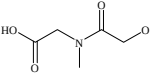
Noventa y cinco μ L de suero se agregaron a 5 μ L de solución salina amortiguada con fosfato de sodio 0.1 mM (pH 7.0) que contiene 5,5'-ditio-bis(ácido 2-nitrobenzoico) 1.5 mM en dos placas de fondo en forma de V de 96 pocillos. Una
20 placa se incubó a 4°C y la otra se incubó a 37°C. Después de 18 horas de incubación, cada muestra se mezcló con 100 μ L de reactivo para precipitación de las lipoproteínas que contienen apolipoproteína B (reactivo de fosfotungstato/MgCl₂, Wako pure chemical), se dejó reposar

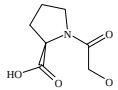
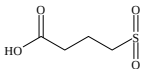
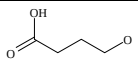
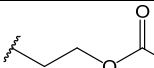
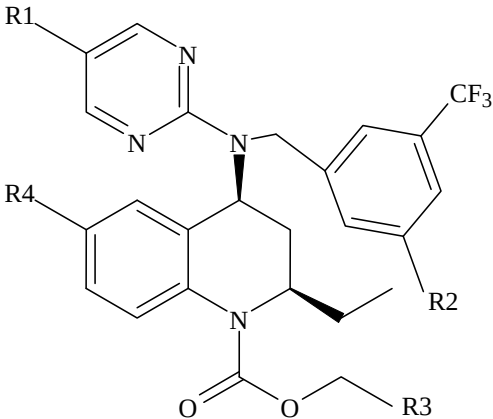
durante 10 minutos a temperatura y se centrifugó. El colesterol total (TC) y el colesterol libre (FC) en sobrenadante se midieron usando kits comerciales (prueba E de colesterol wako, y prueba E de colesterol libre wako; Wako pure chemical). El éster de colesterilo (CE) se calculó al extraer el FC de TC. La actividad de la CETP se determinó por la siguiente fórmula:

$$\text{Actividad de la CETP} = [\text{transferencia de CETP}]^* / [\text{valor CE en una muestra de incubación a } 4^{\circ}\text{C}]$$

$$\text{Transferencia de } ^*\text{CETP} = [\text{valor CE en la muestra de incubación a } 4^{\circ}\text{C}] - [\text{valor de CE en una muestra de incubación a } 37^{\circ}\text{C}]$$

(c) Resultados

# del ejemplo del compuesto	Elementos estructurales en las posiciones indicadas				IC ₅₀ in vitro (µM)	ex vivo (% de inhibición)
	R1	R2	R3	R4	plasma humano (24 h pre-incubación)	3 mg/kg (CMC)
Compuesto A		CF ₃	CH ₃	CF ₃	0.064	79.2
1		CF ₃	CH ₃	CF ₃	0.21	57.5
2		CF ₃	CH ₃	CF ₃	0.23	38.4
3		CF ₃	CH ₃	CF ₃	0.45	5.4
4		CF ₃	CH ₃	CF ₃	0.79	8.6

5		CF ₃	CH ₃	CF ₃	1.7	6.2
6		CF ₃	CH ₃	CF ₃	0.22	13.9
7		CF ₃		CF ₃	0.11	25.4
5	La estructura principal es: 					

Ejemplo 2: Estudio aleatorizado doble ciego de sujetos que reciben múltiples dosis de Compuesto A o placebo

Diseño del estudio

El estudio clínico fue un estudio de dosis repetida en 5 grupos de sujetos masculinos Caucásicos de 18 a 55 años de edad. Cada sujeto recibió una dosis oral individual de Compuesto A/placebo en el Día 1, seguido por dosis una vez al día en los Días 8 a 35 (5 mg Compuesto A/placebo - Grupo 1) o Días 8 a 28 (1, 2.5, 10 y 25 mg de Compuesto A/placebo - Grupos 2 a 5). Todas las dosis se administraron en el centro del estudio después de un desayuno estándar. Los sujetos en

