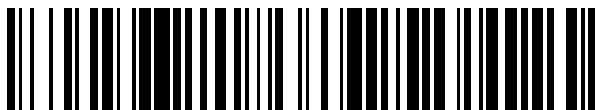




OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS  
ESPAÑA



⑪ Número de publicación: **2 865 334**

⑮ Int. Cl.:

**G01N 33/50** (2006.01)  
**A61K 31/575** (2006.01)  
**C07D 217/08** (2006.01)  
**A61K 31/4745** (2006.01)  
**A61K 31/567** (2006.01)  
**A61K 31/573** (2006.01)  
**G01N 33/74** (2006.01)

⑫

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- ⑥ Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **12.08.2016 PCT/US2016/046904**
- ⑦ Fecha y número de publicación internacional: **16.02.2017 WO17027851**
- ⑨ Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **12.08.2016 E 16836011 (3)**
- ⑩ Fecha y número de publicación de la concesión europea: **31.03.2021 EP 3335043**

---

⑮ Título: **Método de diagnóstico diferencial de síndrome de Cushing dependiente de ACTH**

⑩ Prioridad:

**13.08.2015 US 201562204723 P**

⑮ Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**15.10.2021**

⑯ Titular/es:

**CORCEPT THERAPEUTICS, INC. (100.0%)**  
**149 Commonwealth Avenue**  
**Menlo Park, CA 94025, US**

⑯ Inventor/es:

**MORAITIS, ANDREAS G.**

⑯ Agente/Representante:

**SÁEZ MAESO, Ana**

**ES 2 865 334 T3**

---

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

## DESCRIPCIÓN

Método de diagnóstico diferencial de síndrome de Cushing dependiente de ACTH

- 5 Antecedentes de la invención
- 10 El cortisol es un esteroide que se produce por las glándulas adrenales y se utiliza en el cuerpo para responder a estrés físico y emocional y mantener el suministro de energía y los niveles de azúcar en sangre adecuados. La producción de cortisol se encuentra altamente regulada por el eje hipotalámico-pituitario-adrenal (HPA) a través de un conjunto complejo de influencias directas e interacciones de retroalimentación negativa. En individuos sanos, la insuficiencia de cortisol en el torrente sanguíneo provoca que el hipotálamo libere la hormona de liberación de corticotropina (CRH) que envía señales a la glándula pituitaria para que libere la hormona adrenocorticotrópica (ACTH), que, a su vez, estimula a las glándulas adrenales para que produzcan más cortisol. El cortisol excesivo inhibe que el hipotálamo produzca CRH, inhibiendo, de este modo, que la glándula pituitaria libere ACTH, lo que, a su vez, suprime la producción de cortisol. La regulación de HPA da como resultado, además, un ritmo diurno de niveles de cortisol, que alcanza picos por la mañana y nadir alrededor de la medianoche. Las afecciones patológicas que se asocian con el HPA pueden afectar el ritmo diurno de la producción de cortisol y ACTH y causar problemas de salud graves.
- 15
- 20 El síndrome de Cushing constituye uno de estos problemas. Los pacientes con síndrome de Cushing presentan habitualmente propensión a desarrollar hematomas; obesidad abdominal y brazos y piernas delgados; plétora facial; acné; debilidad de los músculos proximales; y/o franjas rojas moradas en todo el cuerpo. El síndrome de Cushing se presenta junto con hipercortisoolemia, una afección que implica un exceso prolongado de cortisol circulante. El síndrome de Cushing se puede clasificar como síndrome de Cushing exógeno, cuya causa consiste en el uso excesivo de glucocorticoides, tales como prednisona, dexametasona e hidrocortisona, y síndrome de Cushing endógeno, cuya causa consiste en anomalías desreguladoras en el eje HPA. El síndrome de Cushing endógeno consiste en el síndrome de Cushing independiente de ACTH, caracterizado por una sobreproducción de cortisol ante la falta de aumento de secreción de ACTH; el síndrome de Cushing dependiente de ACTH, caracterizado por una secreción excesiva de ACTH.
- 25
- 30 El síndrome de Cushing dependiente de ACTH incluye aproximadamente el 80 % de los pacientes que presentan síndrome de Cushing endógeno y consiste en dos formas principales: enfermedad de Cushing y síndrome de ACTH ectópica. La primera es causada por un tumor pituitario y la última es causada por un tumor fuera de la pituitaria. El diagnóstico diferencial correcto entre la enfermedad de Cushing y el síndrome de ACTH ectópica resulta importante para que los endocrinólogos recomiendan la cirugía transesfenoidal o la detección por imágenes para identificar la fuente de la secreción ectópica de ACTH.
- 35
- 40 Un enfoque actual para diagnóstico diferencial de pacientes con síndrome de Cushing dependiente de ACTH incluye la medición de los niveles de ACTH a partir de muestras obtenidas de manera simultánea de ambos senos venosos petrosos inferiores (IPS), un procedimiento que se denomina muestreo del seno venoso petroso inferior (IPSS), y de la yugular interna u otra vena periférica. En un enfoque, que se denomina en el presente documento como CRH-IPSS, se toman 5 muestras de sangre de cada IPS y la vena yugular interna, dos antes y tres después de la administración de CRH. Una relación de ACTH central a periférica de  $>2$  antes y  $>3$  después de la administración de CRH resulta compatible con la enfermedad de Cushing, mientras que una relación más baja favorece el síndrome de ACTH ectópica. Este procedimiento requiere un cateterismo prolongado con la probabilidad de infección, trombosis o sangrado que aumenta con la duración del cateterismo. De manera adicional, la CRH es una proteína costosa de producir, lo que causó una escasez de suministro entre el año 2011 y principios del 2013, y requiere un manejo sofisticado. De este modo, los resultados de CRH-IPSS para diagnóstico diferencial de pacientes con síndrome de Cushing dependiente de ACTH caen frecuentemente en el área gris. Los pacientes que se diagnostican con acetato de desmopresina (DDAVP), la alternativa a CRH, que se ha utilizado también para IPSS, presentan desventajas similares.
- 45
- 50
- 55 Otro enfoque, que se denomina en el presente documento como metirapona-IPSS, es similar al anterior, a excepción de que se administra metirapona en lugar de CRH al paciente antes del IPSS y las muestras solo se toman de los pacientes después de la administración de metirapona. A pesar de que la metirapona-IPSS mejora el CRH-IPSS, debido a que prescinde de la necesidad de muestreo antes de la administración de metirapona y, de este modo, reduce la duración del cateterismo y la probabilidad de infección, trombos o sangrado asociado con esta, presenta también serias limitaciones. En primer lugar, la metirapona actúa para bloquear la conversión de 11-desoxicortisol en cortisol por la 11 $\beta$ -hidroxilasa, lo que causa una reducción del nivel de cortisol, lo que, a su vez, estimula la producción y liberación de ACTH. Debido a que su efecto en la secreción de ACTH es indirecto, el resultado de la prueba puede encontrarse sesgado por otros factores que afectan la síntesis de cortisol. En segundo lugar, como un bloqueador de la síntesis de cortisol, el tratamiento de metirapona, de manera especial, en una dosis alta, puede dar como resultado insuficiencia adrenal o presentar efectos deletéreos en diversas funciones corporales normales que requieren cortisol, por ejemplo, las funciones antiestrés y antiinflamatorias. En tercer lugar, la metirapona no se encuentra disponible actualmente en los Estados Unidos; por consiguiente, este método de diagnóstico se encuentra fuera del alcance de muchos pacientes en este país.

El documento US 2014/170768 A1, por ejemplo, divulga métodos para monitorear la función pituitaria y para distinguir la enfermedad de Cushing del síndrome de Cushing. Además, TSIGOS T. (Annu. Rev. Med., 1996, Vol. 47, páginas 443 a 461) se refiere al diagnóstico diferencial y el tratamiento del síndrome de Cushing. Además, FLESERIU M. et al. (J. Clin. Endocrinol. Metab., 2012, vol. 97, n.º 6, páginas 2039 a 2049) se refieren a un método de diagnóstico diferencial del síndrome de Cushing dependiente de ACTH.

Breve sumario de la invención

- 10 Se describe en este documento, pero no se incluye en la presente invención, un método de diagnóstico diferencial del síndrome de Cushing dependiente de la hormona adrenocorticotrópica (ACTH) en un paciente con hipercortisolemia donde el diagnóstico diferencial se realiza entre el síndrome de ACTH ectópica y la enfermedad de Cushing. El método comprende: (i) seleccionar un paciente con síndrome de Cushing y niveles elevados de ACTH; (ii) administrar una dosis de antagonista del receptor de glucocorticoides (GRA) suficiente para aumentar la ACTH de la glándula pituitaria al menos dos veces en personas con función HPA normal; (iii) esperar durante al menos dos horas; y (iv) obtener del paciente una relación de concentración de ACTH, que se deriva tanto de las concentraciones de ACTH en el líquido obtenido del seno venoso petroso inferior izquierdo o derecho como del líquido obtenido de una vena periférica, por ejemplo, una vena yugular. El paciente se diagnostica con la enfermedad de Cushing si la relación de concentración de ACTH es mayor que 3. En un primer aspecto, la presente invención se refiere a un método de diagnóstico diferencial de síndrome de Cushing dependiente de la hormona adrenocorticotrópica (ACTH) en un paciente donde el diagnóstico diferencial se realiza entre el síndrome de ACTH ectópica y la enfermedad de Cushing, comprendiendo el método las etapas de: (i) obtener de un paciente una concentración de ACTH en una muestra de líquido obtenida del seno venoso petroso inferior izquierdo o derecho y una concentración de ACTH a partir de líquido obtenido de una muestra venosa periférica, y (ii) obtener una relación de concentración de ACTH a partir de las concentraciones de ACTH, donde el paciente es un paciente con síndrome de Cushing y niveles elevados de ACTH también a quien se le ha administrado una dosis de antagonista del receptor de glucocorticoides (GRA) suficiente para aumentar la ACTH de la glándula pituitaria al menos dos veces en personas con función normal hipotalámica-pituitaria-adrenal (HPA), donde las muestras se obtuvieron al menos dos horas después de la administración de GRA, donde una relación de concentración de ACTH mayor que 3 para la concentración de ACTH de la muestra del seno venoso inferior sobre la muestra del seno venoso periférico sirve como diagnóstico de la enfermedad de Cushing.

En algunas realizaciones, la muestra venosa periférica es una muestra venosa yugular. En algunas realizaciones, la relación se deriva de la concentración de ACTH en una muestra de líquido obtenida de los senos venosos petrosos inferiores izquierdo y derecho. En algunas realizaciones, el GRA es un inhibidor selectivo del receptor de glucocorticoides. En algunos casos, los muestreros primero y segundo de las concentraciones de ACTH se tomaron con 5 a 10 minutos de diferencia para ambos senos venosos petrosos inferiores y una muestra venosa periférica.

- 40 En algunos casos, el GRA es un inhibidor selectivo del receptor de glucocorticoides. En algunas realizaciones, el GRA comprende una estructura principal esteroidea con al menos una fracción que contiene fenilo en la posición 11- $\beta$  de la estructura principal esteroidea. En algunos casos, la fracción que contiene fenilo en la posición 11- $\beta$  de la estructura principal esteroidea es una fracción dimetilaminofenilo. En algunos casos, el GRA es mifepristona. En algunas realizaciones, el GRA se selecciona a partir del grupo que consiste en 11 $\beta$ -(4-dimetilaminoetoxifénil)-17 $\alpha$ -propinil-17 $\beta$ -hidroxi-4,9-estradien-3-ona y (17 $\alpha$ )-17-hidroxi-19-(4-metilfenil)androsta-4,9(11)-dien-3-ona. En algunas realizaciones, el antagonista del receptor de glucocorticoides es (11 $\beta$ ,17 $\beta$ )-11-(1,3-benzodioxol-5-il)-17-hidroxi-17-(1-propinil) estr-4,9-dien-3-ona.

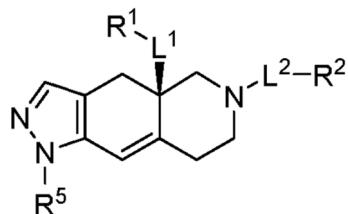
45 En algunas realizaciones, el GRA presenta una estructura principal no esteroidea. En algunos casos, la estructura principal de GRA es una ciclohexilpirimidina. En algunos casos, donde la ciclohexilpirimidina presenta la siguiente fórmula:

- 50

55 la línea discontinua se encuentra ausente o es un enlace; X se selecciona a partir del grupo que consiste en O y S; R<sup>1</sup> se selecciona a partir del grupo que consiste de cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo y heteroarilo, sustituido con, de manera opcional, 1 a 3 grupos R<sup>1a</sup>; cada R<sup>1a</sup> se selecciona de manera independiente a partir del grupo que consiste en H, alquilo C<sub>1-6</sub>, alquenilo C<sub>2-6</sub>, alquinilo C<sub>2-6</sub>, alcoxi C<sub>1-6</sub>, alquilo C<sub>1-6</sub> OR<sup>1b</sup>, halógeno, haloalquilo C<sub>1-6</sub>, haloaloxi C<sub>1-6</sub>, OR<sup>1b</sup>, NR<sup>1b</sup>R<sup>1c</sup>, C(O)R<sup>1b</sup>, C(O)OR<sup>1b</sup>, OC(O)R<sup>1b</sup>, C(O)NR<sup>1b</sup>R<sup>1c</sup>, NR<sup>1b</sup>C(O)R<sup>1c</sup>, SO<sub>2</sub>R<sup>1b</sup>, SO<sub>2</sub>NR<sup>1b</sup>R<sup>1c</sup>, cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo y heteroarilo; cada R<sup>1b</sup> y R<sup>1c</sup> se selecciona de manera independiente a partir del grupo que consiste en H y alquilo C<sub>1-6</sub>; R<sup>2</sup> se selecciona a partir del grupo que consiste en H, alquilo C<sub>1-6</sub>, alquilo C<sub>1-6</sub>-OR<sup>1b</sup>, alquilo C<sub>1-6</sub> NR<sup>1b</sup>R<sup>1c</sup> y alquieno C<sub>1-6</sub> heterocicloalquilo; R<sup>3</sup> se selecciona a partir del grupo que consiste en H y alquilo C<sub>1-6</sub>; Ar

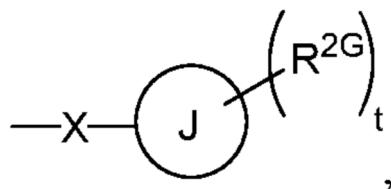
5 es arilo, sustituido con, de manera opcional, 1 a 4 grupos R<sup>4</sup>; cada R<sup>4</sup> se selecciona de manera independiente a partir del grupo que consiste en H, alquilo C<sub>1-6</sub>, alcoxi C<sub>1-6</sub>, halógeno, haloalquilo C<sub>1-6</sub> y haloalcoxi C<sub>1-6</sub>; L<sup>1</sup> es un enlace o alquíleno C<sub>1-6</sub>; y el subíndice n es un número entero de 0 a 3, o sales e isómeros de estos.

