

P-4110
MODIFICACIONES
22 de Diciembre de 2016

5 **METABOLITOS DE TRANS-CLOMIFENO Y USOS DE LOS MISMOS**

CAMPO DE LA INVENCION

Esta solicitud reivindica el beneficio, bajo 35 USC 119(e), de la Solicitud de Patente Provisional de Estados Unidos No. 61/515,278, presentada el 4 de agosto de 2011, los contenidos completos de la cual se incorporan aquí por referencia.

La presente invención se refiere a metabolitos de trans-clomifeno en forma sustancialmente puro, composiciones farmacéuticas que comprenden los mismos y métodos para tratar diversos trastornos dependientes de hormonas.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

El clomifeno es un modulador selectivo del receptor de estrógeno relacionado con tamoxifeno. El clomifeno se une a los receptores de estrógeno y bloquea la retroalimentación normal de estrógenos en el hipotálamo y subsecuente retroalimentación negativa en la hipófisis. Esto conduce a incrementos de hormona luteinizante (LH) y hormona estimulante de folículos (FSH). En los hombres, estos niveles incrementados de gonadotropinas estimulan las células de Leydig de los testículos y dan como resultado en la producción de mayores niveles de testosterona. Por ejemplo, Tenover *et al.*, J. Clin. Endocrinol. Metab. 64:1103, (1987) y Tenover *et al.*, J. Clin. Endocrinol. Metab. 64:1118 (1987) encontraron incrementos de FSH, LH en hombres tanto jóvenes como ancianos después del tratamiento con clomifeno. También

encontraron incrementos de testosterona libre y total en hombres con los hombres jóvenes mostrando incrementos significativos.

En mujeres, el clomifeno está aprobado actualmente como una mezcla de isómeros tanto cis como trans, el isómero cis está presente de aproximadamente 30% a 50% (Manual Merck) para la inducción de la ovulación en mujeres anovulatorias. Los incrementos de LH y FSH en mujeres anovulatorias después de la administración de clomifeno dan como resultado en el crecimiento folicular y finalmente la ovulación. El fármaco se recomienda que sea administrado durante 5 días a una dosis de hasta 100 mg al día.

Ernst et al., J. Pharmaceut. Sci. 65:148 (1976), han mostrado que el clomifeno es una mezcla de dos isómeros geométricos que son referidos como cis,-Z-, clomifeno (cis-clomifeno o zuclomifeno) y trans-,E-, clomifeno, (trans-clomifeno o enclomifeno). De acuerdo con Ernst, et al. el trans-clomifeno HCl tiene un punto de fusión de 149°C-150.5°C, mientras que el cis-clomifeno HCl tiene un punto de fusión de 156.5°C-158°C. Ernst et al. también han señalado que (el isómero trans) es antiestrogénico (AE), mientras que el isómero cis es la forma más potente y más estrogénica y también se ha informado que tienen actividad antiestrogénica. Los autores atribuyen el efecto del fármaco en la actividad ovulatoria a ambas formas estableciendo que la mezcla es más efectiva que el trans-clomifeno solo. El isómero trans ayuda a la ovulación al nivel del hipotálamo. El isómero estrogénico cis-clomifeno contribuye a la ovulación mejorada en otra parte en la trayectoria fisiológica que conduce a la ovulación. También se informó

que los isómeros tienen diferente vida media in vivo. Se ha informado que el isómero cis deja los niveles en sangre residual en más de un mes después de una dosis única.

El clomifeno se ha asociado con numerosos efectos secundarios incluyendo: visión borrosa, malestar abdominal, ginecomastia, tumores testiculares, sofocos vasomotores, náuseas, y dolores de cabeza. Además, otros estudios sugieren que el clomifeno posee efectos de mejoría tanto genotóxicos como tumorales. El resultado neto de estas observaciones es que el clomifeno, en su formato actual, que tiene entre 30% y 50% del isómero cis, sería inaceptable para la terapia crónica en hombres para el tratamiento de la deficiencia de testosterona.

La administración oral de isómero trans de clomifeno (trans-clomifeno o enclomifeno) ha demostrado ser efectiva en el tratamiento de una panoplia de trastornos que varían de hipogonadismo secundario en hombres a la inducción de la ovulación en mujeres anovulatorias. Sin embargo, el metabolismo de primer paso del fármaco por el hígado requiere que dosis relativamente altas sean administradas oralmente para lograr el efecto terapéutico. Un avance significativo en la técnica resultaría si se descubrieran metabolitos activos de trans-clomifeno.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

La presente invención proporciona metabolitos de trans-clomifeno sustancialmente puros y sales de los mismos, preferiblemente la sal de citrato. También se proporcionan composiciones farmacéuticas que comprenden un metabolito de trans-clomifeno sustancialmente puro o una sal del mismo y un

portador farmacéuticamente aceptable.

La presente invención también se relaciona con métodos para el tratamiento y/o prevención de trastornos que son mejorados por la administración de una cantidad efectiva
5 de trans-clomifeno. En otras palabras, la presente invención proporciona un método para el tratamiento de cualquier trastorno el cual se puede tratar con trans-clomifeno, que comprende administrar una cantidad terapéuticamente efectiva de un metabolito de trans-clomifeno sustancialmente puro o
10 composición farmacéutica que comprende el mismo a un paciente en necesidad del tratamiento.

Los ejemplos de trastornos que son mejorados por la administración de una cantidad efectiva de trans-clomifeno (y por lo tanto, los cuales se pueden tratar de acuerdo con la
15 presente invención) incluyen, sin limitación, hipogonadismo secundario, diabetes tipo 2, colesterol elevado, triglicéridos elevados, emaciación, lipodistrofia, infertilidad femenina y masculina, hipertrofia benigna de la próstata, cáncer de próstata, cáncer de mama, cáncer de útero
20 y cáncer de ovarios.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

La FIG. 1 es un gráfico representativo de los perfiles de testosterona en suero total secretora normal en
25 hombres saludables (jóvenes y ancianos).

La FIG. 2 muestra la estructura química de trans-clomifeno.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

30 Mientras que la presente invención es capaz de ser

incorporada en diversas formas, la descripción a continuación de varias modalidades se hace con el entendimiento de que la presente descripción será considerada como una ejemplificación de la invención, y no se pretende limitar la invención a las modalidades específicas ilustradas. Los encabezados se proporcionan solamente para conveniencia y no serán contruidos para limitar la invención en modo alguno. Las modalidades ilustradas bajo cualquier encabezado se pueden combinar con las modalidades ilustradas bajo cualquier otro encabezado.