cada grupo de dosis se asignó al tratamiento de estudio en una relación de 10 de Compuesto A a 2 de placebo. Las muestras de sangre para las evaluaciones farmacocinéticas y farmacodinámicas (actividad de la CETP, concentración de CETP, HDL-C, LDL-C, colesterol total, triglicéridos) se recolectaron antes de cada dosis y en intervalos por todo el estudio hasta 336 horas después de la última dosis. Los puntos finales farmacodinámicos secundarios (incluyendo las apolipoproteínas A1, A2, B, y E, HDL2-C, HDL3-C, fosfolípidos, colesterol sin HDL [HDL-FC], HDL-éster de colesterilo [HDL-CE], HDL-fosfolípidos [HDL-PL], HDL-triglicéridos [HDL-TG], y tamaño de partícula de LDL) se midieron en intervalos hasta el último día de la dosificación. La orina se recolectó para la farmacocinética de la pre-dosis y en intervalos de hasta 72 horas después de la primera y última dosis. Las evaluaciones de seguridad incluyen los efectos adversos, presión sanguínea y frecuencia cardíaca, ECGs, pruebas de seguridad de laboratorio (incluyendo aldosterona) y exámenes físicos se condujeron por todos los estudios.

Métodos analíticos

Las concentraciones de plasma y orina del Compuesto A se determinaron usando cromatografía líquida validada con métodos de espectrometría de masas en tándem (LC/MS/MS). El

límite inferior de la cuantificación (LLQ) para los ensayos fue 0.500 ng/mL. La concentración en plasma de CETP se determinó usando un método de ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas validado (ELISA) con un límite inferior de cuantificación (LLQ) de 0.500 µg/mL. La actividad de la CETP se determinó como la velocidad de la transferencia de CE etiquetado con [³H] de la HDL donadora a las VLDL/LDL aceptoras. La HDL etiquetada con [³H]CE se agregó al plasma humano y se incubó durante 4 horas a 37°C. Las lipoproteínas no de HDL se precipitaron y se separaron de HDL, y la cantidad de radioactividad en el sobrenadante se cuantificó. La actividad de la CETP se determinó como la diferencia de la radioactividad entre las muestras incubadas a 37°C y 4°C. La HDL-C y LDL-C se midieron por ensayo colorimétrico enzimático homogéneo usando un analizador Modular (Roche Diagnostics). El colesterol total y los triglicéridos se midieron por ensayo enzimático homogéneo usando un método analizador Modular (colesterol oxidasa peroxidasa-fenol aminofenazona peroxidasa [CHOP-PAP]) y un método de glicerol fosfato oxidasa [GPO-PAP], respectivamente. Los ApoA1, ApoA2, ApoB y ApoE se midieron por inmunoturbidimetría usando los reactivos de Rolf Greiner Biochemica (Alemania) y el suero estándar de N-apoproteína de Siemens (Alemania). El tamaño de partícula de LDL se determinó por electroforesis en gel gradiente. La

fracción de HDL se separó por un método de precipitación de ultracentrifugación combinada (Beta-cuantificación). Las fracciones de HDL-2 y HDL-3 después se separaron por ultracentrifugación adicional. El colesterol total en las fracciones de HDL, HDL-2 y HDL-3, sin colesterol en la fracción HDL, triglicéridos en la fracción HDL y fosfolípidos en el plasma y la fracción de HDL se midieron usando métodos y reactivos enzimáticos de Diasys Diagnostics (Alemania). Las mediciones se llevaron a cabo en un analizador automático Olympus AU600 y se calibraron usando estándares secundarios de Roche Diagnostics (Colesterol total, triglicéridos) y Diasys Diagnostics (sin colesterol, fosfolípidos), respectivamente. Se calculó el colesterol esterificado como la diferencia entre el colesterol total y el colesterol libre.

Análisis estadísticos

Los tamaños de muestra del estudio se eligieron basados en consideraciones prácticas en lugar de la potencia estadística. Los números de sujetos en cada grupo se consideraron que son adecuados para evaluar los objetivos principales de cada estudio. Los sujetos se asignaron al Compuesto A o placebo en cada grupo por medio de un código de aleatorización generado por computadora. Los parámetros farmacocinéticos se determinaron por métodos no

compartimentales usando la versión de software WinNonlin 4.1 (Pharsight Corporation, EUA). Todos los datos se listaron y se resumieron por el grupo de tratamiento usando estadísticas descriptivas. En el estudio, los porcentajes de cambios
5 máximos de la línea base en cada nivel de dosis del Compuesto A con el placebo acumulado usando un modelo ANOVA. Todos los análisis estadísticos se condujeron usando la versión SAS 6.12 o superior (SAS Institute Inc. EUA).