10 En algunos casos, la estructura principal de GRA es una azadecalina fusionada. En algunos casos, la azadecalina fusionada es un compuesto que presenta la siguiente fórmula:



,

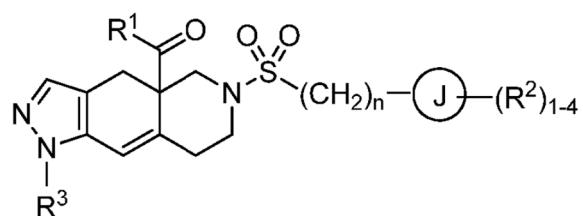
15 10 donde L<sup>1</sup> y L<sup>2</sup> son miembros que se seleccionan de manera independiente a partir de un enlace y alquíleno no sustituido; R<sup>1</sup> es un miembro que se selecciona a partir de alquilo no sustituido, heteroalquilo no sustituido, heterocicloalquilo no sustituido, -OR<sup>1A</sup>, NR<sup>1C</sup>R<sup>1D</sup>, -C(O)NR<sup>1C</sup>R<sup>1D</sup> y -C(O)OR<sup>1A</sup>, donde R<sup>1A</sup> es un miembro que se selecciona a partir de hidrógeno, alquilo no sustituido y heteroalquilo no sustituido; R<sup>1C</sup> y R<sup>1D</sup> son miembros que se seleccionan de manera independiente a partir de alquilo no sustituido y heteroalquilo no sustituido, y se unen, de manera opcional, para formar un anillo no sustituido con el nitrógeno al que se encuentran unidos, donde dicho anillo comprende, de manera opcional, un anillo adicional de nitrógeno. R<sup>2</sup> presenta la fórmula:



,

20 15 donde R<sup>2G</sup> es un miembro que se selecciona a partir de hidrógeno, halógeno, alquilo no sustituido, heteroalquilo no sustituido, cicloalquilo no sustituido, heterocicloalquilo no sustituido, -CN y -CF<sub>3</sub>; J es fenilo; t es un número entero de 0 a 5; X es -S(O<sub>2</sub>)-; y R<sup>5</sup> es fenilo sustituido con, de manera opcional, 1 a 5 grupos R<sup>5A</sup>, donde R<sup>5A</sup> es un miembro que se selecciona a partir de hidrógeno, halógeno, -OR<sup>5A1</sup>, S(O<sub>2</sub>)NR<sup>5A2</sup>R<sup>5A3</sup>, -CN y alquilo no sustituido y R<sup>5A1</sup> es un miembro que se selecciona a partir de hidrógeno y alquilo no sustituido y R<sup>5A2</sup> y R<sup>5A3</sup> son miembros que se seleccionan de manera independiente a partir de hidrógeno y alquilo no sustituido o sales e isómeros de estos.

25 20 En algunos casos, la estructura principal de GRA es una azadecalina fusionada con heteroaril cetona o una azadecalina fusionada con octahidro. En algunos casos, la azadecalina fusionada con heteroaril cetona presenta la fórmula:



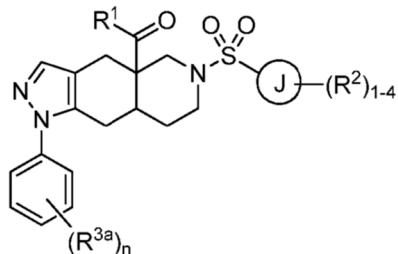
,

30 25 donde R<sup>1</sup> es un anillo heteroarilo que presenta de 5 a 6 miembros del anillo y de 1 a 4 heteroátomos, cada uno se selecciona de manera independiente a partir del grupo que consiste en N, O y S, sustituido con, de manera opcional, 1 a 4 grupos, cada uno se selecciona de manera independiente a partir de R<sup>1a</sup>; cada R<sup>1a</sup> se selecciona de manera independiente a partir del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo C<sub>1-6</sub>, halógeno, haloalquilo C<sub>1-6</sub>, alcoxi C<sub>1-6</sub>, haloalcoxi C<sub>1-6</sub>, CN, N-óxido, cicloalquilo C<sub>3-8</sub> y heterocicloalquilo C<sub>3-8</sub>; el anillo J se selecciona a partir del grupo que consiste en un anillo cicloalquilo, un anillo heterocicloalquilo, un anillo arilo y un anillo heteroarilo, donde los anillos heterocicloalquilo y heteroarilo presentan de 5 a 6 miembros del anillo y de 1 a 4 heteroátomos, cada uno se selecciona de manera independiente a partir del grupo que consiste en N, O y S; cada R<sup>2</sup> se selecciona de manera independiente a partir del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo C<sub>1-6</sub>, halógeno, haloalquilo C<sub>1-6</sub>, alcoxi C<sub>1-6</sub>, haloalcoxi C<sub>1-6</sub>, alquil C<sub>1-6</sub>-alcoxi C<sub>1-6</sub>, CN, OH, NR<sup>2a</sup>R<sup>2b</sup>, C(O)R<sup>2a</sup>, C(O)OR<sup>2a</sup>, C(O)NR<sup>2a</sup>R<sup>2b</sup>, SR<sup>2a</sup>, S(O)R<sup>2a</sup>, S(O)<sub>2</sub>R<sup>2a</sup>, cicloalquilo C<sub>3-8</sub> y heterocicloalquilo C<sub>3-8</sub>, donde los grupos heterocicloalquilo están sustituidos con, de manera opcional, 1 a 4 grupos R<sup>2c</sup>; de manera alternativa, dos grupos R<sup>2</sup> unidos al mismo carbono se combinan para formar un grupo oxo (=O); de manera alternativa, dos grupos R<sup>2</sup> se combinan para formar un anillo heterocicloalquilo que presenta de 5 a 6 miembros del anillo y de 1 a 3 heteroátomos, cada uno se selecciona de manera independiente a partir del grupo que consiste

en N, O y S, donde el anillo heterocicloalquilo está sustituido con, de manera opcional, 1 a 3 grupos R<sup>2d</sup>; cada R<sup>2a</sup> y R<sup>2b</sup> se selecciona de manera independiente a partir del grupo que consiste en hidrógeno y alquilo C<sub>1-6</sub>; cada R<sup>2c</sup> se selecciona de manera independiente a partir del grupo que consiste en hidrógeno, halógeno, hidroxi, alcoxi C<sub>1-6</sub>, haloalcoxi C<sub>1-6</sub>, CN y NR<sup>2a</sup>R<sup>2b</sup>; cada R<sup>2d</sup> se selecciona de manera independiente a partir del grupo que consiste en hidrógeno y alquilo C<sub>1-6</sub> o dos grupos R<sup>2d</sup> unidos al mismo átomo del anillo se combinan para formar (=O); R<sup>3</sup> se selecciona a partir del grupo que consiste en fenilo y piridilo, cada uno sustituido con, de manera opcional, 1 a 4 grupos R<sup>3a</sup>; cada R<sup>3a</sup> se selecciona de manera independiente a partir del grupo que consiste en hidrógeno, halógeno y haloalquilo C<sub>1-6</sub> y el subíndice n es un número entero de 0 a 3 o sales e isómeros de estos.

10

En algunos casos, la azadecalina fusionada con octahidro presenta la fórmula:



,

15 donde R<sup>1</sup> es un anillo heteroarilo que presenta de 5 a 6 miembros del anillo y de 1 a 4 heteroátomos, cada uno se selecciona de manera independiente a partir del grupo que consiste en N, O y S, sustituido con, de manera opcional, 1 a 4 grupos, cada uno se selecciona de manera independiente a partir de R<sup>1a</sup>; cada R<sup>1a</sup> se selecciona de manera independiente a partir del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo C<sub>1-6</sub>, halógeno, haloalquilo C<sub>1-6</sub>, alcoxi C<sub>1-6</sub>, haloalcoxi C<sub>1-6</sub>, N-óxido y cicloalquilo C<sub>3-8</sub>; el anillo J se selecciona a partir del grupo que consiste en un anillo arilo y un anillo heteroarilo que presentan de 5 a 6 miembros del anillo y de 1 a 4 heteroátomos, cada uno se selecciona de manera independiente a partir del grupo que consiste en N, O y S; cada R<sup>2</sup> se selecciona de manera independiente a partir del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo C<sub>1-6</sub>, halógeno, haloalquilo C<sub>1-6</sub>, alcoxi C<sub>1-6</sub>, haloalcoxi C<sub>1-6</sub>, alquil C<sub>1-6</sub>-alcoxi C<sub>1-6</sub>, CN, OH, NR<sup>2a</sup>R<sup>2b</sup>, C(O)R<sup>2a</sup>, C(O)OR<sup>2a</sup>, C(O)NR<sup>2a</sup>R<sup>2b</sup>, SR<sup>2a</sup>, S(O)R<sup>2a</sup>, S(O)<sub>2</sub>R<sup>2a</sup>, cicloalquilo C<sub>3-8</sub> y heterocicloalquilo C<sub>3-8</sub>, que presenta de 1 a 3 heteroátomos, cada uno se selecciona de manera independiente a partir del grupo que consiste en N, O y S; de manera alternativa, los dos grupos R<sup>2</sup> en átomos del anillo adyacentes se combinan para formar un anillo heterocicloalquilo que presenta de 5 a 6 miembros del anillo y de 1 a 3 heteroátomos, cada uno se selecciona de manera independiente a partir del grupo que consiste en N, O y S, donde el anillo heterocicloalquilo está sustituido con, de manera opcional, 1 a 3 grupos R<sup>2c</sup>; cada R<sup>2a</sup>, R<sup>2b</sup> y R<sup>2c</sup> se selecciona de manera independiente a partir del grupo que consiste en hidrógeno y alquilo C<sub>1-6</sub>, cada R<sup>3a</sup> es de manera independiente halógeno y el subíndice n es un número entero de 0 a 3 o sales e isómeros de estos.

20

25

30

Se describe en el presente documento, pero no se incluye en la presente invención, una composición de diagnóstico o un equipo de diagnóstico que comprende un antagonista del receptor de glucocorticoides (GRA) para su uso en un método de diagnóstico diferencial del síndrome de Cushing dependiente de la hormona adrenocorticotrópica (ACTH) en un paciente donde el diagnóstico diferencial se realiza entre el síndrome de ACTH ectópica y la enfermedad de Cushing, comprendiendo el método la etapa de determinación de la relación de concentración de ACTH a partir de un paciente con síndrome de Cushing y un nivel elevado de ACTH, donde el paciente ha recibido la administración de una dosis de antagonista del receptor de glucocorticoides (GRA) al menos dos horas antes de la retirada de muestras venosas y donde la cantidad de GRA administrada al paciente resulta suficiente para aumentar la ACTH de la glándula pituitaria al menos dos veces en personas con función hipotalámica-pituitaria-adrenal (HPA) normal; donde la relación de concentración de ACTH se deriva de las concentraciones de ACTH en el líquido obtenido del seno venoso petroso inferior izquierdo o derecho y del líquido obtenido de una muestra venosa periférica; y donde una relación de concentración de ACTH mayor que 3 para la concentración de ACTH de la muestra del seno venoso inferior con respecto a la muestra del seno venoso periférico sirve como diagnóstico de la enfermedad de Cushing. De manera adicional, todas las realizaciones en el primer aspecto que se describe anteriormente se incluyen, además, en este aspecto de la divulgación

35

40

45

Se describe en el presente documento, pero no se incluye en la presente invención, un método de obtención de una medición que indica el diagnóstico diferencial del síndrome de Cushing dependiente de la hormona adrenocorticotrópica (ACTH) en un paciente donde el diagnóstico diferencial se realiza entre el síndrome de ACTH ectópica y la enfermedad de Cushing, comprendiendo el método la etapa de: (i) determinar la relación de concentración de ACTH de un paciente con síndrome de Cushing y un nivel elevado de ACTH, donde el paciente ha recibido la administración de una dosis de antagonista del receptor de glucocorticoides (GRA) al menos dos horas antes de la retirada de muestras venosas y donde la cantidad de GRA administrada al paciente resulta suficiente para aumentar la ACTH de la glándula pituitaria al menos dos veces en personas con función hipotalámica-pituitaria-adrenal (HPA) normal; donde la relación de concentración de ACTH se deriva de las concentraciones de ACTH en el líquido obtenido del seno venoso petroso inferior izquierdo o derecho y del líquido obtenido de una muestra venosa periférica; y donde una relación de concentración de ACTH mayor que 3 para la concentración de ACTH de la muestra del seno venoso

inferior con respecto a la muestra del seno venoso periférico sirve como diagnóstico de la enfermedad de Cushing. De manera adicional, todas las realizaciones en el primer aspecto que se describe anteriormente se incluyen, además, en este aspecto de la divulgación

- 5 Se describe en el presente documento, pero no se incluye en la presente invención, un antagonista del receptor de glucocorticoides (GRA) para su uso en un método de diagnóstico diferencial del síndrome de Cushing dependiente de la hormona adrenocorticotrópica (ACTH) en un paciente donde el diagnóstico diferencial se realiza entre el síndrome de ACTH ectópica y la enfermedad de Cushing, comprendiendo el método las etapas de: (i) seleccionar un paciente con síndrome de Cushing y, además, niveles elevados de ACTH; (ii) administrar una dosis de GRA suficiente para aumentar la ACTH de la glándula pituitaria al menos dos veces en personas con función hipotalámica-pituitaria-adrenal (HPA) normal; (iii) esperar al menos dos horas; y (iv) obtener del paciente una relación de concentración de ACTH donde la relación se deriva de las concentraciones de ACTH en el líquido obtenido del seno venoso petroso inferior izquierdo o derecho y del líquido obtenido de una muestra venosa periférica; y donde una relación de concentración de ACTH mayor que 3 para la concentración de ACTH de la muestra del seno venoso inferior con respecto a la muestra del seno venoso periférico indica el diagnóstico de la enfermedad de Cushing. De manera adicional, todas las realizaciones en el primer aspecto que se describe anteriormente se incluyen, además, en este aspecto de la divulgación
- 10
- 15
- 20 Otros objetos, características y ventajas de la presente invención serán evidentes para un experto en la técnica a partir de la siguiente descripción detallada y las figuras.

#### Descripción detallada de la invención

- 25 I. Introducción
- 30 Esta invención implica el uso de GRA para proporcionar un medio robusto y reproducible para estimular la producción de ACTH en la glándula pituitaria para el diagnóstico diferencial de pacientes con síndrome de Cushing dependiente de ACTH, donde el diagnóstico diferencial se realiza entre el síndrome de ACTH ectópica y la enfermedad de Cushing. Los GRA se administran en primer lugar y luego, se toman muestras de sangre por IPSS después de un tiempo suficiente para evaluar los niveles de ACTH.

35 El método reivindicado presenta muchas ventajas con respecto a los métodos de diagnóstico diferencial existentes, tales como CRH-IPSS, DDAVP-IPSS y metirapona-IPSS. En primer lugar, el método reivindicado es más robusto en comparación con metirapona-IPSS. Los GRA utilizados en la invención actúan para bloquear la unión del cortisol con el receptor, impidiendo, de este modo, que el cortisol inhiba la producción de ACTH y dando como resultado un aumento de la producción/secreción de ACTH. En comparación con la metirapona, que actúa para bloquear la vía de síntesis de cortisol, el efecto de los GRA en la estimulación de ACTH es más directo, logrando, de este modo, que los resultados de la prueba sean más fiables. En segundo lugar, en comparación con CRH/DDAVP-IPSS, el método es

40 rentable y conveniente en cuanto al uso porque los GRA se pueden suministrar por vía oral, y resulta menos costoso que CRH en cuanto a la fabricación y el almacenamiento. En tercer lugar, en comparación con CRH/DDAVP-IPSS, el método divulgado en el presente documento prescinde de la necesidad de tomar muestras de sangre antes de la administración de GRA, y reduce, por lo tanto, la duración del cateterismo y minimiza las complicaciones asociadas con el cateterismo prolongado.