Se entenderá que cualquier intervalo, relaciones e intervalos de relaciones que se pueden formar por cualquiera de los números o datos presentes en la presente representan modalidades adicionales de la presente invención. Esto incluye intervalos que se pueden formar que incluyen o no un límite superior y/o inferior infinito. En consecuencia, la persona experta apreciará que muchas de relaciones, intervalos e intervalos de relaciones se pueden derivar inequívocamente de los datos y números presentados en la presente y todos representan modalidades de la invención.

Antes de que los presentes compuestos, composiciones y métodos se divulguen y describan, se entenderá que la terminología utilizada en la presente es con el propósito de describir modalidades particulares solamente y no se pretende que sea limitante. Cabe señalar que, tal como se utiliza en la presente especificación y las reivindicaciones anexas, las formas singulares "un", "uno" y "el" incluyen referentes plurales a menos que el contexto indique claramente lo contrario.

Definiciones

El término administración "oral" significa que el agente activo está en una formulación diseñada para ser ingerida, es decir, diseñada para ser suministrada al sistema gastrointestinal para la absorción.

El término "dosis efectiva" significa una cantidad del componente activo de la composición suficiente para tratar una afección particular.

El término "tratar" o "tratamiento" como se utiliza en la presente se refiere a cualquier tratamiento de cualquier trastorno o enfermedad dependiente de la progesterona, e incluye, pero no se limita a, inhibición del trastorno o enfermedad deteniendo el desarrollo del trastorno o enfermedad; alivio del trastorno o enfermedad, por ejemplo, causando la regresión del trastorno o enfermedad, o alivio de la afección causada por la enfermedad o trastorno, aliviando los síntomas de la enfermedad o trastorno.

El término "prevenir" o "prevención", con relación a un trastorno o enfermedad dependiente de la progesterona, significa la prevención del comienzo del desarrollo del trastorno o enfermedad si ninguno ha ocurrido, o prevención del desarrollo adicional del trastorno o enfermedad si el trastorno o enfermedad ya estuvo presente.

El término "sustancialmente puro" significa un compuesto de la presente invención que tiene una pureza mayor que aproximadamente 80%, preferiblemente mayor que aproximadamente 90%, más preferiblemente mayor que 95% y muy preferiblemente que tiene una pureza mayor que aproximadamente 99% como se mide por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC).

El término "sal farmacéuticamente aceptable" se refiere a una sal preparada a partir de un ácido inorgánico u orgánico no tóxico farmacéuticamente aceptable. Los ácidos inorgánicos incluyen, pero no se limitan a, clorhídrico, bromhídrico, yodhídrico, nítrico, sulfúrico, y fosfórico. Los ácidos orgánicos incluyen, pero no se limitan a, ácidos orgánicos alifáticos, aromáticos, carboxílicos, y sulfónicos incluyendo, pero no limitados a, ácido fórmico, acético, propiónico, succínico, benzoico, canforsulfónico, cítrico, fumarico, glucónico, isetiónico, láctico, málico, mucico, tartárico, para-toluenosulfónico, glicólico, glucurónico, maleico, furoico, glutámico, benzoico, antranílico, salicílico, fenilacético, mandélico, embónico (pamoico), metansulfónico, etansulfónico, pantoténico, bencensulfónico, esteárico, sulfanílico, algínico, y galacturónico. Una sal preferida es la sal de citrato.

En diversas modalidades, la presente invención proporciona metabolitos de trans-clomifeno en forma sustancialmente puro. Los metabolitos se pueden purificar a partir de una fuente apropiada o se pueden producir sintéticamente en una forma purificada y aislada. Por ejemplo, los metabolitos de la invención se pueden identificar y aislar o separar de tejidos o fluidos corporales de un animal de prueba después de la administración de trans-clomifeno. Alternativamente, los metabolitos de la invención se pueden identificar y aislar a partir de hepatocitos de animales después de la incubación con trans-clomifeno.

En un aspecto, el metabolito puede resultar de la acción de las enzimas del hígado de la familia de citocromo

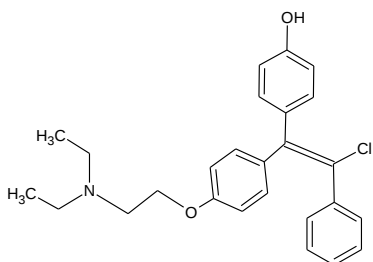
P450 (CYP). El metabolismo de agentes orales es a menudo debido a la acción de estas enzimas las cuales residen en los hepatocitos del hígado. Tal metabolismo de "primer paso", en el cual los fármacos pasan desde el intestino a través del hígado antes de su distribución al cuerpo, representa una barrera potencial para la transferencia de agentes farmacéuticos activos desde el tracto digestivo a la corriente sanguínea. Las enzimas de CYP caen en distintas clases y tienen miembros análogos en todos los mamíferos.

En diversas modalidades, la presente invención proporciona un metabolito de trans-clomifeno producido por la acción catalítica de un miembro de la familia CYP2 o CYP3. En modalidades preferidas, el metabolito se produce principalmente a través de la acción catalítica de CYP2D6 y/o CYP3A4 y/o CYP3A5.

En una modalidad, la presente invención proporciona un metabolito de trans-clomifeno que tiene una fórmula química seleccionada de: C₂₆H₂₉NO₄; C₂₇H₃₁NO₃; C₂₆H₃₀NO₃Cl; C₃₂H₃₆NO₈Cl; C₂₆H₃₀NO₃Cl; C₂₇H₃₀NO₃Cl; C₃₂H₃₆NO₈Cl; C₂₆H₂₈NO₃Cl; C₃₆H₄₃N₄O₇SCl; C₂₆H₃₀NO₃Cl; C₃₆H₄₃N₄O₇SCl; C₂₇H₃₁NO₃; C₂₄H₂₄NO₂Cl; C₂₆H₂₈NO₂Cl; C₂₇H₃₀NO₃Cl; C₂₇H₃₀NO₆ClS; C₂₆H₂₈NO₃Cl; C₂₆H₂₈NO₇Cl; C₂₆H₂₈NO₂Cl; C₂₇H₃₀NO₃Cl; C₂₄H₂₄NOCl; C₂₆H₂₈NO₂Cl; y C₂₄H₂₄NO₂Cl.