Resultados farmacocinéticos

10 En el estudio, las concentraciones en plasma pareció que se incrementaron aproximadamente de manera proporcional a la dosis después de dosis individuales de 1 a 25 mg, aunque no proporcionalmente se observó en el estado permanente: incrementos de 7 veces, 9 veces y 12 veces en $C_{min,ss}$, $AUC_{0-\tau,ss}$
15 y $C_{max,ss}$, respectivamente, para un incremento de 25 veces en la dosis. La T_{max} fue independiente de la dosis con los valores medios de 4 a 6 horas pos-dosis. La variabilidad fue moderada después de la dosificación individual y múltiple con CVs para C_{max} , C_{min} y los parámetros AUC que son $\leq 33\%$. La
20 inspección visual de las concentraciones sugiere que el Compuesto A se aproximó al estadio permanente dentro de 1 a 2 semanas de dosificación diaria. La vida media terminal media del Compuesto A después de la última dosis fue 121 a 151 horas y fue independiente de dosis. Una vida media similar se

observó entre la dosis individual y múltiple de 5 a 25 mg de Compuesto A, respectivamente. El Compuesto A se acumuló con una dosificación de una vez al día en una manera dependiente de dosis, con un incremento de aproximadamente 6 veces a 1 mg a través de un incremento de 2 veces a 25 mg.

Resultados farmacodinámicos

Los parámetros farmacodinámicos de línea base fueron bien balanceados a través de los grupos de tratamiento del estudio. El Compuesto A mostró en gran medida la actividad de la CETP en una manera dependiente de dosis después de la dosificación tanto individual como repetida. La inhibición de CETP casi completa se observó después de la dosis repetida de 2.5, 5, 10 a 25 mg una vez al día del Compuesto A (~92 a 99%) (**Tabla 1**). Este nivel de inhibición se mantuvo por todo el período de dosificación repetido y el efecto máximo de cada dosis se logró dentro de 1 semana de dosificación una vez al día. La duración de la inhibición después de la última dosis fue dependiente de dosis, con la actividad que se aproxima a los niveles de línea base por 2 semanas después de la dosis más baja (1 mg), pero aún estuvo aproximándose a 50% por abajo de la línea base a las 2 semanas después de 10 y 25 mg de dosificación. Aunque la actividad de la CETP disminuyó con la dosificación del Compuesto A, la concentración de CETP se incrementó en una manera dependiente de dosis después de la

dosificación tanto individual como múltiple. La concentración de CETP se incrementó de la línea base por 2.5 a 2.8 veces después de 3 semanas de dosificación con 10 mg y 25 mg del Compuesto A una vez al día. Las concentraciones de CETP disminuyeron en paralelo con las concentraciones de fármaco en el plasma. Después del cese de la dosificación del Compuesto A, tal que las concentraciones estuvieron aproximándose a los valores de línea base dentro de 2 semanas después de 1 mg y 5 mg de Compuesto A, mientras que las concentraciones aún fueron aproximadamente 1.4 veces más alta que la línea base en las 2 semanas después de 10 mg y 25 mg de Compuesto A. El porcentaje de cambios máximo en la actividad de la CETP y las concentraciones de CETP fueron estadísticamente de manera significativa diferentes del placebo ($p < 0.0001$) en todos los niveles de dosis del Compuesto A (1 a 25 mg).

Las concentraciones de HDL-C se incrementaron en una manera dependiente de dosis después de múltiples dosificaciones. El Compuesto A una vez al día en las dosis de 2.5 a 25 mg condujo a incrementos marcados de la HDL-C de línea base de aproximadamente 96% hasta 140%. Las concentraciones LDL-C disminuyeron en una manera dependiente de dosis con disminuciones máximas de la línea base de aproximadamente 40% a 53% después de 2.5 a 25 mg de Compuesto