- 45 II. Definiciones
- 50 La expresión "síndrome de Cushing endógeno" se refiere a una forma de síndrome de Cushing, donde el exceso del nivel de cortisol es causado por la sobreproducción de cortisol del propio cuerpo.
- 55 La expresión "síndrome de Cushing dependiente de la hormona adrenocorticotrópica (ACTH)" se refiere a una forma del síndrome de Cushing, que es causada por una producción anormal de ACTH. Existen dos formas principales del síndrome de Cushing dependiente de ACTH: la enfermedad de Cushing (que representa aproximadamente el 80 % de los casos) y el síndrome de ACTH ectópica (que representa el 20 % de los casos).
- 60 La expresión "relación de concentración de ACTH", "relación de ACTH", "relación de ACTH de pituitaria a periferia" o "relación de ACTH central a periférica" que se divulga en el presente documento se refiere a la relación entre la cantidad, el nivel o la concentración de ACTH en la muestra de sangre obtenida del seno petroso inferior y la muestra de sangre obtenida de las venas periféricas. En una realización, la vena periférica es la vena yugular.
- 65 La expresión "relación de concentración de prolactina", "relación de prolactina", "relación de prolactina pituitaria a periferia" o "relación de prolactina central a periférica" que se divulga en el presente documento se refiere a la relación entre la cantidad, el nivel o la concentración de prolactina en la muestra de sangre obtenida del seno petroso inferior y la muestra de sangre obtenida de las venas periféricas. En una realización, la vena periférica es la vena yugular.
- La expresión "diagnóstico diferencial" se refiere a la diferenciación de una enfermedad o afección particular de otras que presentan síntomas similares. Un método de diagnóstico diferencial es un método de diagnóstico sistemático que

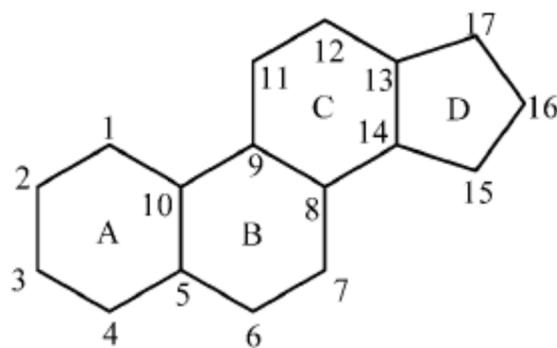
- se utiliza para identificar la presencia de una afección donde son posibles múltiples alternativas. Este método es esencialmente un proceso de eliminación o un proceso de obtención de información que reduce las "probabilidades" de las afecciones candidatas a niveles insignificantes. El método utiliza evidencia tales como síntomas, resultados de pruebas, historial del paciente y conocimiento médico para ajustar las confidencias epistémicas en la mente del diagnosticador (o, en el caso de diagnóstico informático o asistido por ordenador, el software del sistema). Frecuentemente, cada opción individual de una posible enfermedad se denomina diagnóstico diferencial.
- 5 La expresión "síndrome de ACTH ectópica" se refiere a la producción anormal de ACTH debido a la secreción de ACTH ectópica por un tumor extrapituitario. Estos tumores extrapituitarios se originan frecuentemente en los pulmones, pero en algunos casos se originan en el timo, el páncreas, la glándula adrenal o la tiroides.
- 10 La expresión "enfermedad de Cushing" se refiere a la afección en la que la glándula pituitaria libera demasiada ACTH como resultado de un tumor localizado en, o crecimiento excesivo (hiperplasia) de, la glándula pituitaria. La enfermedad de Cushing es una forma del síndrome de Cushing.
- 15 El término "hipercortisoolemia" se refiere a una afección en la que se presenta una cantidad mayor de lo normal de cortisol circulante.
- 20 La expresión "muestreo del seno petroso inferior (IPSS)" se refiere a un procedimiento invasivo que se realiza para obtener muestras de sangre de uno o ambos senos venosos petrosos mediante la inserción de catéteres en una o ambas venas petrosas inferiores a través de las venas yugulares o femorales. El seno venoso petroso drena la pituitaria a través del seno cavernoso. De este modo, las muestras obtenidas por IPSS se analizan y comparan frecuentemente con las muestras obtenidas de sangre periférica para la cantidad de un analito particular para detectar 25 signos de una enfermedad relacionada con la glándula pituitaria.
- 25 La expresión "muestreo de la vena yugular" se refiere a un procedimiento invasivo que se realiza para obtener muestras de sangre de venas yugulares (una vena periférica) mediante la inserción de catéteres en la vena yugular interna a través de las venas femorales. Las puntas de los catéteres se hacen avanzar normalmente hasta el nivel de los ángulos de la mandíbula.
- 30 La expresión "muestreo del seno venoso periférico" se refiere a un procedimiento invasivo que se realiza para obtener muestras de sangre de venas periféricas mediante cateterismo. Los ejemplos no limitantes de venas periféricas incluyen venas adrenales, vena cava superior e inferior, vena hepática, venas ácigos y hemiácigos, aurícula derecha, 35 venas innombradas y tímicas derecha e izquierda, venas yugulares y venas tiroideas superior y media.
- 35 El término "paciente", "individuo" o "sujeto" se usa de manera indistinta para referirse a un sujeto humano. En algunos casos, se presume que el individuo presenta insuficiencia adrenal.
- 40 El término "administrar" incluye administración oral, contacto tópico, administración como suppositorio, administración intravenosa, intraperitoneal, intramuscular, intralesional, intratecal, intranasal o subcutánea, o la implantación de un dispositivo de liberación lenta, por ejemplo, una bomba miniosmótica, a un sujeto. La administración tiene lugar por cualquier vía, incluida la parenteral y la transmucosa (por ejemplo, bucal, sublingual, palatal, gingival, nasal, vaginal, rectal o transdérmica). La administración parenteral incluye, por ejemplo, intravenosa, intramuscular, intraarterial, 45 intradérmica, epicutánea, subcutánea, intraperitoneal, intraventricular e intracraneal. Otros modos de administración incluyen, pero sin limitación, el uso de formulaciones liposomales, infusión intravenosa y parches transdérmicos.
- 45 El término "muestra" se refiere a una muestra biológica que se obtiene de un sujeto humano. La muestra puede ser cualquier célula, tejido o fluido de un sujeto humano. Las muestras pueden estar sujetas a diversos procedimientos de tratamiento, almacenamiento o procesamiento antes de analizarse de acuerdo con los métodos que se describen en el presente documento. De manera general, no se pretende que los términos "muestra" o "muestras" se limiten a su fuente, origen, forma de obtención, tratamiento, procesamiento, almacenamiento o análisis o cualquier modificación.
- 50 El término "cortisol" se refiere a una hormona glucocorticoide que se produce por la zona fasciculada de la glándula adrenal.
- 55 La expresión "hormona adrenocorticotrópica" o "ACTH" se refiere a una hormona sobre la base de polipéptidos que se produce y secreta normalmente por la glándula pituitaria anterior. La ACTH estimula la secreción de cortisol y otros glucocorticoides (GC) por células especializadas de la corteza adrenal. En mamíferos sanos, la secreción de ACTH se encuentra regulada de manera estricta. La secreción de ACTH se encuentra regulada de manera positiva por la hormona de liberación de corticotropina (CRH), que se libera por el hipotálamo. La secreción de ACTH se encuentra regulada de manera negativa por el cortisol y otros glucocorticoides.
- 60 La expresión "medición del nivel", en el contexto de cortisol, ACTH u otros esteroides, se refiere a determinar, detectar o cuantificar la cantidad, el nivel o la concentración de, por ejemplo, cortisol, ACTH u otros esteroides en una muestra que se obtiene de un sujeto.

- El término un "aumento" o una "reducción" se refiere a un cambio positivo o negativo detectable en la cantidad de un control de comparación, por ejemplo, un control convencional establecido (tal como un nivel promedio de cortisol en un sujeto normal, sano que no presenta hipercortisoolemia). Un aumento es un cambio positivo que equivale al, normalmente, al menos 5 %, al menos 10 % o al menos 20 % o 50 % o 100 %, y puede ser tan elevado como, al menos, 1,5 veces, al menos 2 veces, al menos 5 veces o incluso 10 veces del valor de control. De manera similar, una reducción es un cambio negativo que equivale al, normalmente, al menos 5 %, al menos 10 % o al menos 20 %, 30 % o 50 % o incluso puede ser tan elevado como al menos el 80 % o 90 % del valor de control. Otros términos que indican cambios cuantitativos o diferencias con respecto a una base comparativa, tales como "más", "menos", "más alto" y "más bajo", se usan en esta solicitud de la misma manera que se describe anteriormente.
- La expresión "valor de referencia normal", "valor de referencia" o "nivel de control convencional" se refiere a una cantidad, nivel o concentración predeterminada de un analito particular, por ejemplo, ACTH, cortisol o prolactina, en comparación con el cual se puede realizar un diagnóstico de la presencia o ausencia de una afección particular, por ejemplo, hipercortisoolemia. Los valores de referencia normales a los que se hace referencia en esta divulgación se proporcionan en algunos casos por la prueba comercial que se utiliza para determinar los niveles de analitos. En algunos casos, se establece un valor de referencia normal, un valor de referencia o un nivel de control convencional como promedio de la cantidad, el nivel o la concentración de un analito de uno o más sujetos normales sanos, por ejemplo, sujetos que presentan una función HPA normal. En algunos casos, se establece como un rango del nivel, la cantidad o la concentración del analito en un grupo de sujetos sanos. Los valores de referencia normales pueden variar según la naturaleza de la muestra, la forma o el momento de la recolección de la muestra, así como otros factores tales como el sexo, la edad y el origen étnico de los sujetos para quienes se establece un valor de control como tal.
- La expresión "nivel elevado", "cantidad elevada" o "concentración elevada" se refiere al nivel o cantidad del analito que resulta superior con respecto al valor de referencia normal para ese analito.
- El término "cromatografía" se refiere a un proceso en el que una mezcla química transportada por un líquido o un gas se separa en componentes como resultado de la distribución diferencial de las entidades químicas a medida que fluyen alrededor o sobre una fase líquida o sólida estacionaria.
- La expresión "cromatografía líquida" o "LC" se refiere a un proceso de demora selectiva de uno o más componentes de una solución líquida cuando el líquido se filtra de manera uniforme a través de una columna de una sustancia finamente dividida o a través de pasajes capilares. La demora da como resultado la distribución de los componentes de la mezcla entre una o más fases estacionarias y el líquido a granel, (es decir, fase móvil), ya que este líquido se mueve en relación con las fases estacionarias. Ejemplos de "cromatografía líquida" incluyen chromatografía líquida de fase inversa (RPLC), chromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC) y chromatografía líquida de flujo turbulento (TFLC) (que se conoce, a veces, como chromatografía líquida de alta turbulencia (HTLC) o chromatografía líquida de alta capacidad).
- La expresión "chromatografía líquida de alta resolución" o "HPLC" (que se conoce también como "chromatografía líquida de alta presión") se refiere a la chromatografía líquida en la que el grado de separación se aumenta al forzar la fase móvil bajo presión a través de una fase estacionaria, comúnmente una columna densamente empaquetada. Como se utiliza en el presente documento, la expresión "chromatografía líquida de ultra alta resolución", "HPLC" o "UHPLC" (que se conoce, a veces, como "chromatografía líquida de ultra alta presión") se refiere a HPLC que se produce a presiones mucho más altas que en las técnicas tradicionales de HPLC.
- El término "glucocorticosteroide" ("GC") o "glucocorticoide" se refiere a una hormona esteroidea que se une a un receptor de glucocorticoide. Los glucocorticosteroideos se caracterizan normalmente por presentar 21 átomos de carbono, una cetona  $\alpha,\beta$ -insaturada en el anillo A, y un grupo  $\alpha$ -cetol unido al anillo D. Se diferencian en el grado de oxigenación o hidroxilación en C-11, C-17 y C-19; véase Rawn, 'Biosynthesis and Transport of Membrane Lipids and Formation of Cholesterol Derivatives,' in Biochemistry, Daisy *et al.* (ed.), 1989, pág. 567.
- La expresión "receptor de glucocorticoides" ("GR") se refiere al GR de tipo II que se une de manera específica al cortisol y/o análogos de cortisol, tales como dexametasona; Véase, por ejemplo, Turner & Muller, J Mol. Endocrinol, 2005 (35): 283-292. El GR se denomina además como el receptor de cortisol. La expresión incluye isoformas de GR, GR recombinante y GR mutado. Las constantes de inhibición ( $K_i$ ) contra el receptor de GR humano tipo II (Genbank: P04150) se encuentran entre 0,0001 nM y 1000 nM; preferentemente, entre 0,0005 nM y 10 nM, y de mayor preferencia, entre 0,001 nM y 1 nM.
- La expresión "antagonista del receptor de glucocorticoides" o "GRA" se refiere a cualquier composición o compuesto que inhibe de manera parcial o completa (antagoniza) la unión de un agonista del receptor de glucocorticoides (GR), tal como cortisol o análogos de cortisol, sintético o natural, a un GR. Un "antagonista específico del receptor de glucocorticoides" se refiere a cualquier composición o compuesto que inhibe cualquier respuesta biológica que se relaciona con la unión de un GR a un agonista. Por "específico", el fármaco se une preferentemente al GR en lugar de a otros receptores nucleares, tales como el receptor de mineralocorticoides (MR), el receptor de andrógenos (AR) o el receptor de progesterona (PR). Se prefiere que el antagonista específico del receptor de glucocorticoides se una a GR

con una afinidad que es 10 veces mayor (1/10 del valor de  $K_d$ ) que su afinidad por el MR, el AR o el PR, tanto el MR como el PR, tanto el MR como el AR, tanto el AR como el PR o el MR, el AR y el PR. En una realización más preferida, el antagonista del receptor de glucocorticoides se une con un GR con una afinidad que es 100 veces mayor (1/100 del valor de  $K_d$ ) que su afinidad por MR, AR o PR, tanto el MR como el PR, tanto el MR como el AR, tanto el AR como el PR, o el MR, el AR y el PR.

La expresión "inhibidor selectivo" en el contexto de un receptor de glucocorticoides se refiere a un compuesto químico que interfiere de manera selectiva con la unión de un agonista específico del receptor de glucocorticoides y un receptor de glucocorticoides.

La expresión "estructura principal esteroidea" en el contexto de los antagonistas del receptor de glucocorticoides que la contienen, se refiere a antagonistas del receptor de glucocorticoides que contienen modificaciones de la estructura básica del cortisol, un ligando del receptor de glucocorticoides esteroideo endógeno. La estructura básica de una estructura principal esteroidea se proporciona como Fórmula I:



Fórmula I: estructura principal esteroidea

Las dos clases de modificaciones estructurales de la estructura principal de esteroide cortisol para crear antagonistas de glucocorticoides que más comúnmente se conocen incluyen modificaciones del grupo 11- $\beta$  hidroxi y modificación de la cadena lateral 17- $\beta$  (véase, por ejemplo, Lefebvre (1989) J. Steroid Biochem. 33: 557-563).

Como se utiliza en el presente documento, la expresión "estructura principal no esteroidea" en el contexto de los antagonistas del receptor de glucocorticoides que la contienen se refiere a antagonistas del receptor de glucocorticoides que no comparten homología estructural con, o no son modificaciones de, cortisol. Tales compuestos incluyen miméticos sintéticos y análogos de proteínas, incluidas entidades moleculares parcialmente peptídicas, pseudopeptídicas y no peptídicas.

Los compuestos GRA no esteroideos incluyen, además, antagonistas del receptor de glucocorticoides que presentan una estructura principal de ciclohexilpirimidina, una estructura principal de azadecalina fusionada, una estructura principal de azadecalina fusionada con heteroaril cetona o una estructura principal de azadecalina fusionada con octahidro. Los ejemplos de antagonistas del receptor de glucocorticoides que presentan una estructura principal de ciclohexilpirimidina incluyen los que se describen en la patente de EE. UU. n.º 8,685,973. Los GRA de ejemplo que presentan una estructura principal de azadecalina fusionada incluyen los que se describen en las patentes de EE. UU. n.º 7,928,237 y 8,461,172. Los GRA de ejemplo que presentan una estructura principal de azadecalina fusionada con heteroaril cetona incluyen los que se describen en la publicación de patente de EE. UU. 2014/0038926. Los GRA de ejemplo que presentan una estructura principal de azadecalina fusionada con octahidro incluyen los que se describen en la solicitud de patente provisional de EE. UU. n.º 61/908,333, titulada "Moduladores del receptor de glucocorticoides de azadecalina fusionada con octahidro", expediente del abogado n.º 85178-887884 (007800US), presentada el 25 de noviembre de 2013.

Cuando los grupos sustituyentes se especifican mediante sus fórmulas químicas convencionales, escritas de izquierda a derecha, estos incluyen de igual manera a los sustituyentes químicamente idénticos que resultarían de escribir la estructura de derecha a izquierda, por ejemplo,  $-\text{CH}_2\text{O}-$  es equivalente a  $-\text{OCH}_2-$ .