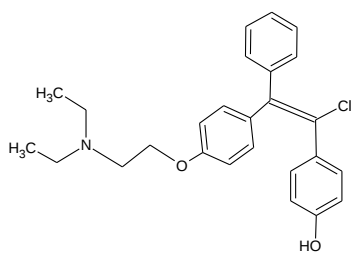
En una modalidad preferida, el metabolito de trans-clomifeno tiene una fórmula química seleccionada de: C₂₆H₃₀NO₃Cl, C₂₆H₂₈NO₂Cl, C₂₇H₃₀NO₃Cl, y C₂₄H₂₄NOCl.

En una modalidad particularmente preferida, la presente invención proporciona un metabolito de trans-clomifeno sustancialmente puro, 4-hidrox-trans-clomifeno (o 4-OH-trans-clomifeno) producido por la acción catalítica de CYP2D6 que tiene la fórmula



y sales farmacéuticamente aceptables del mismo. Este metabolito se forma por 4-hidroxilación en la posición para del anillo de fenilo de trans-clomifeno.

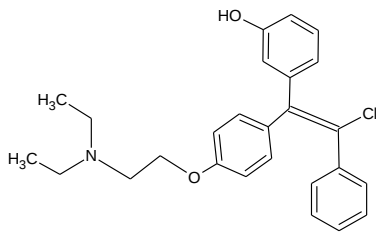
En una modalidad preferida, la presente invención proporciona un metabolito de trans-clomifeno sustancialmente puro, 4'-hidrox-trans-clomifeno (o 4'-OH-trans-clomifeno), producido por la acción catalítica de CYP2B6 que tiene la



fórmula y sales farmacéuticamente aceptables del mismo. Este metabolito se forma por 4'-hidroxilación en la posición para del anillo de fenilo de trans-clomifeno.

En otra modalidad preferida, la presente invención proporciona un metabolito de trans-clomifeno sustancialmente puro, 3-hidroxi-trans-clomifeno (o 3-OH-trans-clomifeno), producido por la acción catalítica de CYP3A4 o CYP3A5 que

5

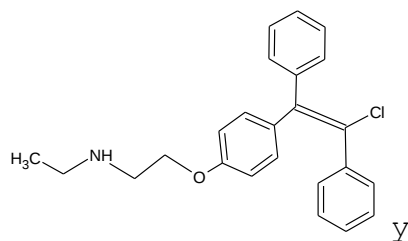


tiene la fórmula y sales farmacéuticamente aceptables del mismo.

10

En otra modalidad particularmente preferida, la presente invención proporciona un metabolito de trans-clomifeno sustancialmente puro, N-desetil-trans-clomifeno, producido por la acción catalítica de CYP3A4 o CYP3A5 que

15



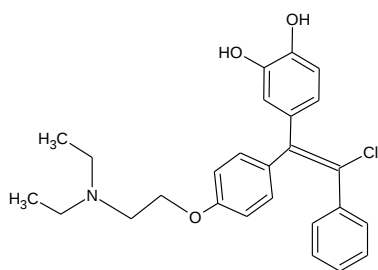
tiene la fórmula y sales

farmacéuticamente aceptables del mismo. Este metabolito se forma por N-desalquilación de un grupo etilo a partir de trans-clomifeno.

20

En otra modalidad preferida, la presente invención proporciona un metabolito de trans-clomifeno sustancialmente puro, 3,4-dihidroxi-trans-clomifeno, producido por la acción catalítica secuencial de CYP3A4/5 y CYP2D6 que tiene la

25

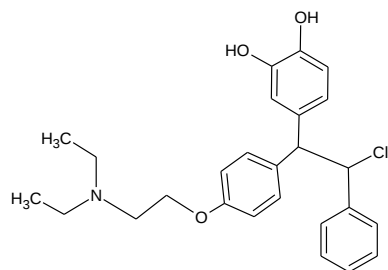


Fórmula y sales farmacéuticamente

aceptables del mismo.

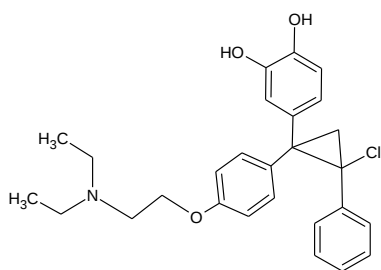
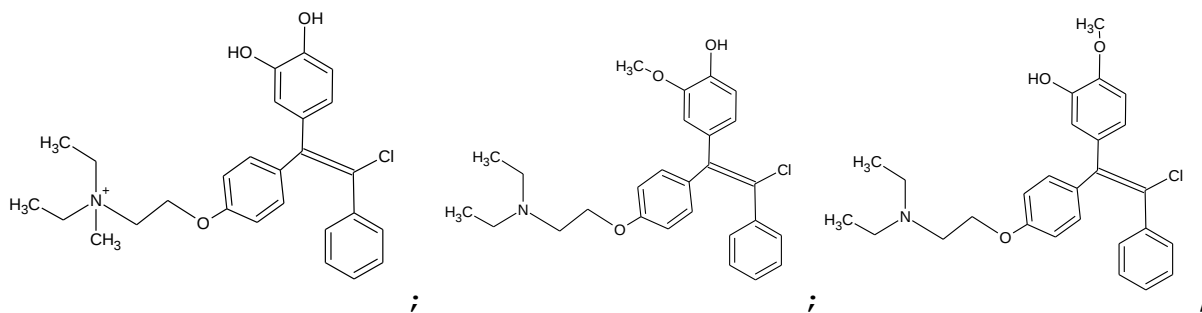
30

En una modalidad preferida relacionada, el metabolito producido por la acción secuencial de CYP3A4/5 y CYP2D6 se modifica adicionalmente de modo que un doble enlace se reduce. En consecuencia, la presente invención también proporciona un metabolito de trans-clomifeno sustancialmente



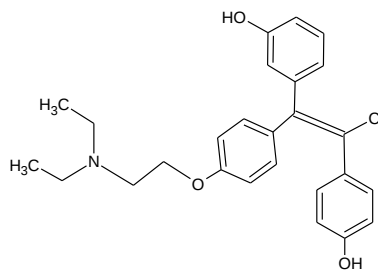
puro que tiene la fórmula (C₂₆H₃₀NO₃Cl).