A una vez al día. El porcentaje de cambios máximo de la línea base fue estadísticamente de manera significativo diferente del placebo ($p < 0.0001$) después de dosis del Compuesto A una vez al día de 5 a 25 mg para HDL-C y después de 10 y 25 mg para LDL C. Las concentraciones de HDL-C y LDL-C comenzaron a regresar a su línea base después del cese de la dosificación del Compuesto A consistente con la pérdida de inhibición de CETP. Hubo tendencias que indican incrementos relacionados con la dosis en Apo A-1, Apo E, HDL2-C y HDL3-C, disminuciones en las concentraciones de Apo B. La variabilidad fue alta para todas estas variables; no obstante los datos sugieren que los efectos máximos pueden haber sido logrados con las dosis de 5 a 10 mg de Compuesto A una vez al día. No hubo una tendencia relacionada con la dosis en la Apo A2 o fosfolípidos, pero hubo incremento relacionados con la dosis en HDL-FC, HDL-CE y HDL-PL y disminuciones en HDL-TG a través del intervalo de dosis de 1 a 10 mg sin cambios adicionales observados en 25 mg de Compuesto A. No hubo cambios notables en el tamaño de partícula de LDL. Además, no hubo evidencia de ningún efecto relevante de alimento, edad, género o etnicidad en las variables farmacodinámicas.

Seguridad

Dos repetidas arriba de 25 mg una vez al día fueron bien toleradas en todos los sujetos. No hubo eventos adversos

serios y ninguno de los sujetos se retiró debido a los eventos adversos. No hubo efectos clínicamente significativos en la presión sanguínea o frecuencia cardíaca, variables ECG, examinación física, o pruebas de seguridad de laboratorio. En particular, el Compuesto A no tuvo efecto en las concentraciones de electrolitos o aldosterona en suero.

Tabla 1. Porcentaje de cambio máximo de la línea base para variables farmacodinámicas primarias para el Compuesto A después de dosis orales repetidas en sujetos sanos masculinos Caucásicos

15

20

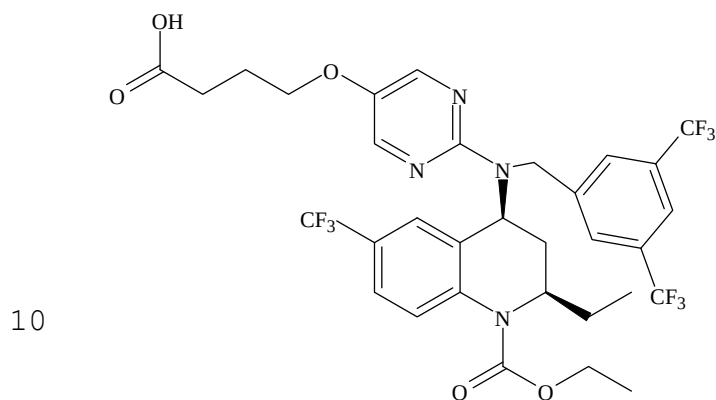
% de cambio máximo de la línea base en:	Placebo (Grupo 1) N=1	Placebo (Grupos 2-5) N=8	Dosis del compuesto A (una vez al día)				
			1 mg N=10	2.5 mg N=10	5 mg N=10	10 mg N=10	25 mg N=10
Datos del Estado Permanente							
Actividad de la CETP	21.3	-8.9 (14.7)	-66.5 (6.4)	-91.6 (6.4)	-90.9 (7.1)	-97.6 (2.9)	-99.4 (1.1)
Concentración de CETP	34.9	19.5 (18.4)	128 (34.3)	144 (22.3)	215 (50.9)	249 (49.6)	280 (47.4)
Concentración de HDL-C	-2.7	10.7 (20.5)	37.9 (20.6)	95.6 (30.4)	118 (33.2)	140 (36.4)	136 (43.9)
Concentración de LDL-C	25.0	-8.8 (20.8)	-29.6 (6.9)	-39.1 (14.3)	-41.7 (11.4)	-43.6 (14.6)	-53.2 (15.0)
Colesterol total	1.4	-8.1 (18.1)	-12.7 (7.1)	-7.9 (14.2)	-1.4 (12.4)	3.7 (18.2)	7.5 (17.2)
Triglicéridos	-28.8	-46.1 (20.9)	-50.2 (16.2)	-45.8 (16.5)	-20.3 (20.2)	-22.2 (19.9)	-31.4 (25.8)

Los valores son medios (SD)

Grupo 1 recibió 5 mg de Compuesto A/placebo en el Día 1 y Días 8 a 42.

Grupos 2-5 recibieron 1, 2.5, 10 y 25 mg del Compuesto A/placebo en el Día 1 y Días 8 a 35.