"Alquilo" se refiere a un radical alifático, saturado, lineal o ramificado que presenta el número de átomos de carbono indicado. El alquilo puede incluir cualquier número de carbonos, como C<sub>1-2</sub>, C<sub>1-3</sub>, C<sub>1-4</sub>, C<sub>1-5</sub>, C<sub>1-6</sub>, C<sub>1-7</sub>, C<sub>1-8</sub>, C<sub>1-9</sub>, C<sub>1-10</sub>, C<sub>2-3</sub>, C<sub>2-4</sub>, C<sub>2-5</sub>, C<sub>2-6</sub>, C<sub>3-4</sub>, C<sub>3-5</sub>, C<sub>3-6</sub>, C<sub>4-5</sub>, C<sub>4-6</sub> y C<sub>5-6</sub>. Por ejemplo, alquilo C<sub>1-6</sub> incluye, pero sin limitación, metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, isobutilo, sec-butilo, tert-butilo, pentilo, isopentilo y hexilo.

"Alcoxi" se refiere a un grupo alquilo que presenta un átomo de oxígeno que conecta el grupo alquilo con el punto de unión: alquil-O-. En cuanto al grupo alquilo, los grupos alcoxi pueden presentar cualquier número adecuado de átomos

- de carbono, tal como C<sub>1-6</sub>. Los grupos alcoxi incluyen, por ejemplo, metoxi, etoxi, propoxi, isopropoxi, butoxi, 2-butoxi, iso-butoxi, sec-butoxi, *tert*-butoxi, pentoxi, hexoxi, etc.
- 5 "Halógeno" se refiere a flúor, cloro, bromo y yodo.
- "Haloalquilo" se refiere a alquilo, como se define anteriormente, donde algunos o todos los átomos de hidrógeno se reemplazan con átomos de halógeno. En cuanto al grupo alquilo, los grupos haloalquilo pueden presentar cualquier número adecuado de átomos de carbono, tales como C<sub>1-6</sub>, e incluyen trifluorometilo, fluorometilo, etc.
- 10 El término "perfluoro" se puede utilizar para definir un compuesto o radical donde todos los hidrógenos se reemplazan con flúor. Por ejemplo, el perfluorometano incluye 1,1,1-trifluorometilo.
- 15 "Haloalcoxi" se refiere a un grupo alcoxi donde algunos o todos los átomos de hidrógeno están sustituidos con átomos de halógeno. En cuanto al grupo alquilo, los grupos haloalcoxi pueden presentar cualquier número adecuado de átomos de carbono, tal como C<sub>1-6</sub>. Los grupos alcoxi pueden estar sustituidos con 1, 2, 3 o más halógenos. Cuando todos los hidrógenos se reemplazan con un halógeno, por ejemplo, con flúor, los compuestos están persustituidos, por ejemplo, perfluorados. Haloalcoxi incluye, pero sin limitación, trifluorometoxi, 2,2,2-trifluoroetoxi y perfluoroetoxi.
- 20 "Cicloalquilo" se refiere a un montaje de anillo saturado o parcialmente insaturado, monocíclico, bicíclicos fusionado o policíclico enlazado que contiene de 3 a 12 átomos del anillo, o el número de átomos indicado. El cicloalquilo puede incluir cualquier número de carbonos, tales como C<sub>3-6</sub>, C<sub>4-6</sub>, C<sub>5-6</sub>, C<sub>3-8</sub>, C<sub>4-8</sub>, C<sub>5-8</sub>, C<sub>6-8</sub>, C<sub>3-9</sub>, C<sub>3-10</sub>, C<sub>3-11</sub> y C<sub>3-12</sub>. Los anillos cicloalquilo monocíclicos saturados incluyen, por ejemplo, ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo y ciclooctilo. Los anillos cicloalquilo bicíclicos y policíclicos saturados incluyen, por ejemplo, norbornano, [2.2.2]biciclooctano, decahidronaftaleno y adamantano. Los grupos cicloalquilo se pueden encontrar, además, parcialmente insaturados y presentar uno o más enlaces dobles o triples en el anillo. Los grupos cicloalquilo representativos que se encuentran parcialmente insaturados incluyen, pero sin limitación, ciclobuteno, ciclopenteno, ciclohexeno, ciclohexadieno (isómeros 1,3- y 1,4-), ciclohepteno, cicloheptadieno, cicloocteno, ciclooctadieno (isómeros 1,3-, 1,4- y 1,5-), norborneno y norbornadieno. Cuando el cicloalquilo es un cicloalquilo C<sub>3-8</sub> monocíclico saturado, los grupos de ejemplo incluyen, pero sin limitación, ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, cicloheptilo y ciclooctilo. Cuando el cicloalquilo es un cicloalquilo C<sub>3-6</sub> monocíclico saturado, los grupos de ejemplo incluyen, pero sin limitación, ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo y ciclohexilo.
- 25 "Heterocicloalquilo" se refiere a un sistema de anillo saturado que presenta de 3 a 12 miembros del anillo y de 1 a 4 heteroátomos de N, O y S. También pueden resultar útiles heteroátomos adicionales, incluidos, pero sin limitación, B, A1, Si y P. Los heteroátomos se pueden oxidar también, tales como, pero sin limitación, -S(O)- y -S(O)<sub>2</sub>. Los grupos heterocicloalquilo pueden incluir cualquier número de átomos del anillo, tales como 3 a 6, 4 a 6, 5 a 6, 3 a 8, 4 a 8, 5 a 8, 6 a 8, 3 a 9, 3 a 10, 3 a 11 o 3 a 12 miembros del anillo. Se puede incluir cualquier número adecuado de heteroátomos en los grupos heterocicloalquilo, tales como 1, 2, 3 o 4, o 1 a 2, 1 a 3, 1 a 4, 2 a 3, 2 a 4 o 3 a 4. El grupo heterocicloalquilo puede incluir grupos tales como aziridina, azetidina, pirrolidina, piperidina, azepano, azocano, quinuclidina, pirazolidina, imidazolidina, piperazina (isómeros 1,2-, 1,3- y 1,4-), oxirano, oxetano, tetrahidrofurano, oxano (tetrahidropirano), oxepano, tiirano, tietano, tiolano (tetrahidrotiopirano), tiano (tetrahidrotiopirano), oxazolidina, isoxalidina, tiazolidina, isotiazolidina, dioxolano, ditiolano, morfolina, tiomorfolina, dioxano o ditiano. Los grupos heterocicloalquilo se pueden fusionar, además, con sistemas de anillos aromáticos o no aromáticos para formar miembros que incluyen, pero sin limitación, indolina.
- 30 "Arilo" se refiere a un sistema de anillo aromático que presenta cualquier número adecuado de átomos en el anillo y cualquier número adecuado de anillos. Los grupos arilo pueden incluir cualquier número adecuado de átomos del anillo, tal como 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 o 16 átomos del anillo, así como de 6 a 10, 6 a 12 o 6 a 14 miembros del anillo. Los grupos arilo pueden ser monocíclicos, fusionarse para formar grupos bicíclicos o tricíclicos o unirse por un enlace para formar un grupo biarilo. Los grupos arilo representativos incluyen fenilo, naftilo y bifenilo. Otros grupos arilo incluyen bencilo, que presenta un grupo de unión a metileno. Algunos grupos arilo presentan de 6 a 12 miembros del anillo, tales como fenilo, naftilo o bifenilo. Otros grupos arilo presentan de 6 a 10 miembros de anillo, tales como fenilo o naftilo. Otros grupos arilo presentan 6 miembros del anillo, tal como fenilo. Los grupos arilo pueden estar sustituidos o no sustituidos.
- 35 "Heteroarilo" se refiere a un montaje de anillo aromático monocíclico, bicíclico fusionado o tricíclico que contiene de 5 a 16 átomos del anillo, donde de 1 a 5 de los átomos del anillo son un heteroátomo tal como N, O o S. También pueden resultar útiles heteroátomos adicionales que incluyen, pero sin limitación, B, A1, Si y P. Los heteroátomos se pueden
- 40
- 45
- 50
- 55
- 60
- 65

oxidar, además, tales como, pero sin limitación, N-óxido, -S(O) - y -S(O)<sub>2</sub>- . Los grupos heteroarilo pueden incluir cualquier número de átomos del anillo, tal como 3 a 6, 4 a 6, 5 a 6, 3 a 8, 4 a 8, 5 a 8, 6 a 8, 3 a 9, 3 a 10, 3 a 11 o 3 a 12 miembros del anillo. Cualquier número adecuado de heteroátomos se puede incluir en los grupos heteroarilo, tales como 1, 2, 3, 4 o 5; o 1 a 2, 1 a 3, 1 a 4, 1 a 5, 2 a 3, 2 a 4, 2 a 5, 3 a 4, o 3 a 5. Los grupos heteroarilo pueden presentar de 5 a 8 miembros del anillo y de 1 a 4 heteroátomos, o de 5 a 8 miembros del anillo y de 1 a 3 heteroátomos, o de 5 a 6 miembros del anillo y de 1 a 4 heteroátomos, o de 5 a 6 miembros del anillo y de 1 a 3 heteroátomos. El grupo heteroarilo puede incluir grupos tales como pirrol, piridina, imidazol, pirazol, triazol, tetrazol, pirazina, pirimidina, piridazina, triazina (isómeros 1,2,3-, 1,2,4- y 1,3,5-), tiofeno, furano, tiazol, isotiazol, oxazol e isoxazol. Los grupos heteroarilo se pueden fusionar, además, a sistemas de anillos aromáticos, tal como un anillo fenilo, para formar miembros que incluyen, pero sin limitación, benzopirroles, tales como indol e isoindol, benzopiridinas, tales como quinolina e isoquinolina, benzopirazina (quinoxalina), benzopirimidina (quinazolina), benzopiridazinas, tales como ftalazina y cinolina, benzotiofeno y benzofurano. Otros grupos heteroarilo incluyen anillos heteroarilo unidos por un enlace, tales como bipiridina. Los grupos heteroarilo pueden estar sustituidos o no sustituidos.

Los grupos heteroarilo se pueden unir a través de cualquier posición en el anillo. Por ejemplo, pirrol incluye 1-, 2- y 3-pirrol; piridina incluye 2-, 3- y 4-piridina; imidazol incluye 1-, 2-, 4- y 5-imidazol; pirazol incluye 1-, 3-, 4- y 5-pirazol; triazol incluye 1-, 4- y 5-triazol; tetrazol incluye 1- y 5-tetrazol; pirimidina incluye 2-, 4-, 5- y 6-pirimidina; piridazina incluye 3- y 4-piridazina; 1,2,3-triazina incluye 4- y 5-triazina; 1,2,4-triazina incluye 3, 5 y 6-triazina; 1,3,5-triazina incluye 2-triazina; tiofeno incluye 2- y 3-tiofeno; furano incluye 2- y 3-furano; tiazol incluye 2-, 4- y 5-tiazol; isotiazol incluye 3-, 4- y 5-isotiazol; oxazol incluye 2-, 4- y 5-oxazol; isoxazol incluye 3-, 4- y 5-isoxazol; indol incluye 1-, 2- y 3-indol; isoindol incluye 1- y 2-isoindol; quinolina incluye 2-, 3- y 4-quinolina; isoquinolina incluye 1-, 3- y 4-isoquinolina; quinazolina incluye 2- y 4-quinoazolina; cinolina incluye 3- y 4- cinolina; benzotiofeno incluye 2- y 3-benzotiofeno; y benzofurano incluye 2- y 3-benzofurano.

Algunos grupos heteroarilo incluyen los que presentan de 5 a 10 miembros del anillo y de 1 a 3 átomos del anillo, incluidos N, O o S, tales como pirrol, piridina, imidazol, pirazol, triazol, pirazina, pirimidina, piridazina, triazina (isómeros 1,2,3-, 1,2,4- y 1,3,5-), tiofeno, furano, tiazol, isotiazol, oxazol, isoxazol, indol, isoindol, quinolina, isoquinolina, quinoxalina, quinazolina, ftalazina, cinolina, benzotiofeno y benzofurano. Otros grupos heteroarilo incluyen los que presentan de 5 a 8 miembros del anillo y de 1 a 3 heteroátomos, tales como pirrol, piridina, imidazol, pirazol, triazol, pirazina, pirimidina, piridazina, triazina (isómeros 1,2,3-, 1,2,4- y 1,3,5-), tiofeno, furano, tiazol, isotiazol, oxazol e isoxazol. Otros grupos heteroarilo incluyen los que presentan de 9 a 12 miembros del anillo y de 1 a 3 heteroátomos, tales como indol, isoindol, quinolina, isoquinolina, quinoxalina, quinazolina, ftalazina, cinolina, benzotiofeno, benzofurano y bipiridina. Incluso otros grupos heteroarilo incluyen los que presentan de 5 a 6 miembros del anillo y de 1 a 2 heteroátomos del anillo que incluyen N, O o S, tales como pirrol, piridina, imidazol, pirazol, pirazina, pirimidina, piridazina, tiofeno, furano, tiazol, isotiazol, oxazol e isoxazol.

Algunos grupos heteroarilo incluyen de 5 a 10 miembros del anillo y solo heteroátomos de nitrógeno, tales como pirrol, piridina, imidazol, pirazol, triazol, pirazina, pirimidina, piridazina, triazina (isómeros 1,2,3-, 1,2,4- y 1,3,5-), indol, isoindol, quinolina, isoquinolina, quinoxalina, quinazolina, ftalazina y cinolina. Otros grupos heteroarilo incluyen de 5 a 10 miembros del anillo y solo heteroátomos de oxígeno, tales como furano y benzofurano. Otros grupos heteroarilo incluyen de 5 a 10 miembros del anillo y solo heteroátomos de azufre, tales como tiofeno y benzotiofeno. Incluso otros grupos heteroarilo incluyen de 5 a 10 miembros del anillo y al menos dos heteroátomos, tales como imidazol, pirazol, triazol, pirazina, pirimidina, piridazina, triazina (isómeros 1,2,3-, 1,2,4- y 1,3,5-), tiazol, isotiazol, oxazol, isoxazol, quinoxalina, quinazolina, ftalazina y cinolina.

“Heteroátomos” se refiere a O, S o N.

“Sal” se refiere a sales ácidas o básicas de los compuestos que se utilizan en el método de la presente invención. Los ejemplos ilustrativos de sales farmacéuticamente aceptables incluyen sales de ácido mineral (ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido fosfórico y similares), sales de ácido orgánico (ácido acético, ácido propiónico, ácido glutámico, ácido cítrico y similares) y sales de amonio cuaternario (yoduro de metilo, yoduro de etilo y similares). Se entiende que las sales farmacéuticamente aceptables no son tóxicas. Se puede encontrar información adicional sobre las sales farmacéuticamente aceptables adecuadas en Remington's Pharmaceutical Sciences, 17<sup>a</sup> ed., Mack Publishing Company, Easton, Pensilvania, 1985.

“Isómeros” se refiere a compuestos con la misma fórmula química pero que se diferencian desde el punto de vista estructural.

“Tautómero” se refiere a uno de dos o más isómeros estructurales que existen en equilibrio y que se convierten de una forma a otra de manera sencilla.

Las descripciones de los compuestos que se describen en el presente documento están limitadas por los principios de enlace químico que se conocen por los expertos en la técnica. De acuerdo con esto, cuando un grupo puede estar sustituido con uno o más de varios sustituyentes, tales sustituciones se seleccionan de manera tal que cumplan con los principios de enlace químico y produzcan compuestos que no son inherentemente inestables, y/o una persona de

conocimiento ordinario en la técnica sabría que es probable que sean inestables en condiciones ambientales, tales como condiciones acuosas, neutras o fisiológicas.