En otra modalidad preferida relacionada, el metabolito producido por la acción secuencial de CYP3A4/5 y CYP2D6 son mono-metilado. En consecuencia, la presente invención también proporciona un metabolito de trans-clomifeno sustancialmente puro que tiene la fórmula química C₂₇H₃₀NO₃Cl. El metabolito mono-metilado puede tener cualquiera de las siguientes fórmulas estructurales:



y

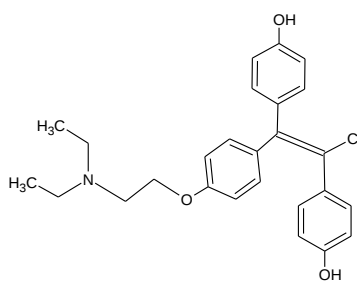
En otra modalidad preferida, la presente invención proporciona un metabolito de trans-clomifeno sustancialmente puro producido por la acción catalítica secuencial de



5 CYP3A4/5 y CYP2B6 que tiene la fórmula
sales farmacéuticamente aceptables del mismo.

En otra modalidad preferida, la presente invención
proporciona un metabolito de trans-clomifeno sustancialmente
puro producido por la acción catalítica secuencial de CYP2D6

10



y CYP2B6 que tiene la fórmula y sales

15 farmacéuticamente aceptables del mismo.

En diversas modalidades, la presente invención
también proporciona composiciones farmacéuticas que
comprenden uno o más metabolitos de trans-clomifeno o sales
de los mismos como se describe y un portador
20 farmacéuticamente aceptable, que se puede utilizar en los
métodos descritos en la presente.

En diversas modalidades, la presente invención
también proporciona el uso de un metabolito de trans-
clomifeno o sal del mismo (o composición farmacéutica que
25 comprende el mismo) en el tratamiento de un trastorno
receptivo a trans-clomifeno en un paciente.

En una modalidad, se proporciona un método para
elevar los niveles de testosterona que comprende administrar
una cantidad efectiva de un metabolito de trans-clomifeno o
30 sal del mismo (o composición farmacéutica que comprende el

mismo) a un paciente en necesidad de tal tratamiento. En una modalidad relacionada, se proporciona un método para el tratamiento de un trastorno relacionado con la deficiencia de testosterona, incluyendo, sin limitación, oligospermia, azoospermia, emaciación y depresión. El uso de trans-clomifeno para elevar los niveles de testosterona en un mamífero se describe en la Patente de Estados Unidos No. 7,759,360, el contenido completo de la cual se incorpora aquí por referencia, en particular, en la columna 4, línea 51 a columna 6, línea 5. En una modalidad preferida, el metabolito de trans-clomifeno es 4-OH-trans-clomifeno. En otra modalidad preferida, el paciente es un humano masculino con hipogonadismo secundario.

En una modalidad relacionada, se proporciona un método para el tratamiento de hipogonadismo secundario en un humano masculino, que comprende administrar una cantidad efectiva de un metabolito de trans-clomifeno o sal del mismo (o composición farmacéutica que comprende el mismo) a un paciente en necesidad de tal tratamiento. En una modalidad preferida, el metabolito de trans-clomifeno es 4-OH-trans-clomifeno.

En otra modalidad, se proporciona un método para disminuir los niveles de colesterol, que comprende administrar una cantidad efectiva de un metabolito de trans-clomifeno o sal del mismo (o composición farmacéutica que comprende el mismo) a un paciente en necesidad de tal tratamiento. El uso de trans-clomifeno para disminuir los niveles de colesterol se describe en la Patente de Estados Unidos No. 7,368,480, el contenido completo de la cual se incorpora aquí por referencia, en particular, en la columna

4, línea 66 a columna 6 línea 10. En una modalidad preferida, el metabolito de trans-clomifeno es 4-OH-trans-clomifeno. En otra modalidad preferida, el paciente es un humano masculino con hipogonadismo secundario.

5 En otra modalidad, se proporciona un método para el tratamiento y/o prevención de una afección seleccionada del grupo que consiste de hipertrofia benigna de la próstata, cáncer de próstata y triglicéridos elevados que comprende administrar una cantidad efectiva de un metabolito de trans-
10 clomifeno o sal del mismo (o composición farmacéutica que comprende el mismo) a un paciente en necesidad de tal tratamiento. El uso de trans-clomifeno para el tratamiento de hipertrofia benigna de la próstata, cáncer de próstata y triglicéridos elevados se describe en la Publicación de
15 Solicitud de Patente de Estados Unidos No. 2008/0242726, el contenido completo de la cual se incorpora aquí por referencia, en particular, en la página 3, párrafo [0030] a la página 4, párrafo [0041]. En una modalidad preferida, el metabolito de trans-clomifeno es 4-OH-trans-clomifeno. En
20 otra modalidad preferida, el paciente es un humano masculino con hipogonadismo secundario.

 En otra modalidad, se proporciona un método para el tratamiento de la infertilidad en un humano masculino, que comprende administrar una cantidad efectiva de un metabolito
25 de trans-clomifeno o sal del mismo (o composición farmacéutica que comprende el mismo) a un humano masculino en necesidad de tal tratamiento. El uso de trans-clomifeno para el tratamiento de la infertilidad masculina se describe en la Publicación de Solicitud de Patente de Estados Unidos No.
30 2009/0215906, el contenido completo de la cual se incorpora

aquí por referencia, en particular, en la página 2, párrafo [0029] a la página 3, párrafo [0034]. En una modalidad preferida, el metabolito de trans-clomifeno es 4-OH-trans-clomifeno. En otra modalidad preferida, el paciente es un humano masculino con hipogonadismo secundario.

En otra modalidad, se proporciona un método para prevenir la transición del síndrome metabólico a diabetes tipo 2 que comprende administrar una cantidad efectiva de un metabolito de trans-clomifeno o sal del mismo (o composición farmacéutica que comprende el mismo) a un humano masculino con hipogonadismo secundario. El uso de trans-clomifeno para la prevención de la transición del síndrome metabólico a diabetes mellitus tipo 2 en una población de pacientes se describe en la Publicación de Solicitud de Patente de Estados Unidos No. 2009/0099265, el contenido completo de la cual se incorpora aquí por referencia, en particular, en la página 3, párrafo.

En una modalidad preferida, el metabolito de trans-clomifeno es 4-OH-trans-clomifeno.

En todavía otra modalidad, se proporciona un método para la reducción de los niveles de glucosa en sangre en ayunas que comprende administrar una cantidad efectiva de un metabolito de trans-clomifeno o sal del mismo (o composición farmacéutica que comprende el mismo) a un humano masculino con hipogonadismo secundario. El uso de trans-clomifeno para la reducción de los niveles de glucosa en sangre en ayunas en una población de pacientes se describe en el párrafo [0041] de la Publicación de Solicitud de Patente de Estados Unidos No. 2009/0099265. En una modalidad preferida, el metabolito de trans-clomifeno es 4-OH-trans-clomifeno.