5 NOMBRE QUÍMICO Y FÓRMULA DEL COMPUESTO A



{ácido 4-[(2-[[3,5-bis(trifluorometil)bencil]-[(2R,4S)-1-(etoxicarbonil)-2-etil-6-(trifluorometil)-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-4-il]amino}pirimidin-5-il)oxil]butanoico}

15 REFERENCIAS

1. The Emerging Risk Factors Collaboration. Major lipids, apolipoproteins, and risk of vascular disease. *JAMA*. 2009;302:1993-2000.

20 2. Cholesterol Treatment Trialists (CTT) Collaboration. Efficacy and safety of more intensive lowering of LDL cholesterol: a meta-analysis of data from 170000 participants in 26 randomised trials. *Lancet*. 2010;13:1670-1681.

3. Roger VL, Go AS, Lloyd-Jones DM y colaboradores Heart disease and stroke statistics - 2012 Update: A report from

the American Heart Association. *Circulation*. 2012;125:e12-e230.

4. Johannsen TH, Frikke-Schmidt R, Schou J, Nordestgaard BG, Tybjaerg-Hansen A. Genetic inhibition of CETP, ischemic
5 vascular disease and mortality, and possible adverse effects. *J Am Coll Cardio*. 2012;60:2041-2048.

5. Voight BF, Peloso GM, Orho-Melander M y colaboradores Plasma HDL cholesterol and risk of myocardial infarction: a mendelian randomisation study. *Lancet*. 2012;380:572-580.

10 6. Thompson A, Di Angelantonio E, Sarwar N, Erqou S, Saleheen D, Dullaart RPF, Keavney B, Ye Z, Danesh J. *JAMA*. 2008;299:2777-2788.

7. Ridker PM, Pare G, Parker AN, Zee RYL, Miletich JP, Chasman DI. *Circ Cardiovasc Genet*. 2009;2:26-33.

15 8. Okamoto H, Yonemori F, Wakitani K, Minowa T, Maeda K, Shinkai H. A cholesteryl ester transfer protein inhibitor attenuates atherosclerosis in rabbits. *Nature*. 2000;406:203-207.

9. Barter PJ, Rye KA. Cholesteryl ester transfer protein
20 inhibition as a strategy to reduce cardiovascular risk. *J Lipid Res*. 2012;53:1755-1766.

10. Bochem AE, Kuivenhoven JA, Stroes ESG. The promise of cholesteryl ester transfer protein (CETP) inhibition in the treatment of cardiovascular disease. *Curr Pharm Des*.

2013;19:3143-3149.

11. Barter PJ, Caulfield M, Eriksson M y colaboradores
Effects of torcetrapib in patients at high risk for coronary
events. *N Engl J Med*. 2007;357:21009-2122.

5 12. Kastelein JJP, van Leuven SI, Burgess L y
colaboradores Effect of torcetrapib on carotid
atherosclerosis in familial hypercholesterolemia. *N Engl J
Med*. 2007;356:1620-1630.

13. Nicholls SJ, Tuzcu EM, Brennan DM, Tardif J-C,
10 Nissen SE. Cholesteryl ester transfer protein inhibition,
high-density lipoprotein raising, and progression of coronary
atherosclerosis. Insights from ILLUSTRATE (Investigation of
Lipid Level Management Using Coronary Ultrasound to Assess
Reduction of Atherosclerosis by CETP Inhibition and HDL
15 Elevation). *Circulation*. 2008;118:2506-2514.

14. Vergeer M, Bots ML, van Leuven SI, Basart DC,
Sijbrands EJ, Evans GW, Grobbee DE, Visseren FL, Stalenhoef
AF, Stroes ES, Kastelein JJP. Cholesteryl ester transfer
protein inhibitor torcetrapib and off-target toxicity: pooled
20 analysis of the rating atherosclerotic disease change by
imaging with a new CETP inhibitor (RADIANCE) trials.
Circulation. 2008;118:2515-2522.

15. Forrest MJ, Bloomfield D, Briscoe RJ y colaboradores
Torcetrapib-induced blood pressure elevation is independent

of CETP inhibition and is accompanied by increasing circulating levels of aldosterone. *Br J Pharmacol.* 2008;154:1465-1473.

16. Simic B, Hermann M, Shaw SG y colaboradores
5 Torcetrapib impairs endothelial function in hypertension. *Eur Heart J.* 2012;33:1615-1624.