- 5 "Excipiente farmacéuticamente aceptable" y "vehículo farmacéuticamente aceptable" se refieren a una sustancia que ayuda a la administración de un agente activo a un sujeto y a su absorción y se puede incluir en las composiciones que se describen en el presente documento sin provocar un efecto toxicológico adverso significativo en el paciente. Los ejemplos no limitantes de los excipientes farmacéuticamente aceptables incluyen agua, NaCl, soluciones salinas normales, lactato de Ringer, sacarosa normal, glucosa normal, aglutinantes, cargas, desintegradores, lubricantes, 10 revestimientos, edulcorantes, sabores y colores, y similares. La persona de capacidad ordinaria en la técnica reconocerá que otros excipientes farmacéuticos son útiles.

### III. Descripción detallada de realizaciones

#### 15 A. Método para el diagnóstico diferencial del síndrome de Cushing dependiente de ACTH

##### 1. Selección de pacientes con síndrome de Cushing dependiente de ACTH

20 Los métodos que se describen en el presente documento se utilizan para proporcionar un diagnóstico diferencial entre la enfermedad de Cushing y el síndrome de ACTH ectópica en pacientes quienes ya han sido diagnosticados con síndrome de Cushing dependiente de ACTH. Un diagnóstico del síndrome de Cushing dependiente de ACTH se puede realizar sobre la base de la observación de determinados síntomas clínicos, la detección de hipercortisolemia y niveles elevados de ACTH en sangre.

##### 25 a. Síntomas clínicos

30 Los pacientes elegibles pueden presentar uno o más de los siguientes síntomas: propensión a desarrollar hematomas; obesidad abdominal y brazos y piernas delgada; plétora facial; acné; miopatía proximal (o debilidad muscular proximal); estrías (de manera especial, si son rojizas moradas y de 1 cm de ancho); y piel fina. Además, los pacientes pueden sentir frecuentemente cambios de humor; cambio en el apetito, dolores de cabeza; una sensación crónica de cansancio; osteoporosis; potasio bajo; diabetes y presión sanguínea elevada; reducción de la concentración; hipopotasemia de edema periférico; reducción de la libido; acné; cálculos renales; deterioro de la memoria (de manera especial, a corto plazo) e infecciones inusuales. Las pacientes mujeres pueden presentar menstruación irregular, 35 hirsutismo o calvicie femenina. Los pacientes pediátricos pueden presentar aumento de peso y reducción de la velocidad de crecimiento; virilización genital anormal; baja estatura y pseudopubertad precoz o pubertad retrasada. El siguiente paso es confirmar que estos pacientes presentan hipercortisolemia.

##### b. Hipercortisolemia

40 Un diagnóstico de hipercortisolemia requiere la determinación del nivel de cortisol circulante del paciente. Se pueden utilizar diversos tipos de muestras para este propósito, tales como saliva, orina, sangre entera, suero y plasma. Las muestras se pueden recolectar, además, en diferentes momentos del día. En un enfoque, se recolecta la muestra de sangre entera del paciente y se procesa para recolectar suero, es decir, durante la mañana, por ejemplo, a las 8 a. m., o durante la tarde, por ejemplo, a las 4 p. m. La muestra de suero que se recolecta se refrigerara o congela durante, por 45 ejemplo, 2 horas después de la recolección. El análisis de la muestra de suero se realiza de manera oportuna, por ejemplo, durante los 7 días posteriores a la recolección de la muestra. En otro enfoque, los niveles de cortisol del paciente se miden a partir de sus muestras de saliva. El cortisol salival se encuentra en equilibrio con el cortisol libre en la circulación sanguínea. Los cambios de los niveles de cortisol en el torrente sanguíneo son paralelos, en minutos, por alteraciones similares en las concentraciones de cortisol salival, de manera tal que se puede utilizar este último 50 como sustituto del primero. La prueba de cortisol sobre la base de saliva de uso común consiste en la prueba de saliva de medianoche, que mide los niveles de cortisol de muestras de saliva recolectadas entre las 11 p. m. y la medianoche. No se permite la ingesta de alimentos o bebidas al menos 15 minutos antes de la recolección de la muestra. Las muestras de saliva se recolectan al mantener y girar un hisopo en la boca durante aproximadamente 2 minutos. Las 55 muestras de saliva, a temperatura ambiente o refrigeradas, se envían a un laboratorio para determinación del nivel de cortisol de manera oportuna, por ejemplo, durante los 7 días posteriores a la recolección de la muestra.

60 Los expertos en la técnica conocen métodos para medir los niveles de cortisol. Los ensayos útiles incluyen inmunoensayos, por ejemplo, inmunoensayo competitivo, radioinmunoensayo, ensayo enzimático inmunofluorométrico y ELISA, ensayo de unión competitiva a proteínas y espectrometría de masas, por ejemplo, cromatografía líquida de alta resolución/espectrometría de masas de triple cuadrupolo (LC-MS/MS). Los equipos comerciales para medir el cortisol en muestras se encuentran disponibles en Beckman-Coulter, Siemens, Roche Diagnostics y similares. Ejemplos no limitantes de pruebas de cortisol son SALCT, CORT, CORTU y CORTU de Mayo Clinic y pruebas CINP; un ensayo ADVIA Centaur® Cortisol (Siemens Healthcare Global); Cortisol ARCHITECT i2000SR (Abbott); ensayo Immulite® 2000 Cortisol (Siemens Healthcare Global; # L2KCO2), ensayo Vitros® ECi 65 Cortisol (Ortho Clinical Diagnostics; n.º 107 4053) e inmunoensayo de cortisol Elecsys® (Roche Molecular Diagnostics; n.º 11875116160).

La medición de cortisol del paciente se compara luego con el valor de referencia normal; un nivel mayor en comparación con el valor de referencia normal indica que el paciente presenta hipercortisolemia. Los valores de referencia normales para los niveles de cortisol varían dependiendo de la naturaleza de las muestras, la manera y el momento de la recolección de la muestra (mayor para las muestras recolectadas durante la mañana y menor para las muestras recolectadas durante la noche) y el método de detección. De este modo, resulta fundamental interpretar los resultados de la prueba en el contexto de los valores de referencia normales apropiados. Diversos equipos comerciales proporcionan valores de referencia normales en protocolos de prueba. Por ejemplo, valores de referencia normales para la prueba SALCT de Mayo Clinic que determina el nivel de cortisol en la saliva es <100 ng/dl; un nivel de cortisol salival mayor que 100 ng/dl resulta, por lo tanto, una indicación de hipercortisolemia. Despues de ser diagnosticado con hipercortisolemia, el paciente se somete a pruebas adicionales para confirmar la presencia del síndrome de Cushing.

5 c. Síndrome de Cushing

10 Se realizan al menos una, preferentemente dos o más, de las siguientes pruebas para diagnosticar el síndrome de Cushing: 1) prueba de supresión con dexametasona, que documenta una pérdida de la inhibición por retroalimentación del cortisol en el eje hipotalámico-pituitario-adrenal (HPA); 2) prueba de cortisol libre en orina de 24 horas, que evalúa la secreción de cortisol en un período de 24 horas; y 3) cortisol salival de medianoche, que evalúa la pérdida de la variación diurna normal en la secreción de cortisol. Si dos de las tres pruebas muestran niveles anormales de cortisol, se confirma el síndrome de Cushing.

15 La prueba de supresión con dexametasona se utiliza normalmente como prueba de detección para el síndrome de Cushing. La dexametasona es un esteroide exógeno que se une a los receptores de glucocorticoides en la glándula pituitaria anterior. Cuando se tratan individuos sanos con una dosis baja (1 a 2 mg) de dexametasona, la unión de dexametasona a los receptores de glucocorticoides proporciona retroalimentación negativa a la glándula pituitaria y da como resultado la supresión de secreción de ACTH. La supresión de secreción de ACTH da como resultado, a su vez, la supresión de liberación de cortisol y, por lo tanto, una reducción detectable del nivel de cortisol en circulación. En cambio, cuando se tratan pacientes que presentan síndrome de Cushing con una dosis baja de dexametasona, se 20 puede detectar una reducción de los niveles de cortisol mínima o nula debido a la producción excesiva de cortisol asociada con la enfermedad. En un enfoque, la prueba de supresión con dexametasona se realiza mediante la administración de una dosis baja de dexametasona, por ejemplo, 1 mg, la noche anterior, por ejemplo, a las 11 p. m. Luego, a la mañana siguiente, por ejemplo, entre las 8 a. m. y las 9 a. m.; se toman muestras de sangre del paciente y se miden los niveles de cortisol sérico. Debido a que los sujetos normales presentan normalmente niveles séricos 25 de cortisol reducidos a menos de 1,8 mg/dl, un nivel de cortisol sérico de más de 1,8 mg/dl indica la presencia del síndrome de Cushing.

30 La prueba de cortisol libre en orina de 24 horas es la convención de oro para diagnosticar el síndrome de Cushing. Esta prueba utiliza el principio de que la producción de cortisol aumenta con el síndrome de Cushing y las mediciones 35 de la excreción urinaria proporcionan una estimación integral de ese aumento. Un resultado mayor que los valores de referencia normales indica la presencia del síndrome de Cushing. Un aumento de 3 a 4 veces con respecto a los valores de referencia normales proporciona un diagnóstico definitivo del síndrome de Cushing; si este aumento se presenta, no se requieren pruebas adicionales para confirmar el diagnóstico. Para aumentos menos dramáticos en la prueba de cortisol libre urinario (UFC), se requieren otras pruebas, tales como la prueba de supresión nocturna con dexametasona y la prueba de cortisol salival de medianoche, como se describe anteriormente.

40 La prueba de saliva de medianoche es otra prueba que se utiliza comúnmente para confirmar el síndrome de Cushing. Véase la descripción de la prueba en la sección anterior.

45 Si se confirma que el paciente presenta síndrome de Cushing mediante dos de las tres pruebas o mediante la detección de un aumento de 3 a 4 veces del nivel de cortisol en la prueba de cortisol libre en orina de 24 horas, la siguiente etapa consiste en medir la ACTH para confirmar que el paciente presenta síndrome de Cushing dependiente de ACTH.

50 d. Síndrome de Cushing dependiente de ACTH

55 Existen dos tipos de síndrome de Cushing endógeno: dependiente de ACTH e independiente de ACTH. El nivel elevado de cortisol asociado con síndrome de Cushing dependiente de ACTH es causado por la sobreproducción de ACTH a partir de un tumor, por ejemplo, un tumor pituitario o un tumor extrapituitario. El nivel excesivo de cortisol 60 asociado con síndrome de Cushing independiente de ACTH es causado, por otro lado, por la sobreproducción de cortisol por un tumor en la glándula adrenal o el crecimiento excesivo de la glándula adrenal, cualquiera de los cuales inhibe la producción y la liberación de ACTH. De este modo, los niveles de ACTH son elevados en pacientes que presentan síndrome de Cushing dependiente de ACTH pero bajos o incluso no detectables en pacientes que presentan síndrome de Cushing independiente de ACTH.

65 Las muestras biológicas que son adecuadas para la determinación de ACTH pueden ser suero, plasma, saliva, orina o cualquier otro fluido biológico que se toma de un sujeto. La muestra puede ser igual o diferente con respecto a la muestra que se utiliza para la medición del nivel de cortisol. En algunos casos, la misma muestra que se utiliza para

5 medir el nivel de cortisol se puede utilizar para medir el nivel de ACTH. En otros casos, se utilizan diferentes muestras para medir los niveles de cortisol y ACTH. Por ejemplo, los niveles de cortisol se pueden medir en saliva y los niveles de ACTH se pueden medir en plasma. En incluso otros casos, diferentes muestras del mismo tipo se utilizan para medir los niveles.

10 El nivel de ACTH se puede medir mediante el uso de diversos métodos, que incluyen, pero sin limitación, inmunoensayos, por ejemplo, inmunoensayo competitivo, radioinmunoensayo, ensayo enzimático inmunofluorométrico y ELISA; ensayos de unión competitiva de proteínas; cromatografía líquida (por ejemplo, HPLC); y espectrometría de masas, por ejemplo, cromatografía líquida de alta resolución/espectrometría de masas de triple cuadrupolo (LC-MS/MS). Los equipos comerciales para medir ACTH se encuentran disponibles de manera sencilla, por ejemplo, de la clínica Mayo (ID de prueba: ACTH), Siemens Healthcare Global (ensayo de ACTH Immulite® 2000) y Roche Molecular Diagnostics (número de catálogo 03255751190).

15 Una concentración plasmática de ACTH mayor que el valor de referencia normal indica que el paciente presenta síndrome de Cushing dependiente de ACTH. Los valores de referencia normales varían dependiendo del método de ensayo, el tipo de muestra y el tiempo de recolección de la muestra; como el cortisol, la ACTH varía en individuos sanos durante un período de 24 horas, alcanzando su nivel más alto durante la mañana, aproximadamente de 6 a. m. a 8 a. m., y más bajo durante la noche, aproximadamente a las 11 p. m. Diversos equipos comerciales proporcionan 20 los valores de referencia normales en sus protocolos de prueba. Por ejemplo, los valores de referencia normales para el ID de prueba: ACTH de Mayo Clinic son aproximadamente de 10 pg/ml a 60 pg/ml.

25 Se seleccionan pacientes diagnosticados con síndrome de Cushing dependiente de ACTH, y se realiza el diagnóstico diferencial como se describe a continuación.

25 2. Método de diagnóstico diferencial de síndrome de Cushing dependiente de ACTH

30 El método de diagnóstico diferencial utiliza GRA para discriminar entre la enfermedad de Cushing y el síndrome de Cushing de ACTH ectópica, las dos formas principales del síndrome de Cushing dependiente de ACTH. Los GRA impiden que el cortisol inhiba tanto la producción de CRH en el hipotálamo como la producción de ACTH en la glándula pituitaria a través de una interacción de retroalimentación negativa, lo que da como resultado una producción y liberación de ACTH aumentadas. Los pacientes con enfermedad de Cushing presentan tumores productores de ACTH 35 en la glándula pituitaria y presentarán, por lo tanto, un mayor aumento del nivel de ACTH alrededor de la región pituitaria en comparación con la región periférica (fuera de la región pituitaria). En cambio, los pacientes con síndrome de ACTH ectópica presentan el tumor que crece por fuera de la glándula pituitaria y presentarán, por lo tanto, un mayor aumento de ACTH en la periferia que alrededor de la región pituitaria. De este modo, se puede utilizar una relación pituitaria a periferia para discriminar entre los dos tipos principales de síndrome de Cushing dependiente de ACTH.

40 a. Administración de GRA

40 El GRA se administra en una dosis que resulta suficiente para aumentar la ACTH en la glándula pituitaria al menos dos veces en personas con funciones HPA normales. En una realización, el GRA es mifepristona. En una realización, la mifepristona se administra al paciente por vía oral. En una realización, la mifepristona se administra a 300 mg-1500 mg. En una realización, el GRA se administra a las 11 p. m. la noche anterior al IPSS.

45 b. IPSS

50 La ACTH pituitaria se mide a partir de la muestra de sangre obtenida de los senos petrosos inferiores izquierdo, derecho o ambos (IPS), que drenan la glándula pituitaria. El nivel de ACTH en la periferia se determina a partir de la muestra de sangre de una vena periférica. El procedimiento de muestreo de los senos petrosos inferiores (que se conoce como IPSS) y la periferia se realiza normalmente por un radiólogo intervencionista.

55 El IPSS se realiza normalmente en la mañana después de la administración de GRA, por ejemplo, entre las 8 a. m. y las 10 a. m., mediante uno o dos microcatéteres que se hacen avanzar desde la vena femoral hasta ambos senos petrosos inferiores o uno de ellos. Mientras tanto, otro microcatéter se hace avanzar hasta una vena periférica, por ejemplo, la vena yugular. Se utiliza un venograma, o una venografía digital, que documenta la posición de los catéteres, con el fin de asegurar la correcta colocación del catéter; el muestreo comienza solo después de confirmar que el microcatéter se encuentra bien posicionado en el IPS. Se realizan dos muestreos, con 5 a 10 minutos de diferencia, mediante la extracción de sangre de manera simultánea de los IPS y la vena yugular en cada muestreo. Las muestras obtenidas se colocan inmediatamente en tubos que contienen EDTA en hielo. En algunos casos, se realiza un IPSS 60 solo en un seno, es decir, el seno izquierdo o derecho. En algunos casos, el IPSS se realiza en ambos senos (BIPSS). BIPSS proporciona valores de ACTH de ambos senos derecho e izquierdo, una comparación de los cuales proporciona información útil sobre el lado de la glándula pituitaria en que se encuentra el tumor.