En todavía otra modalidad, se proporciona un método para el tratamiento de diabetes mellitus tipo 2 que comprende administrar una cantidad efectiva de un metabolito de trans-clomifeno o sal del mismo (o composición farmacéutica que comprende el mismo) a un humano masculino con hipogonadismo secundario. El uso de trans-clomifeno para el tratamiento de diabetes mellitus tipo 2 en una población de pacientes se describe en el párrafo [0042] de la Publicación de Solicitud de Patente de Estados Unidos No. 2009/0099265. En una modalidad preferida, el metabolito de trans-clomifeno es 4-OH-trans-clomifeno.

En otra modalidad, se proporciona un método para el tratamiento de la infertilidad femenina que comprende administrar una cantidad efectiva de un metabolito de trans-clomifeno o sal del mismo (o composición farmacéutica que comprende el mismo) a una mujer en necesidad de tal tratamiento. Preferiblemente, el metabolito de trans-clomifeno se administra como una dosis diaria en la fase folicular temprana del ciclo menstrual durante cinco días consecutivos. Por ejemplo, un programa de administración podría implicar la administración en los días 5 a 9 o en los días 3 al 7 del ciclo menstrual. Preferiblemente, el paciente es una mujer anovulatoria.

En otra modalidad, se proporciona un método para el tratamiento y/o prevención de cáncer de mama que comprende administrar una cantidad efectiva de un metabolito de trans-clomifeno o sal del mismo (o composición farmacéutica que comprende el mismo) a una mujer en necesidad de tal tratamiento. De acuerdo con esta modalidad, el metabolito de trans-clomifeno se puede administrar a una mujer en riesgo

incrementado de desarrollar cáncer de mama para prevenir el desarrollo de cáncer de mama. Alternativamente, el metabolito de trans-clomifeno se puede administrar a una mujer con cáncer de mama para tratar el cáncer de mama. El metabolito de trans-clomifeno también se puede administrar como una terapia adyuvante después del tratamiento inicial con cirugía para minimizar la posibilidad de recaída. Preferiblemente cuando se administra como un adyuvante, el trans-clomifeno se administra durante un período de aproximadamente 5 años.

En otra modalidad, se proporciona un método para el tratamiento de cáncer de endometrio (o de útero) que comprende administrar una cantidad efectiva de un metabolito de trans-clomifeno o sal del mismo (o composición farmacéutica que comprende el mismo) a una mujer en necesidad de tal tratamiento.

En todavía otra modalidad, se proporciona un método para el tratamiento de cáncer de ovarios que comprende administrar una cantidad efectiva de un metabolito de trans-clomifeno o sal del mismo (o composición farmacéutica que comprende el mismo) a una mujer en necesidad de tal tratamiento.

En diversas modalidades, la invención proporciona procedimientos de dosificación intermitentes útiles en los métodos de tratamiento descritos en la presente.

Por "administración intermitente" se entiende un período de administración de una dosis terapéuticamente efectiva de un metabolito de trans-clomifeno, seguido por un período de tiempo de interrupción, que luego es seguido por otro período de administración de una dosis terapéuticamente efectiva, y así sucesivamente.

El período de administración de la dosis terapéuticamente efectiva puede comprender dosificación continua, como por ejemplo con una formulación de liberación sostenida, o puede comprender dosificación diaria, semanal, mensual, o entre las mismas, como por ejemplo, con una, dos o más tabletas por día, siempre y cuando el intervalo de dosificación durante el período de administración sea menor que el período de interrupción.

La longitud preferida del período de interrupción depende de la concentración y frecuencia de administración de la dosis efectiva durante el período de administración y en cualquier caso se debe elegir de modo que se logra el efecto terapéutico deseado durante el período de tratamiento. Por ejemplo, donde el metabolito de trans-clomifeno o sal del mismo (o composición farmacéutica que comprende el mismo) se administra para elevar los niveles de testosterona, el período de interrupción se debe terminar antes de que los niveles de testosterona caigan por debajo de aproximadamente 300 ng/DL.

Las composiciones farmacéuticas de acuerdo con la presente invención pueden comprender o consistir esencialmente de un metabolito de trans-clomifeno de la invención a una dosificación entre aproximadamente un mg a aproximadamente 200 mg (aunque la determinación de las dosificaciones óptimas es con el nivel de experiencia ordinaria en la técnica). La composición puede comprender un metabolito de trans-clomifeno de la invención a una dosificación de aproximadamente 1 mg, 2 mg, 3, mg, 4 mg, 5 mg, 10 mg, 15 mg, 20 mg, 25 mg, 30 mg, 35 mg, 40 mg, 45 mg, 50 mg, 55 mg, 60 mg, 65 mg, 70 mg, 75 mg, 80 mg, 85 mg, 90

mg, 95 mg, 100 mg, 110 mg, 120 mg, 130 mg, 140 mg, 150 mg, 160 mg, 170 mg, 180 mg, 190 mg, 200 mg o entre las mismas.

Las composiciones farmacéuticas pueden comprender 100% p/p de un metabolito de trans-clomifeno o pueden comprender adicionalmente otros agentes activos útiles para lograr el efecto terapéutico deseado. Donde la composición farmacéutica comprende 100% p/p de un metabolito de trans-clomifeno, uno o más agentes activos adicionales se pueden coadministrar por separado secuencialmente o simultáneamente para lograr un efecto terapéutico deseado.

Las dosificaciones son preferiblemente (pero no necesariamente) administradas como parte de un régimen de dosificación diseñado para causar que los niveles de testosterona en suero imiten o correspondan con el perfil de testosterona en suero total secretora normal en la FIG. 1 durante el período de administración y, preferiblemente, durante el período de interrupción también. Por ejemplo, de acuerdo con la FIG. 1 una dosificación de la composición preferida se puede administrar en una formulación farmacéutica que causarían llegar al máximo los niveles de testosterona en suero a alrededor de las 8 a.m.. Tales formulaciones farmacéuticas pueden estar en la forma de formulaciones de liberación sostenida preparadas como se describe por ejemplo en la Patente de Estados Unidos No. 6,221,399, Patente Japonesa 4-312522, Meshali et al, Int. J. Phar. 89:177-181 (1993), Kharenko et al, Intern. Symp. Control Rel. Bioact. Mater. 22:232-233 (1995), WO 95/35093, Dangprasit et al., Drug. Devel. and Incl. Pharm. 21 (20):2323-2337 (1995); Patentes de Estados Unidos Nos. 6,143,353, 6,190,591, 6,096,338, 6,129,933,

6,126,969, 6,248,363 y otras formulaciones de liberación sostenida bien conocidas en la técnica.