17. Barter PJ, Rye K-A, Beltangady MS y colaboradores
Relationship between atorvastatin dose and the harm caused by torcetrapib. *J Lipid Res.* 2012;53:2436-2442.

10 18. Schwartz GG, Olsson AG, Abt M y colaboradores
Effects of dalcetrapib in patients with recent acute coronary syndrome. *N Engl J Med.* 2012;367:2089-2099.

19. Stein EA, Stroes ES, Steiner G, y colaboradores
Safety and tolerability of dalcetrapib. *Am J Cardiol.*
15 2009;104:82-91.

20. Lüscher TF, Taddei S, Kaski JC, y colaboradores
Vascular effects and safety of dalcetrapib in patients with or at risk of coronary heart disease: the dal-VESSEL randomized clinical trial. *Eur Heart J.* 2012;33:857-65.

20 21. Krishna R, Bergman AJ, Fallon y colaboradores
Multiple-dose pharmacodynamics and pharmacokinetics of anacetrapib, a potent cholesteryl ester transfer protein (CETP) inhibitor, in healthy subjects. *Clin Pharmacol Ther.* 2008;84:679-683.

22. Bloomfield D, Carlson GL, Aditi Sapre BS y colaboradores Efficacy and safety of the cholesteryl ester transfer protein inhibitor anacetrapib as monotherapy and coadministered with atorvastatin in dyslipidemic patients. *Am Heart J*. 2009;157:352-360.

23. Nicholls SJ, Brewer HB, Kastelein JJP y colaboradores Effects of the CETP inhibitor evacetrapib administered as monotherapy or in combination with statins on HDL and LDL cholesterol. *JAMA*. 2011;306:2099-2109.

24. Dansky HM, Bloomfield D, Gibbons P y colaboradores Efficacy and safety after cessation of treatment with the cholesteryl ester transfer protein inhibitor anacetrapib (MK-0859) in patients with primary hypercholesterolemia or mixed hyperlipidemia. *Am Heart J*. 2011;162:708-716.

25. Florvall G, Basu S, Larsson A. Apolipoprotein A1 is a stronger prognostic marker than HDL and LDL cholesterol for cardiovascular disease and mortality in elderly men. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2006;61:1262-1266.

26. Walldius G, Jungner I. Rationale for using apolipoprotein B and apolipoproteins A-1 as indicators of cardiac risk and as targets for lipid-lowering therapy. *Eur Heart J*. 2005;26:210-212.

27. Barter PJ, Ballantyne CM, Carmena R y colaboradores Apo B versus cholesterol in estimating cardiovascular risk

and in guiding therapy: report of the thriy-person/ten-country panel. *J Intern Med*. 2006;259:247-258.

28. Nordestgaard BG, Chapman MJ, Ray K y colaboradores Lipoprotein(a) as a cardiovascular risk factor: current
5 status. *Eur Heart J*. 2010;31:2844-2853.

29. Kamstrup PR, Tybjaerg-Hansen A, Nordestgaard BG. Lipoprotein(a) and risk of myocardial infarction - genetic epidemiologic evidence of causality. *Scand J Clin Lab Invest*. 2011;71:87-93.

10 30. The Emerging Risk Factors Collaboration. Lipoprotein(a) concentration and the risk of coronary heart disease, stroke and nonvascular mortality. *JAMA*. 2009;302:412-423.

31. Kamstrup PR, Benn M, Tybjaerg-Hansen A, Nordestgaard
15 BG. Extreme lipoprotein(a) levels and risk of myocardial infarction in the general population: The Copenhagen city heart study. *Circulation*. 2008;117:176-184.

32. Thanassoulis G, Campbell CY, Owens DS y
colaboradores Genetic associations with valvular
20 calcification and aortic stenosis. *N Engl J Med*. 2013;368:503-512.

33. Jaeger BR, Richter Y, Nagel E y colaboradores Longitudinal cohort study on the effectiveness of lipid apheresis treatment to reduce high lipoprotein(a) levels and

prevent major adverse coronary events. *Nat Clin Pract Cardiovasc Med*. 2009;6:229-239.

34. Krishna, Garg A, Panebianco D y colaboradores
Single-dose pharmacokinetics and pharmacodynamics of
5 anacetrapib, a potent cholesteryl ester transfer protein
(CETP) inhibitor, in healthy subjects. *Br J Clin Pharmacol*.
2009;68:535-545.

10

15

20