65 c. Diagnóstico sobre la base de la relación de ACTH central a periférica con referencia a la prolactina

La relación entre el centro y la periferia constituye la base del diagnóstico; sin embargo, el IPSS requiere un alto nivel de experiencia; dado que el drenaje venoso anómalo, por ejemplo, la colocación incorrecta de la punta del catéter al tomar muestras del seno petroso inferior puede provocar resultados negativos falsos. De manera adicional al

5 venograma de IPSS (que se describe anteriormente), la prolactina, que se secreta también por la glándula pituitaria y circula a la periferia, se utiliza frecuentemente como un marcador de cateterismo exitoso durante IPSS. Los niveles de prolactina se evalúan a partir de las mismas muestras de sangre que se utilizan para el análisis de ACTH. Una relación de la prolactina central con respecto a la periférica de más de 1,8 indica un cateterismo exitoso.

10 Se conocen en la técnica métodos para medir la prolactina. Los ensayos útiles incluyen inmunoensayos, por ejemplo, inmunoensayo competitivo, radioinmunoensayo, ensayo enzimático inmunofluorométrico y ELISA; ensayo competitivo de unión a proteínas; y espectrometría de masas, por ejemplo, cromatografía líquida de alta resolución/espectrometría de masas de triple cuadrupolo (LC-MS/MS). Los equipos comerciales para medir la prolactina se encuentran disponibles, además, de manera sencilla, por ejemplo, de Abcam (catálogo n.º ab108655), sistemas de R y D (Human Prolactin Quantikine ELISA Kit,) y Cayman Chemical (Prolactin EIA Kit).

15 Los niveles de ACTH se determinan mediante el uso de los métodos que se describen anteriormente. Los niveles de ACTH del paciente de uno o ambos senos petrosos inferiores se comparan luego con los niveles de ACTH en la sangre de la periferia, y las relaciones de ACTH periférica con respecto a la de los senos petrosos se determinan luego. Si la relación de prolactina petrosa inferior con respecto a la periférica del paciente es menor que 1,8 (de manera especial, si es menor que 1,5), una indicación de que el cateterismo fue incorrecto, no se puede realizar un diagnóstico y puede que sea necesario realizar un nuevo IPSS. Si la proporción de prolactina petrosa inferior con respecto a la periférica del paciente es mayor que 1,8 y la relación de ACTH petrosa inferior con respecto a la periférica es mayor que 3, el paciente recibe el diagnóstico de enfermedad de Cushing. Si la relación de prolactina petrosa inferior con respecto a la periférica del paciente es mayor que 1,8 y la relación de ACTH petrosa inferior con respecto a la periférica es menor que 3, el paciente recibe el diagnóstico de síndrome de ACTH ectópica.

#### B. Establecimiento de un nivel de control convencional

30 Como se divulga anteriormente, el diagnóstico diferencial del síndrome de Cushing dependiente de ACTH incluye comparaciones de mediciones de diferentes hormonas, por ejemplo, prolactina, ACTH y cortisol, con sus respectivos valores de referencia normales. En la mayoría de los casos, los valores de referencia normales o los niveles de control convencionales se proporcionan en los equipos comerciales que se utilizan para la prueba. Dependiendo de las circunstancias, en algunos casos puede ser necesario establecer un nivel de control convencional para el diagnóstico.

35 Con el fin de establecer un control convencional para un tipo de muestra particular (por ejemplo, una muestra de saliva, una muestra de orina, una muestra de plasma o una muestra de suero) para llevar a la práctica el método de esta divulgación, se selecciona un grupo de sujetos sanos, tales como un grupo de sujetos que no presentan insuficiencia adrenal. Estos individuos se encuentran dentro de los parámetros adecuados, si corresponde, con el fin de diagnosticar insuficiencia adrenal mediante el uso del método de la presente invención. Por ejemplo, los individuos pueden ser de edad, sexo y estado de salud similares. De manera opcional, los individuos son de origen étnico similar.

40 El estado de salud de los individuos seleccionados se puede confirmar mediante métodos bien establecidos y empleados habitualmente, que incluyen, pero sin limitación, un examen físico general de los individuos y una revisión general de su historial médico.

45 Además, el grupo seleccionado de individuos sanos debe ser de un tamaño razonable, de manera tal que la cantidad promedio, el nivel o la concentración de cortisol, ACTH u otro esteroide en la muestra biológica obtenida del grupo pueda ser considerada razonablemente representativa del nivel normal o promedio entre la población general de individuos sanos que no experimentan insuficiencia adrenal. Preferentemente, el grupo seleccionado comprende al menos 10 sujetos humanos normales sanos.

50 Una vez que se establece un valor promedio de cortisol, ACTH u otro esteroide en los valores individuales que se encuentran en cada sujeto del grupo de control sano seleccionado, este valor o perfil promedio, medio o representativo se considera un nivel de control convencional. Se determina, además, una desviación estándar durante el mismo proceso. En algunos casos, se pueden establecer niveles de control convencionales para grupos definidos por separado que presentan características distintas, tales como edad, sexo u origen étnico.

#### C. Antagonistas del receptor de glucocorticoides

60 El método de la presente invención proporciona, de manera general, la administración de un GRA. En algunos casos, el antagonista del receptor de glucocorticoides es un GRA específico. Como se utiliza en el presente documento, un antagonista del receptor de glucocorticoides específico se refiere a una composición o compuesto que inhibe cualquier respuesta biológica asociada con la unión de un receptor de glucocorticoides a un agonista al unirse preferentemente al receptor de glucocorticoides en lugar de a otro receptor nuclear (NR). En algunas realizaciones, el GRA específico se une preferentemente al receptor de glucocorticoides en lugar del receptor de mineralocorticoides (MR), el receptor de andrógenos (AR) o el receptor de progesterona (PR). En una realización de ejemplo, el GRA específico se une preferentemente al receptor de glucocorticoides en lugar del receptor de mineralocorticoides (MR). En otra realización

de ejemplo, el GRA específico se une preferentemente al receptor de glucocorticoides en lugar del receptor de progesterona (PR). En otra realización de ejemplo, el GRA específico se une preferentemente al receptor de glucocorticoides en lugar del receptor de andrógenos (AR). En incluso otra realización de ejemplo, el GRA específico se une preferentemente al receptor de glucocorticoides en comparación con MR y PR, MR y AR, PR y AR o MR, PR y AR.

En una realización relacionada, el GRA específico se une al receptor de glucocorticoides con una constante de asociación ( $K_d$ ) que es al menos 10 veces menor que la  $K_d$  para otros receptores nucleares. En otra realización, el GRA específico se une al receptor de glucocorticoides con una constante de asociación ( $K_d$ ) que es al menos 100 veces menor que la  $K_d$  para los otros receptores nucleares. En otra realización, el GRA específico se une al receptor de glucocorticoides con una constante de asociación ( $K_d$ ) que es al menos 1000 veces menor que la  $K_d$  para los otros receptores nucleares.

De manera general, el tratamiento se puede proporcionar mediante la administración de una cantidad eficaz de un GRA de cualquier estructura química o mecanismo de acción y un glucocorticosteroide de cualquier estructura química o mecanismo de acción. Se proporcionan en el presente documento clases de GRA de ejemplo y miembros específicos de tales clases. Sin embargo, un experto en la técnica reconocerá de manera sencilla otros GRA relacionados o no relacionados que se pueden emplear en los métodos de tratamiento que se describen en el presente documento.

#### 1. GRA que presentan una estructura principal esteroidea

En algunas realizaciones, se administra a un sujeto una cantidad eficaz de un GRA con una estructura principal esteroidea para tratamiento de un tumor secretor de ACTH. Los GRA esteroideos se pueden obtener mediante la modificación de la estructura básica de agonistas de glucocorticoides, es decir, formas variadas de la estructura principal de esteroides. La estructura del cortisol se puede modificar en una variedad de maneras. Las dos clases más comúnmente conocidas de modificaciones estructurales de la estructura principal del esteroide cortisol para crear GRA incluyen modificaciones del grupo 11-β hidroxi y modificación de la cadena lateral 17-β (véase, por ejemplo, Lefebvre, *J. Steroid Biochem.* 33: 557 - 563, 1989).

Los ejemplos de antagonistas de GR esteroideos incluyen compuestos esteroideos de tipo andrógeno como se describe en la patente de EE. UU. n.º 5,929,058, y los compuestos que se divultan en las patentes de EE. UU. n.º 4,296,206; 4,386,085; 4,447,424; 4,477,445; 4,519,946; 4,540,686; 4,547,493; 4,634,695; 4,634,696; 4,753,932; 4,774,236; 4,808,710; 4,814,327; 4,829,060; 4,861,763; 4,912,097; 4,921,638; 4,943,566; 4,954,490; 4,978,657; 5,006,518; 5,043,332; 5,064,822; 5,073,548; 5,089,488; 5,089,635; 5,093,507; 5,095,010; 5,095,129; 5,132,299; 5,166,146; 5,166,199; 5,173,405; 5,276,023; 5,380,839; 5,348,729; 5,426,102; 5,439,913; 5,616,458; 5,696,127 y 6,303,591. Dichos antagonistas de GR esteroideos incluyen cortexolona, dexametasona-oxetanona, 19-nordesoxicorticosterona, 19-norprogesterona, cortisol-21-mesilato; dexametasona-21-mesilato, 11β-(4-dimetilaminoetoxifenil)-17α-propinil-17β-hidroxi-4,9-estradien-3-ona (RU009) y (17α)-17-hidroxi-19-(4-metilfenil) androsta-4,9(11)-dien-3-ona (RU044).

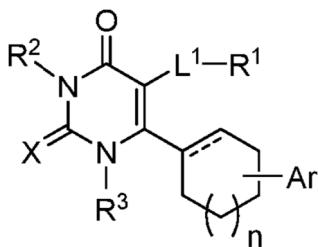
Otros ejemplos de antiglucocorticoides esteroideos se divultan en Van Kampen *et al.* (2002) *Eur. J. Pharmacol.* 457 (2-3): 207, WO 03/043640, EP 0 683 172 B1 y EP 0 763 541 B1. EP 0 763 541 B1 y Hoyberg *et al.*, *Int'l J. of Neuropsychopharmacology*, 5:Supp. 1, S148 (2002) divultan el compuesto (11β,17β)-11-(1,3-benzodioxol-5-il)-17-hidroxi-17-(1-propinil)estra-4,9-dien-3-ona (ORG 34517), el cual, en una realización, se administra en una cantidad eficaz para tratar un tumor secretor de ACTH en un sujeto.

#### 2. Retirada o sustitución del grupo 11-β hidroxi

Antagonistas de glucocorticoides con estructuras principales esteroideas modificadas que comprenden la retirada o sustitución del grupo 11-β hidroxi se administran en una realización de la invención. Esta clase incluye GRA naturales, incluidos derivados de cortexolona, progesterona y testosterona y composiciones sintéticas, tales como mifepristona (Lefebvre, *et al. supra*). Las realizaciones preferidas de la invención incluyen todos los derivados de la estructura principal de 11-β aril esteroides porque, en algunos casos, estos compuestos pueden carecer de actividad de unión al receptor de progesterona (PR) (Agarwal, *FEBS* 217: 221-226, 1987). En otra realización, se administra un derivado de la estructura principal de 11-β fenil-aminodimetil esteroide, que es, a la vez, un agente antiglucocorticoide y antiprogestérone. Estas composiciones pueden actuar como antagonistas del receptor de esteroides de unión reversible. Por ejemplo, cuando se une a un 11-β fenil-aminodimetil esteroide, el receptor de esteroides se puede mantener en una conformación que no se puede unir a su ligando natural, tal como el cortisol en el caso de GR (Cadepond, 1997, *supra*).

Los 11-beta fenil-aminodimetil esteroides sintéticos incluyen mifepristona, que se conoce también como RU486, o 17-β-hidroxi-11-β-(4-dimetil-aminofenil)17-α-(1-propinil)estra-4,9-dien-3-ona). Se ha demostrado que la mifepristona es un antagonista poderoso de los receptores de progesterona y glucocorticoides (GR). De este modo, en algunas realizaciones, el GRA administrado para tratar un tumor secretor de ACTH es mifepristona, o una sal, tautómero o derivado de esta. En otras realizaciones, sin embargo, la administración de mifepristona se excluye de manera específica como un GRA para el tratamiento de un tumor secretor de ACTH.