Los términos "tratar" o "tratamiento" como se utilizan en la presente solicitud, se refieren tanto al
5 tratamiento terapéutico como profiláctico o medidas preventivas, en donde el objeto es prevenir o ralentizar (reducir) un cambio o trastorno fisiológico o psicológico no deseado, tales como los síntomas asociados con el hipogonadismo secundario. Para los propósitos de la presente
10 invención, los resultados clínicos beneficiosos o deseados incluyen, pero no se limitan a, alivio de los síntomas, disminución de la extensión de la enfermedad, estado estabilizado (es decir, no empeoramiento) de la enfermedad, retraso o ralentización de la progresión de la enfermedad,
15 mejoría o paliación del estado de enfermedad y remisión (si es parcial o total), si es detectable o indetectable. "Tratamiento" también puede significar prolongación de la supervivencia en comparación con la supervivencia esperada si no se recibe tratamiento. Los
20 individuos en necesidad de tratamiento incluyen aquellos que ya tienen la afección o trastorno así como aquellos propensos a desarrollar la afección o trastorno o aquellos en los que la afección o trastorno será prevenida.

Las composiciones farmacéuticas o formas
25 farmacéuticas unitarias adecuadas pueden estar en la forma de sólidos, tales como tabletas o cápsulas rellenas o líquidos tales como soluciones, suspensiones, emulsiones, elixires o cápsulas rellenas con los mismos, todos para uso oral. Las composiciones también pueden estar en la forma de soluciones
30 o emulsiones inyectables estériles para uso parenteral

(incluyendo subcutáneo). Las composiciones también se pueden formular para la administración tópica. Por ejemplo, la composición se puede formular como una loción, crema, ungüento, gel, espuma, o parche transdérmico. En una
5 modalidad preferida, la composición se formula como un gel (por ejemplo, un gel alcohólico acuoso) para la administración transdérmica (por ejemplo, al escroto). Tales composiciones farmacéuticas y formas farmacéuticas unitarias de las mismas pueden comprender ingredientes en proporciones
10 convencionales.

Aunque la administración oral es la ruta preferida, las composiciones de acuerdo con la presente invención se pueden administrar por cualquier ruta de administración incluyendo, pero no limitado a, intravenosa, subcutánea,
15 bucal, transmucosal, intratecal, intradérmica, intracisternal, intramuscular, transdérmica, intraperitoneal, epidural, vaginal, rectal, intranasal, sublingual, intra-articular, intra-cerebroespinal e intrasinovial. Después de la administración de la composición, los niveles de
20 testosterona en suero se pueden medir como se describe anteriormente y las dosificaciones se pueden modificar para lograr un incremento suficiente en los niveles de testosterona en suero para lograr los resultados fisiológicos deseados asociados con la testosterona normal, descritos
25 anteriormente.

Las composiciones de la presente invención también se pueden administrar en formulaciones de liberación rápida, formulaciones de liberación lenta o mezclas de formulaciones de liberación rápida y de liberación lenta tal como una
30 tableta de capas múltiples que comprende al menos una capa de

liberación rápida y al menos una capa de liberación lenta.

Todas las referencias discutidas en la presente se incorporan por referencia en su totalidad.

Los siguientes ejemplos están destinados a ser
5 ilustrativos de la invención y no están destinados a limitar
el alcance de la invención como se establece en las
reivindicaciones anexas.

EJEMPLO 1

10 Perfil de Metabolito *In vitro* de Androxal® (trans-clomifeno)

Se realizó un estudio para determinar el perfil
metabólico de Androxal®, el cual es la versión isómera del
citrato de clomifeno - también conocido como citrato de
enclomifeno, en hepatocitos crioconservados de ratas Sprague-
15 Dawley, perro Beagle, mono cynomolgus, y humano. El hígado es
el sitio principal del metabolismo del fármaco y el
complemento completo de enzimas hepáticas metabolizantes de
fármacos (incluyendo las enzimas del hígado de la familia CYP
P450) se mantuvo dentro de la célula intacta. Los hepatocitos
20 de hígado aislados constituyen un modelo experimental
fisiológicamente relevante para la evaluación de las
propiedades del fármaco relacionadas con el hígado tal como
el metabolismo. La crioconservación de los hepatocitos mejora
en gran medida su disponibilidad para los estudios.

25 Los hepatocitos primarios aislados de varios
donantes para cada especie animal y cinco donantes humanos se
agruparon de acuerdo con las especies y se
crioconservaron. Los hepatocitos se descongelaron, se
sometieron a centrifugación de gradiente de densidad de
30 Percoll para remover los residuos y se contaron para

determinar el rendimiento. La viabilidad se midió utilizando exclusión con azul de Tripano. Los hepatocitos se diluyeron con amortiguador de ensayo de CYP (Amortiguador de Krebs Hensleit) para preparar una 2X suspensión de células de 2.0×10^6 células viables/ml. Las alícuotas de la 2X suspensión de hepatocitos (0.5 ml que contienen 1.0×10^6 células) se transfirieron a las cavidades apropiadas para una 1X densidad celular final de 1.0×10^6 células/cavidad. Todas las incubaciones se realizaron a $37 \pm 1^\circ\text{C}$, 95% de aire/5% de CO_2 , y humedad en placas de cultivo no revestidas de 12 cavidades. Las alícuotas de 2X soluciones de dosificación de Androxal® (0.5 ml que contienen 6 y 60 μM Androxal®) se añadieron a cada cavidad apropiada para un volumen final total de 1 ml. Los cultivos se incubaron durante 1 y 4 horas. El tamaño de la muestra fue de $N = 2$ duplicados.

Las muestras de control de matriz se incluyeron como una fuente de componentes de matriz de fondo para ayudar en la identificación de metabolitos. Volúmenes iguales de 2X suspensión de hepatocitos y amortiguador de ensayo de CYP sin Androxal® se combinaron y se incubaron durante 4 horas.

Las muestras de control de degradación química se incluyeron para evaluar la posibilidad de degradación química de Androxal® en la ausencia de células. Volúmenes iguales de 2X solución de dosificación de Androxal® (6 y 60 μM) y amortiguador de CYP se combinaron y se incubaron durante 1 y 4 horas.