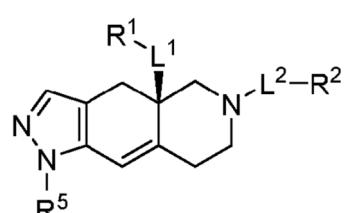
- Otro 11- $\beta$  fenil-aminodimetil esteroide que ha demostrado presentar efectos antagonistas de GR incluye el derivado de dimetil aminoetoxifenil RU009 (RU39.009), 11- $\beta$ -(4-dimetil-aminoetoxifenil)-17- $\alpha$ -(propinil-17- $\beta$ -hidroxi-4,9-estradien-3-ona) (véase Bocquel, J. Steroid Biochem. Molec. Biol. 45: 205-215, 1993). Otro antagonista de GR relacionado con RU486 es RU044 (RU43.044) 17- $\beta$ -hidrox-17- $\alpha$ -19-(4-metil-fenil)-androsta-4,9(11)-dien-3-ona) (Bocquel, 1993, *supra*). Véase además Teutsch, Steroids 38: 651-665, 1981; patentes de EE. UU. n.º 4,386,085 y 4,912,097.
- Una realización incluye composiciones que son antiglucocorticoides irreversibles. Tales compuestos incluyen derivados  $\alpha$ -ceto-metanosulfonato de cortisol, incluido cortisol-21-mesilato (4-pregneno-11- $\beta$ , 17- $\alpha$ , 21-triol-3,20-diona-21-metanosulfonato y dexametasona-21-mesilato (16-metil-9- $\alpha$ -fluoro-1,4-pregnadieno-11  $\beta$ , 17- $\alpha$ , 21-triol-3,20-diona-21-metanosulfonato). Véase Simons, J. Steroid Biochem. 24: 25-32, 1986; Mercier, J. Steroid Biochem. 25: 11-20, 1986; patente de EE. UU. n.º 4,296,206.
3. Modificación del grupo de cadena lateral 17- $\beta$
- En el método de la invención, se utilizan, además, antiglucocorticoides esteroideos que se pueden obtener mediante diversas modificaciones estructurales de la cadena lateral 17- $\beta$ . Esta clase incluye antiglucocorticoides sintéticos, tales como dexametasona, oxetanona, diversos derivados de 17, 21-acetónido y derivados de 17-beta-carboxamida de dexametasona (Lefebvre, 1989, *supra*; Rousseau, Nature 279: 158-160, 1979).
4. Otras modificaciones de la estructura principal de esteroides
- Los GRA que se utilizan en las diversas realizaciones de la invención incluyen cualquier modificación de la estructura principal de esteroides que produzca una respuesta biológica como resultado de una interacción GR-agonista. Los antagonistas de la estructura principal de esteroides pueden ser naturales o una variación sintética del cortisol, tales como esteroides adrenales que carecen del grupo metilo C-19, tales como 19-nordeoxicorticosterona y 19-norprogesterona (Wynne, Endocrinology 107: 1278-1280, 1980).
- De manera general, el sustituyente de la cadena lateral 11- $\beta$ , y, en particular, el tamaño de ese sustituyente, puede desempeñar un papel clave para determinar la magnitud de actividad antiglucocorticoide de un esteroide. Las sustituciones en el anillo A de la estructura principal de esteroides pueden ser importantes también. Por ejemplo, las cadenas laterales de 17-hidroxipropenilo pueden reducir, en algunos casos, la actividad antiglucocorticoide en comparación con compuestos que contienen cadenas laterales de 17-propinilo.
- Los antagonistas del receptor de glucocorticoides adicionales que se conocen en la técnica y resultan adecuados para la puesta en práctica de la invención incluyen 21-hidroxi-6,19-oxidoprogesterona (véase Vicent, Mol. Pharm. 52: 749-753, 1997), Org31710 (véase Mizutani, J Steroid Biochem Mol Biol 42 (7): 695-704, 1992), RU43044, RU40555 (véase Kim, J Steroid Biochem Mol Biol. 67 (3): 213-22, 1998), y RU28362.
5. Antiglucocorticoides no esteroideos como antagonistas
- Los antagonistas del receptor de glucocorticoides no esteroideos (GRA) se utilizan también en el método de la invención para tratar insuficiencia adrenal en un sujeto. Estos incluyen miméticos sintéticos y análogos de proteínas, incluidas entidades moleculares parcialmente peptídicas, pseudopeptídicas y no peptídicas. Por ejemplo, peptidomiméticos oligoméricos útiles en la invención incluyen peptidosulfonamidas ( $\alpha$ - $\beta$ -insaturadas), derivados de glicina N-sustituidos, oligocarbamatos, peptidomiméticos de oligourea, hidrazinopéptidos, oligosulfonas y similares (véase, por ejemplo, Amour, Int. J. Pept. Protein Res. 43: 297-304, 1994; de Bont, Bioorganic & Medicinal Chem. 4: 667-672, 1996).
- Los ejemplos de antagonistas de GR no esteroideos incluyen los compuestos antagonistas de GR que se divultan las patentes de EE. UU. n.º 5,696,127; 6,570,020 y 6,051,573; los compuestos antagonistas de GR que se divultan en la solicitud de patente de EE. UU. 20020077356, los antagonistas del receptor de glucocorticoides que se divultan en Bradley *et al.*, J. Med. Chem. 45, 2417-2424 (2002), por ejemplo, 4 $\alpha$ (S)-bencil-2(R-cloroetinil-1,2,3,4,4 $\alpha$ ,9,10,10 $\alpha$ (R)-octahidro-fenantreno-2,7-diol ("CP 394531") y 4 $\alpha$ (S)-bencil-2(R)-prop-1-inil-1,2,3,4,4 $\alpha$ ,9,10,10 $\alpha$ (R)-octahidro-fenantreno-2,7-diol ("CP 409069"); y los compuestos que se divultan en la solicitud internacional PCT n.º WO 96/19458, que describe compuestos no esteroideos que son de alta afinidad, antagonistas altamente selectivos de los receptores de esteroides, tales como 6-sustituido-1,2-dihidro-N-protégido-quinolinas.
- En algunas realizaciones, la insuficiencia adrenal se trata con una cantidad eficaz de un GRA no esteroideo que presenta una estructura principal de ciclohexilpirimidina, una estructura principal de azadecalina fusionada, una estructura principal de azadecalina fusionada con heteroaril cetona o una estructura principal de azadecalina fusionada con octahidro. Por ejemplo, la insuficiencia adrenal se puede tratar con cantidades eficaces de uno de los GRA anteriores y un GC o un análogo de GC. Los GRA de ejemplo que presentan una estructura principal de ciclohexilpirimidina incluyen los que se describen en la patente de EE. UU. n.º 8,685,973. En algunos casos, el GRA que presenta una estructura principal de ciclohexilpirimidina presenta la siguiente estructura:



donde

- 5 la línea discontinua se encuentra ausente o es un enlace;
- 10 X se selecciona a partir del grupo que consiste en O y S;
- 15 R<sup>1</sup> se selecciona a partir del grupo que consiste de cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo y heteroarilo, sustituido con, de manera opcional, 1 a 3 grupos R<sup>1a</sup>;
- cada R<sup>1a</sup> se selecciona de manera independiente a partir del grupo que consiste en H, alquilo C<sub>1-6</sub>, alquenilo C<sub>2-6</sub>, alquinilo C<sub>2-6</sub>, alcoxi C<sub>1-6</sub>, alquilo C<sub>1-6</sub>OR<sup>1b</sup>, halógeno, haloalquilo C<sub>1-6</sub>,
- 20 haloaloxi C<sub>1-6</sub>, OR<sup>1b</sup>, NR<sup>1b</sup>R<sup>1c</sup>, C(O)R<sup>1b</sup>, C(O)OR<sup>1b</sup>, OC(O)R<sup>1b</sup>, C(O)NR<sup>1b</sup>R<sup>1c</sup>, NR<sup>1b</sup>C(O)R<sup>1c</sup>, SO<sub>2</sub>R<sup>1b</sup>, SO<sub>2</sub>NR<sup>1b</sup>R<sup>1c</sup>, cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo y heteroarilo;
- 25 cada R<sup>1b</sup> y R<sup>1c</sup> se selecciona de manera independiente a partir del grupo que consiste en H y alquilo C<sub>1-6</sub>;
- 30 R<sup>2</sup> se selecciona a partir del grupo que consiste en H, alquilo C<sub>1-6</sub>, alquilo C<sub>1-6</sub>-OR<sup>1b</sup>, alquilo C<sub>1-6</sub> NR<sup>1b</sup>R<sup>1c</sup> y alquieno C<sub>1-6</sub> heterocicloalquilo;
- 35 R<sup>3</sup> se selecciona a partir del grupo que consiste en H y alquilo C<sub>1-6</sub>;
- 40 Ar es arilo, sustituido con, de manera opcional, 1 a 4 grupos R<sup>4</sup>;
- cada R<sup>4</sup> se selecciona de manera independiente a partir del grupo que consiste en H, alquilo C<sub>1-6</sub>, alcoxi C<sub>1-6</sub>, halógeno, haloalquilo C<sub>1-6</sub> y haloalcoxi C<sub>1-6</sub>;
- 45 L<sup>1</sup> es un enlace o alquieno C<sub>1-6</sub>; y
- 50 el subíndice n es un número entero de 0 a 3,
- o sales e isómeros de estos.

Los GRA de ejemplo que presentan una estructura principal de azadecalina fusionada incluyen los que se describen en las patentes de EE. UU. n.º 7,928,237 y 8,461,172. En algunos casos, el GRA que presenta una estructura principal de azadecalina fusionada presenta la siguiente estructura:



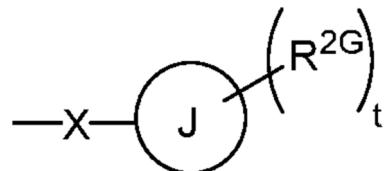
donde

- L<sup>1</sup> y L<sup>2</sup> son miembros que se seleccionan de manera independiente a partir de un enlace y alquieno no sustituido;
- 45 R<sup>1</sup> es un miembro que se selecciona a partir de alquilo no sustituido, heteroalquilo no sustituido, heterocicloalquilo no sustituido, -OR<sup>1A</sup>, NR<sup>1C</sup>R<sup>1D</sup>, -C(O)NR<sup>1C</sup>R<sup>1D</sup> y -C(O)OR<sup>1A</sup>, donde
- 50 R<sup>1A</sup> es un miembro que se selecciona a partir de hidrógeno, alquilo no sustituido y heteroalquilo no sustituido;
- R<sup>1C</sup> y R<sup>1D</sup> son miembros que se seleccionan de manera independiente a partir de alquilo no sustituido y heteroalquilo no sustituido;

donde  $R^{1C}$  y  $R^{1D}$  se unen, de manera opcional, para formar un anillo no sustituido con el nitrógeno al que se encuentran unidos, donde dicho anillo comprende, de manera opcional, un anillo adicional de nitrógeno;

5

$R^2$  presenta la fórmula:



10 donde

$R^{2G}$  es un miembro que se selecciona a partir de hidrógeno, halógeno, alquilo no sustituido, heteroalquilo no sustituido, cicloalquilo no sustituido, heterocicloalquilo no sustituido, -CN y -CF<sub>3</sub>;

15 J es fenilo;

t es un número entero de 0 a 5;

X es -S(O<sub>2</sub>)-; y

20

$R^5$  es fenilo sustituido con, de manera opcional, 1 a 5 grupos  $R^{5A}$ , donde

$R^{5A}$  es un miembro que se selecciona a partir de hidrógeno, halógeno, -OR<sup>5A1</sup>, S(O<sub>2</sub>)NR<sup>5A2</sup>R<sup>5A3</sup>, -CN y alquilo no sustituido, donde

25

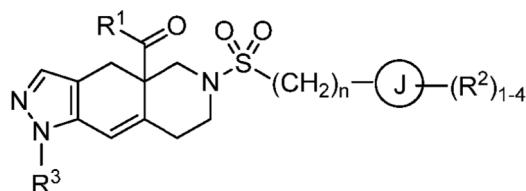
$R^{5A1}$  es un miembro que se selecciona a partir de hidrógeno y alquilo no sustituido y

$R^{5A2}$  y  $R^{5A3}$  son miembros que se seleccionan de manera independiente a partir de hidrógeno y alquilo no sustituido,

30 o sales e isómeros de estos.

Los GRA de ejemplo que presentan una estructura principal de azadecalina fusionada con heteroaril cetona incluyen los que se describen en EE. UU. 2014/0038926. En algunos casos, el GRA que presenta una estructura principal de azadecalina fusionada con heteroaril cetona presenta la siguiente estructura:

35



donde

40  $R^1$  es un anillo heteroarilo que presenta de 5 a 6 miembros del anillo y de 1 a 4 heteroátomos, cada uno se selecciona de manera independiente a partir del grupo que consiste en N, O y S, sustituido con, de manera opcional, 1 a 4 grupos, cada uno se selecciona de manera independiente a partir de  $R^{1a}$ ;

45 cada  $R^{1a}$  se selecciona de manera independiente a partir del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo C<sub>1-6</sub>, halógeno, haloalquilo C<sub>1-6</sub>, alcoxi C<sub>1-6</sub>, haloalcoxi C<sub>1-6</sub>, CN, N-óxido, cicloalquilo C<sub>3-8</sub> y heterocicloalquilo C<sub>3-8</sub>;

el anillo J se selecciona a partir del grupo que consiste en un anillo cicloalquilo, un anillo heterocicloalquilo, un anillo arilo y un anillo heteroarilo, donde los anillos heterocicloalquilo y heteroarilo presentan de 5 a 6 miembros del anillo y de 1 a 4 heteroátomos, cada uno se selecciona de manera independiente a partir del grupo que consiste en N, O y S;

50 cada  $R^2$  se selecciona de manera independiente a partir del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo C<sub>1-6</sub>, halógeno, haloalquilo C<sub>1-6</sub>, alcoxi C<sub>1-6</sub>, haloalcoxi C<sub>1-6</sub>, alquil C<sub>1-6</sub>-alcoxi C<sub>1-6</sub>, CN, OH, NR<sup>2a</sup>R<sup>2b</sup>, C(O)R<sup>2a</sup>, C(O)OR<sup>2a</sup>, C(O)NR<sup>2a</sup>R<sup>2b</sup>, SR<sup>2a</sup>, S(O)R<sup>2a</sup>, S(O)<sub>2</sub>R<sup>2a</sup>, cicloalquilo C<sub>3-8</sub> y heterocicloalquilo C<sub>3-8</sub>, donde los grupos heterocicloalquilo están sustituidos con, de manera opcional, 1 a 4 grupos  $R^{2c}$ ;

55

de manera alternativa, dos grupos  $R^2$  unidos al mismo carbono se combinan para formar un grupo oxo (=O);

de manera alternativa, dos grupos R<sup>2</sup> se combinan para formar un anillo heterocicloalquilo que presenta de 5 a 6 miembros del anillo y de 1 a 3 heteroátomos, cada uno se selecciona de manera independiente a partir del grupo que consiste en N, O y S, donde el anillo heterocicloalquilo está sustituido con, de manera opcional, 1 a 3 grupos R<sup>2d</sup>;

cada  $R^{2a}$  y  $R^{2b}$  se selecciona de manera independiente a partir del grupo que consiste en hidrógeno y alquilo  $C_{1-6}$ ;

cada  $R^{2c}$  se selecciona de manera independiente a partir del grupo que consiste en hidrógeno, halógeno, hidroxi, alcoxi  $C_{1-6}$ , haloalcoxi  $C_{1-6}$ ,  $CN$  y  $NR^{2a}R^{2b}$ ,

cada  $R^{2d}$  se selecciona de manera independiente a partir del grupo que consiste en hidrógeno y alquilo C<sub>1-6</sub> o dos grupos R<sup>2d</sup> unidos al mismo átomo del anillo se combinan para formar (=O):

$R^3$  se selecciona a partir del grupo que consiste en fenilo y piridilo, cada uno sustituido con, de manera opcional, 1 a 4 grupos  $R^{3a}$ .

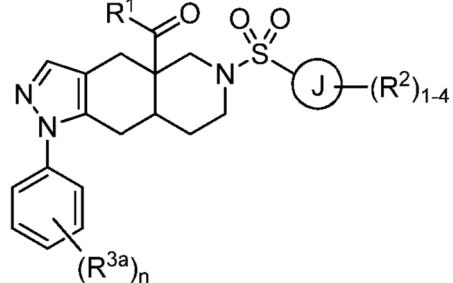
cada  $R^{3a}$  se selecciona de manera independiente a partir del grupo que consiste en hidrógeno, halógeno y haloalquilo  $C_1-C_6$ ; y

el subíndice  $n$  es un número entero de 0 a 3;

o sales e isomeros de estos.

## Los GRA de ejemplo que pre

se describen en la solicitud de patente provisional de EE. UU. n.º 61/908,333, titulada "Moduladores del receptor de glucocorticoides de azadecalina fusionada con octahidro", expediente del abogado n.º 85178-887884 (007800US), presentada el 25 de noviembre de 2013. En algunos casos, el GRA que presenta una estructura principal de azadecalina fusionada con octahidro presenta la siguiente estructura:



donde

$R^1$  es un anillo heteroarilo que presenta de 5 a 6 miembros del anillo y de 1 a 4 heteroátomos, cada uno se selecciona de manera independiente a partir del grupo que consiste en N, O y S, sustituido con, de manera opcional, 1 a 4 grupos, cada uno se selecciona de manera independiente a partir de  $R^{1a}$ .

cada R<sup>1a</sup> se selecciona de manera independiente a partir del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo C<sub>1-6</sub>, halógeno, haloalquilo C<sub>1-6</sub>, alcoxi C<sub>1-6</sub>, haloalcoxi C<sub>1-6</sub>, N-óxido y cicloalquilo C<sub>3-8</sub>;

el anillo J se selecciona a partir del grupo que consiste en un anillo arilo y un anillo heteroarilo que presentan de 5 a 6 miembros del anillo y de 1 a 4 heteroátomos, cada uno se selecciona de manera independiente a partir del grupo que consiste en N, O y S;

45 cada R<sup>2</sup> se selecciona de manera independiente a partir del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo C<sub>1-6</sub>, halógeno, haloalquilo C<sub>1-6</sub>, alcoxi C<sub>1-6</sub>, haloalcoxi C<sub>1-6</sub>, alquil C<sub>1-6</sub>-alcoxi C<sub>1-6</sub>, CN, OH, NR<sup>2a</sup>R<sup>2b</sup>, C(O)R<sup>2a</sup>, C(O)OR<sup>2a</sup>, C(O)NR<sup>2a</sup>R<sup>2b</sup>, SR<sup>2a</sup>, S(O)R<sup>2a</sup>, S(O)<sub>2</sub>R<sup>2a</sup>, cicloalquilo C<sub>3-8</sub> y heterocicloalquilo C<sub>3-8</sub>, que presente de 1 a 3 heteroátomos, cada uno se selecciona de manera independiente a partir del grupo que consiste en N, O y S;

50 de manera alternativa, los dos grupos  $R^2$  en átomos del anillo adyacentes se combinan para formar un anillo heterocicloalquilo que presenta de 5 a 6 miembros del anillo y de 1 a 3 heteroátomos, cada uno se selecciona de manera independiente a partir del grupo que consiste en N, O y S, donde el anillo heterocicloalquilo está sustituido con, de manera opcional, 1 a 3 grupos  $R^{2c}$ .