Las muestras de control positivo metabólico se incluyeron para evaluar la capacidad metabólica de los hepatocitos crioconservados de cada especie. Volúmenes iguales de 2X soluciones de dosificación de 7-etoxicumarina

(150 μ M) y 2X suspensión de hepatocitos se combinaron y se incubaron durante 1 y 4 horas.

Las incubaciones se terminaron como sigue: Las incubaciones de control positivo metabólico se terminaron
5 añadiendo un volumen igual de metanol. Todas las otras incubaciones se terminaron colocando las placas en hielo. Los contenidos de cada cavidad se mezclaron completamente y se dividieron en cinco crioviales. Se añadió un volumen igual de
10 solvente orgánico a un criovial. Las muestras ya sea se analizaron inmediatamente o se almacenaron en crioviales a $-70^{\circ}\text{C} \pm 10^{\circ}\text{C}$ hasta el análisis.

Todas las muestras se analizaron por HPLC de fase inversa. Se obtuvo un perfil de UV de las muestras seguido por análisis de cromatografía líquida-espectrometría de masas
15 (LC/MS) utilizando un espectrómetro de masas Micromass® Q-Tof-2 capaz de realizar la medición de masa exacta. La identificación preliminar de metabolitos se favoreció por el uso de software Metabolynx®, el cual es un algoritmo de software para la identificación de metabolitos. Dicho
20 software opera comparando y contrastando cada muestra metabolizada con una muestra de control.

La capacidad metabólica de los hepatocitos de cada una de las especies se evaluó midiendo la formación de 7-hidroxicumarina y sus derivados conjugados, 7-hidroxicumarina
25 glucurónido y sulfato de 7-hidroxicumarina en las muestras de control positivo metabólico utilizando un método bioanalítico de HPLC validado. Los hepatocitos crioconservados utilizados en el estudio fueron considerados metabólicamente activos y las incubaciones aceptables.

30 Las cantidades relativas de Androxal y sus

metabolitos después de incubaciones de 1 y 4 horas se reportan a continuación en las Tablas 1-4.

Cuatro metabolitos de Androxal® principales (C26H30NO3Cl (M3), C26H28NO2Cl (M14), C27H30NO3Cl (M15) y C24H24NOCl (M22); ver Tablas 1-4 a continuación) se observaron en las incubaciones con hepatocitos humanos, con hidroxilación, desalquilación y deshidrogenación como las transformaciones metabólicas observadas principales. Los metabolitos C24H24NO2Cl, C26H28NO2Cl, C27H30NO3Cl y C24H24NOCl también se observaron en las incubaciones con hepatocitos de ratas, perros y monos. C26H30NO3Cl se observó en las incubaciones de hepatocitos de monos y perros con la dosis de 30 mM Androxal®. A la dosis baja de Androxal®, consistente con los niveles en sangre encontrados en ensayos clínicos (3 µM), los metabolitos hidroxilados predominan (ver Tablas 3 y 4 a continuación). Se determinó que 85% y 91% de todos los metabolitos recuperados fueron compuestos hidroxilados a 1 y 4 horas, respectivamente, a la dosis baja (por ejemplo, C26H28NO2Cl). A la dosis mayor de Androxal® (30 µM), la desetilación llega a ser importante y aproximadamente la mitad de todos los metabolitos recuperados fueron compuestos desetilados (2X desmetilados) (por ejemplo C24H24NOCl). Sin estar ligado por la teoría, se cree que el CYP3A4 puede tener una constante de enlace mayor/afinidad menor para trans-clomifeno. Alternativamente, las concentraciones mayores de trans-clomifeno pueden desbordar la capacidad del sistema de CYP 2D6 en estos hepatocitos. CYP 2D6 es principalmente responsable de la hidroxilación y la desetilación se realiza principalmente a través de CYP3A4. Estos datos sugieren que los metabolitos activos

primarios de trans-clomifeno son 4-OH-trans-clomifeno, producido por la acción de CYP 2D6 y N-desetil-trans-clomifeno, producido por la acción de CYP 3A4.

Se espera que la administración terapéutica de estos metabolitos mejore los trastornos descritos en la presente, mientras se reducen los efectos secundarios que acompañan a la administración de trans-clomifeno resultante de las acciones individuales de trans-clomifeno y sus componentes de metabolitos mostrados a continuación.

Tabla 1 - Perfil de Metabolitos de Incubaciones Que Contienen 30 µM Androxal® durante 4 horas

Compuesto	RT	m/z	Transformación	Humano	Mono cyno.	Perro Beagle	Rata SD
C26H28ClNO (Androxal®)	27.6	406	Ninguna	4012.5	2828.5	4989.3	3123.3

5

10

15

20

25

Compuesto	RT	m/z	Transformación	Humano	Mono cyno.	Perro Beagle	Rata SD
C26H29NO4	17.7	420	Descloración + H + Hidroxilación + 2x Hidroxilación	-	-	-	130.2
C27H31NO3	22.5	418	Metilación + 2x Hidroxilación + Descloración + H	20.3	26.6	-	438.2
C26H30NO3Cl	22.7	440	Reducción + 2x Hidroxilación	125.9	64.7	65.9	-
C32H36NO8Cl	22.8	598	Gluc + Hidroxilación	-	-	16.6	29.5
C26H30NO3Cl	22.95	440	Reducción _ 2x Hidroxilación	-	-	43.7	-
C27H30NO3Cl	22.9	452	Metilación + 2x Hidroxilación	-	-	-	15.8
C32H36NO8Cl	23.1	598	Gluc + Hidroxilación	22.4	18.1	-	30.8
C26H28NO3Cl	23.5	438	2x Hidroxilación	-	-	86.2	117.1
C36H43N4O7SCl	23.5	711	Congujación de S-glutationa	-	-	-	15.9
C26H30NO3Cl	24.0	440	Reducción + 2x Hidroxilación	66.8	53.1	-	-
C36H43N4O7SCl	24.2	711	Congujación de S-glutationa	-	-	-	13.6
C27H31NO3	24.3	418	Metilación + 2x Hidroxilación + Descloración + H	28	37.5	-	530.7
C24H24NO2Cl	24.7	394	Hidroxilación + Desetilación	-	335.6	113.1	188.9
C26H28NO2Cl	25.0	422	Hidroxilación	747.4	724.4	1999.3	1432.8
C27H30NO3Cl	25.1	452	Metilación + 2x Hidroxilación	140.7	93.9	310.1	905.3

5

10

Compuesto	RT	m/z	Transformación	Humano	Mono cyno.	Perro Beagle	Rata SD
C27H30NO6ClS	25.5	532	Metilación + 2x Hidroxilación + Conjugación de sulfato	-	-	152.8	-
C26H28NO3Cl	25.5	438	2x Hidroxilación	-	-	82.4	70.7
C26H28NO7Cl	25.6	502	3 x 2 x Hidroxilación	68.0	44.8	64.2	-
C26H28NO2Cl	25.8	422	Hidroxilación	53.9	63.2	30.5	-
C27H30NO3Cl	25.9	452	Metilación + 2x Hidroxilación	24.7	10.3	-	97.4
C24H24NOCl	27.5	378	2x Desmetilación (Desetilación)	1262.4	2175.0	723.5	673.8
C26H28NO2Cl	28.0	422	Hidroxilación	-	-	-	174.6
C24H24NO2Cl	29.06	394	Hidroxilación + Desetilación	-	59.1	-	-

Abreviaturas: RT, tiempo de retención; Cyno., cynomolgus; SD, Sprague-Dawley; m/z, masa/carga.

15

Tabla 2 - Perfil de Metabolitos de Incubaciones Que Contienen 30 mM Androxal® durante 1 hora

5

Compuesto	RT	m/z	Transformación	Humano	Mono cyno.	Perro Beagle	Rata SD
C26H28ClNO (Androxal®)	27.6	406	Ninguna	4297.8	3166.4	6227.3	3166.8
C27H31NO3	22.5	418	Metilación + 2x Hidroxilación + Descloración + H	18.1	19.3	-	346.1
C26H30NO3Cl	22.7	440	Reducción + 2x Hidroxilación	56.1	43.3	117.3	-
C26H28NO3Cl	23.5	438	2x Hidroxilación	-	-	70.0	39.8

10

15

Compuesto	RT	m/z	Transformación	Humano	Mono cyno.	Perro Beagle	Rata SD
C26H30NO3Cl	24.0	440	Reducción + 2x Hidroxilación	32.9	44.9	-	-
C27H31NO3	24.3	418	Metilación + 2x Hidroxilación + Descloración + H	30.0	28.9	-	420.3
C24H24NO2Cl	24.7	394	Hidroxilación + Desetilación	22.0	54.0	36.7	45.2
C26H28NO2Cl	25.0	422	Hidroxilación	538.8	455.5	1535.2	992.7
C27H30NO3Cl	25.1	452	Metilación + 2x Hidroxilación	36.4	22.6	199.7	445.8
C27H30NO6ClS	25.5	532	Metilación + 2x Hidroxilación + Conjugación de sulfato	-	-	24.9	-
C26H28NO3Cl	25.5	438	2x Hidroxilación	-	-	102.2	16.2
C26H28NO7Cl	25.6	502	3 x 2 x Hidroxilación	-	-	20.8	-
C26H28NO2Cl	25.8	422	Hidroxilación	25.4	27.9	-	-
C27H30NO3Cl	25.9	452	Metilación + 2x Hidroxilación	-	-	-	41.7
C24H24NOCl	27.5	378	2x Desmetilación (Desetilación)	699.8	1029.8	-	336.6
C24H24NO2Cl	29.06	394	Hidroxilación + Desetilación	-	10.5	-	-

20

25

30

Abreviaturas: RT, tiempo de retención; Cyno., cynomolgus; SD, Sprague-Dawley; m/z, masa/carga.

Tabla 3 - Perfil de Metabolitos de Incubaciones Que Contienen

3 µM Androxal® durante 4 horas

Compuesto	RT	m/z	Transformación	Humano	Mono cyno.	Perro Beagle	Rata SD
C26H28ClNO (Androxal®)	27.6	406	Ninguna	285.4	84.2	103.2	182.5
C26H30NO3Cl	22.7	440	Reducción + 2x Hidroxilación	49.3	-	-	-
C26H28NO3Cl	23.5	438	2x Hidroxilación	-	-	27.9	-
C24H24NO2Cl	24.7	394	Hidroxilación + Desetilación	29.4	-	14.3	-
C26H28NO2Cl	25.0	422	Hidroxilación	247.0	43.4	103.4	31.1
C27H30NO3Cl	25.1	452	Metilación + 2x Hidroxilación	148.4	41.5	256.1	134.5
C27H30NO3Cl	25.5	452	Metilación + 2x Hidroxilación	-	15.7	-	-
C27H30NO6ClS	25.5	532	Metilación + 2x Hidroxilación + Conjugación de sulfato	-	-	27.5	-
C24H24NOCl	27.5	378	2x Desmetilación (Desetilación)	43.4	-	18.6	-

Abreviaturas: RT, tiempo de retención; Cyno., cynomolgus; SD, Sprague-Dawley; m/z, masa/carga.

Tabla 4 - Perfil de Metabolitos de Incubaciones Que Contienen 3 µM Androxal® durante 1 hora

5	Compuesto	RT	m/z	Transformación	Humano	Mono cyno.	Perro Beagle	Rata SD
	C26H28ClNO (Androxal®)	27.6	406	Ninguna	625.8	279.1	148.9	240.0

10	Compuesto	RT	m/z	Transformación	Humano	Mono cyno.	Perro Beagle	Rata SD
	C26H29NO4	17.7	420	Descloración + H + Hidroxilación + 2x Hidroxilación	-	-	-	36.7
15	C27H31NO3	22.5	418	Metilación + 2x Hidroxilación + Descloración + H	-	-	-	24.2
	C26H30NO3Cl	22.7	440	Reducción + 2x Hidroxilación	24.5	-	-	-
20	C26H28NO3Cl	23.5	438	2x Hidroxilación	-	-	52.5	-
	C27H31NO3	24.3	418	Metilación + 2x Hidroxilación + Descloración + H	-	-	-	27.1
25	C24H24NO2Cl	24.7	394	Hidroxilación + Desetilación	-	13.6	12.2	-
	C26H28NO2Cl	25.0	422	Hidroxilación	240.3	239.4	218.8	100.9
	C27H30NO3Cl	25.1	452	Metilación + 2x Hidroxilación	34.9	107.4	232.9	255.8
	C27H30NO3Cl	25.4	452	Metilación + 2x Hidroxilación	-	12.2	-	-
	C27H30NO3Cl	25.9	452	Metilación + 2x Hidroxilación	-	-	-	16.2
	C24H24NOCl	27.5	378	2x Desmetilación (Desetilación)	48.3	22.3	25.9	-

Abreviaturas: RT, tiempo de retención; Cyno., cynomolgus; SD, Sprague-Dawley; m/z, masa/carga.