55 cada  $R^{2a}$ ,  $R^{2b}$  y  $R^{2c}$  se selecciona de manera independiente a partir del grupo que consiste en hidrógeno y alquilo C<sub>1</sub>-  
6.

cada R<sup>3a</sup> es de manera independiente halógeno; y

el subíndice n es un número entero de 0 a 3

5

o sales e isómeros de estos.

D. Composiciones farmacéuticas de antagonistas del receptor de glucocorticoides

10 Las composiciones de GRA de la presente divulgación se pueden preparar en una amplia variedad de formas de dosificación orales, parenterales y tópicas. Las preparaciones orales incluyen comprimidos, píldoras, polvo, grageas, cápsulas, líquidos, pastillas, sellos, geles, jarabes, pastas, suspensiones, etc., que resultan adecuadas para ingestión por parte del paciente. Las composiciones de GRA que se describen en el presente documento se pueden administrar, además, mediante inyección, esto es, de manera intravenosa, intramuscular, intracutánea, subcutánea, intraduodenal o intraperitoneal. Además, las composiciones de GRA que se describen en el presente documento se pueden administrar por inhalación, por ejemplo, de manera intranasal. De manera adicional, las composiciones de GRA que se describen en el presente documento se pueden administrar de manera transdérmica. Las composiciones de GRA que se describen en el presente documento se pueden administrar, además, por vías intraocular, intravaginal e intrarectal que incluyen supositorios, insuflación, polvos y formulaciones en aerosol (por ejemplo, de inhalantes de esteroides, véase Rohatagi, J. Clin. Pharmacol. 35: 1187-1193, 1995; Tjwa, Ann. Allergy Asthma Immunol. 75: 107-111, 1995). De acuerdo con esto, en el presente documento se describen composiciones farmacéuticas de un GRA que incluyen un vehículo o excipiente farmacéuticamente aceptable y un compuesto de GRA que se divulga en el presente documento.

25 Para preparar composiciones farmacéuticas a partir de los compuestos GRA que se describen en el presente documento, los vehículos farmacéuticamente aceptables pueden ser sólidos o líquidos. Las preparaciones en forma sólida incluyen polvos, comprimidos, píldoras, cápsulas, sellos, supositorios y gránulos que se pueden dispersar. Un vehículo sólido puede ser una o más sustancias, que pueden actuar, además, como diluyentes, agentes aromatizantes, aglutinantes, conservantes, agentes desintegradores de comprimidos o un material de encapsulación.

30 Los detalles sobre técnicas para formulación y administración se describen bien en la literatura científica y de patentes, véase, por ejemplo, la última edición de Remington's Pharmaceutical Sciences, Maack Publishing Co, Easton PA ("Remington's").

35 En polvos, el vehículo es un sólido finamente dividido, que se encuentra en una mezcla con el componente activo finamente dividido. En comprimidos, el componente activo se mezcla con el vehículo que presenta las propiedades aglutinantes necesarias en proporciones adecuadas y se compacta en la forma y el tamaño convenientes. Los polvos y los comprimidos contienen preferentemente del 5 % o 10 % al 70 % de los compuestos que se describen en el presente documento.

40 Los excipientes sólidos adecuados incluyen, pero sin limitación, carbonato de magnesio; estearato de magnesio; talco; pectina; dextrina; almidón; tragacanto; una cera de bajo punto de fusión; mantequilla de cacao; carbohidratos; azúcares que incluyen, pero sin limitación, lactosa, sacarosa, manitol o sorbitol, almidón de maíz, trigo, arroz, patata u otras plantas; celulosa tal como metilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa o carboximetilcelulosa de sodio; y gomas que incluyen arábica y tragacanto; así como proteínas que incluyen, pero sin limitación, gelatina y colágeno. Si resulta conveniente, se pueden agregar agentes desintegradores o solubilizadores, tales como la polivinilpirrolidona reticulada, el agar, el ácido algínico o una sal de estos, tal como alginato de sodio.

45 Los núcleos de grageas se proporcionan con revestimientos adecuados, tales como soluciones de azúcar concentradas, que pueden contener además goma arábica, talco, polivinilpirrolidona, gel de carbopol, polietilenglicol y/o dióxido de titanio, soluciones de laca y disolventes orgánicos adecuados o mezclas de disolventes. Se pueden agregar colorantes o pigmentos a los comprimidos o recubrimientos de grageas para identificación del producto o para caracterizar la cantidad de compuesto activo (es decir, la dosis). Las preparaciones farmacéuticas que se describen en el presente documento se pueden utilizar, además, de manera oral mediante el uso de, por ejemplo, cápsulas de ajuste a presión hechas de gelatina, así como cápsulas blandas y selladas hechas de gelatina y un recubrimiento tal como glicerol o sorbitol. Las cápsulas de ajuste a presión pueden contener los compuestos que se describen en el presente documento mezclados con un relleno o aglutinantes tales como lactosa o almidones, lubricantes tales como talco o estearato de magnesio y, de manera opcional, estabilizadores. En cápsulas blandas, los compuestos que se describen en el presente documento se pueden disolver o suspender en líquidos adecuados, tales como aceites grasos, parafina líquida o polietilenglicol líquido con o sin estabilizadores.

50 Para preparar supositorios, en primer lugar, se funde una cera de bajo punto de fusión, tal como una mezcla de glicéridos de ácidos grasos o manteca de cacao, y los compuestos que se describen en el presente documento se dispersan de manera homogénea en esta, mediante agitación, por ejemplo. La mezcla fundida homogénea se vierte luego en moldes de tamaño conveniente, se deja enfriar y, de esa manera, se solidifica.

65

Las preparaciones en forma líquida incluyen soluciones, suspensiones y emulsiones, por ejemplo, agua o agua/ soluciones de propilenglicol. Para inyección parenteral, las preparaciones líquidas se pueden formular en solución en solución de polietilenglicol acuoso.

5 Las soluciones acuosas adecuadas para uso oral se pueden preparar disolviendo uno o más compuestos que se describen en el presente documento en agua y mediante el agregado de colorantes, aromatizantes, estabilizadores y agentes espesantes adecuados según resulte conveniente. Se pueden preparar suspensiones acuosas adecuadas para uso oral mediante la dispersión del componente activo finamente dividido en agua con material viscoso, tales como gomas naturales o sintéticas, resinas, metilcelulosa, carboximetilcelulosa de sodio, hidroxipropilmelcelulosa, alginato de sodio, polivinilpirrolidona, goma tragacanto y goma arábiga, y agentes dispersantes o humectantes tales como fosfátilo de origen natural (por ejemplo, lecitina), un producto de condensación de un óxido de alquíleno con un ácido graso (por ejemplo, estearato de polioxietileno), un producto de condensación de óxido de etileno con un alcohol alifático de cadena larga (por ejemplo, heptadecaetileno oxicetanol), un producto de condensación de óxido de etileno con un éster parcial derivado de un ácido graso y un hexitol (por ejemplo, monooleato de polioxietilensorbitol) o un producto de condensación de óxido de etileno con un éster parcial derivado de ácido graso y un anhídrido de hexitol (por ejemplo, monooleato de polioxietilensorbitán). La suspensión acuosa puede contener, además, uno o más conservantes tales como p-hidroxibenzoato de etilo o n-propilo, uno o más agentes colorantes, uno o más agentes aromatizantes y uno o más agentes edulcorantes, tales como sacarosa, aspartamo o sacarina. Las formulaciones se pueden ajustar por osmolaridad.

20 Se incluyen, además, preparaciones en forma sólida, que se encuentran previstas a convertirse en, poco antes de su uso, preparaciones en forma líquida para administración oral. Tales formas líquidas incluyen soluciones, suspensiones y emulsiones. Estas preparaciones pueden contener, de manera adicional al componente activo, colorantes, 25 aromatizantes, estabilizadores, reguladores, edulcorantes artificiales y naturales, agentes dispersantes, espesantes, solubilizadores y similares.

30 Las suspensiones de aceite se pueden formular mediante la suspensión de los compuestos que se describen en el presente documento en un aceite vegetal, tal como aceite de cacahuete, aceite de oliva, aceite de sésamo o aceite de coco, o en un aceite mineral tal como parafina líquida; o una mezcla de estos. Las suspensiones de aceite pueden 35 contener un agente espesante, tal como cera de abejas, parafina dura o alcohol cetílico. Los agentes edulcorantes se pueden agregar para proporcionar una preparación oral agradable, tal como glicerol, sorbitol o sacarosa. Estas formulaciones se pueden conservar mediante el agregado de un antioxidante tal como el ácido ascórbico. Como ejemplo de un vehículo de aceite inyectable, véase Minto, J. Pharmacol. Exp. Ther. 281:93-102, 1997. Las 40 formulaciones farmacéuticas que se describen en el presente documento se pueden encontrar, además, en forma de emulsiones de aceite en agua. La fase aceitosa puede ser un aceite vegetal o un aceite mineral, que se describen anteriormente, o una mezcla de estos. Los agentes emulsionantes adecuados incluyen gomas de origen natural, tales como goma arábiga y goma tragacanto, fosfátidos de origen natural, tal como lecitina de soja, ésteres o ésteres parciales derivados de ácidos grasos y anhídridos de hexitol, tal como monooleato de sorbitán, y productos de condensación de estos ésteres parciales con óxido de etileno, tal como monooleato de polioxietilensorbitán. La emulsión puede contener, además, agentes edulcorantes y aromatizantes, como en la formulación de jarabes y elixires. Tales formulaciones pueden contener, además, un emoliente, un conservante o un colorante.

45 Las composiciones de GRA que se proporcionan en el presente documento se pueden suministrar, además, como microesferas para una liberación lenta en el cuerpo. Por ejemplo, se pueden formular microesferas para su administración mediante inyección intradérmica de microesferas que contienen fármacos, que se liberan lentamente de manera subcutánea (véase Rao, J. Biomater Sci. Polym. Ed. 7: 623-645, 1995; como formulaciones en gel biodegradables e inyectables (véase, por ejemplo, Gao Pharm. Res. 12: 857-863, 1995); o como microesferas para 50 administración oral (véase, por ejemplo, Eyles, J. Pharm. Pharmacol. 49: 669-674, 1997). Tanto la vía transdérmica como la intradérmica proporcionan un suministro constante durante semanas o meses.

55 En otra realización, las composiciones de GRA que se describen en el presente documento se pueden formular para administración parenteral, tal como la administración intravenosa (IV) o la administración en una cavidad corporal o lumen de un órgano. Las formulaciones para administración comprenderán comúnmente una solución de las 60 composiciones que se describen en el presente documento disuelta en un vehículo farmacéuticamente aceptable. Entre los vehículos y disolventes aceptables que se pueden emplear se encuentran el agua y la solución de Ringer, un cloruro de sodio isotónico. De manera adicional, los aceites fijos estériles se pueden emplear de manera convencional como un disolvente o medio de suspensión. Con este fin, se puede emplear cualquier aceite fijo suave, incluidos mono o diglicéridos sintéticos. De manera adicional, los ácidos grasos tales como el ácido oleico se pueden 65 utilizar de igual manera en la preparación de inyectables. Estas soluciones son estériles y se encuentran, de manera general, exentas de materia no conveniente. Estas formulaciones de GRA se pueden esterilizar mediante técnicas de esterilización convencionales que se conocen bien en la técnica. Las formulaciones pueden contener sustancias auxiliares farmacéuticamente aceptables según se requiera para aproximar las condiciones fisiológicas tales como agentes reguladores y reguladores del pH, agentes reguladores de la toxicidad, por ejemplo, acetato de sodio, cloruro de sodio, cloruro de potasio, cloruro de calcio, lactato de sodio y similares. La concentración de las composiciones que 70 se describen en el presente documento en estas formulaciones puede variar de manera amplia y se seleccionará principalmente en función de volúmenes de fluido, viscosidades, peso corporal y similares, de acuerdo con el modo

de administración particular seleccionado y las necesidades del paciente. Para administración IV, la formulación de GRA puede ser una preparación inyectable estéril, tal como una solución acuosa inyectable estéril o suspensión oleaginosa. Esta suspensión se puede formular de acuerdo con la técnica conocida mediante el uso de agentes dispersantes o agentes humectantes y agentes de suspensión adecuados. La preparación inyectable estéril puede ser, además, una solución inyectable estéril o suspensión en un diluyente o disolvente no tóxico parenteralmente aceptable, tal como una solución de 1,3-butanodiol.

En otra realización, las formulaciones de las composiciones que se describen en el presente documento se pueden administrar mediante el uso de liposomas que se fusionan con la membrana celular o se encuentran endocitados, es decir, mediante el empleo de ligandos unidos al liposoma o unidos de manera directa al oligonucleótido, que se unen a los receptores de proteínas de la membrana de superficie de la célula, lo que da como resultado endocitosis. Mediante el uso de liposomas, particularmente donde la superficie del liposoma transporta ligandos específicos para células diana, o, de otra manera, se dirigen preferentemente a un órgano específico, se puede enfocar el suministro de las composiciones que se describen en el presente documento en las células diana *in vivo*. (Véase, por ejemplo, Al-Muhammed, J. Microencapsul. 13: 293-306, 1996; Chonn, Curr. Opin. Biotechnol. 6: 698 - 708, 1995; Ostro, Am. J. Hosp. Pharm. 46: 1576-1587, 1989).

Los sistemas de suministro de fármacos sobre la base de lípidos incluyen soluciones de lípidos, emulsiones de lípidos, dispersiones de lípidos, sistemas de suministro de fármacos autoemulsionantes (SEDDS) y sistemas de suministro de fármacos automicroemulsificantes (SMEDDS). En particular, SEDDS y SMEDDS son mezclas isotrópicas de lípidos, tensioactivos y cotensioactivos que se pueden dispersar de manera espontánea en medio acuoso y formar emulsiones finas (SEDDS) o microemulsiones (SMEDDS). Los lípidos útiles en las formulaciones que se describen en el presente documento incluyen cualquier lípido natural o sintético incluidos, pero sin limitación, aceite de semilla de sésamo, aceite de oliva, aceite de ricino, aceite de maní, ésteres de ácidos grasos, ésteres de glicerol, Labrafil®, Labrasol®, Cremophor®, Solutol®, Tween®, Capryol®, Capmul®, Captex® y Peceol®.

La composición de GRA puede contener, además, otros agentes terapéuticos compatibles. Los compuestos que se describen en el presente documento se pueden utilizar combinados uno con respecto al otro, con otros agentes activos que son útiles, según se conoce, para antagonizar un receptor de glucocorticoides o con agentes adyuvantes que pueden no ser efectivos solos, pero pueden contribuir a la eficacia del agente activo.

#### E. Administración

Los compuestos o composiciones de GRA que se describen en el presente documento se pueden suministrar por cualquier medio adecuado, incluyendo métodos orales, parenterales (por ejemplo, inyección intravenosa o inyección intramuscular) y tópicos. Los métodos de administración transdérmica, por vía tópica, se pueden formular como aplicadores en barra, soluciones, suspensiones, emulsiones, geles, cremas, ungüentos, pastas, gelatinas, pinturas, polvos y aerosoles.

La preparación farmacéutica se encuentra preferentemente en forma de dosis unitaria. En una forma como tal la preparación se subdivide en dosis unitarias que contienen cantidades apropiadas de los compuestos y composiciones que se describen en el presente documento. La dosis unitaria puede ser una preparación empaquetada, conteniendo el paquete cantidades discretas de preparación, tales como comprimidos empaquetados, cápsulas y polvos en viales o ampollas. Además, la forma de dosificación unitaria puede ser una cápsula, un comprimido, un sello o una pastilla en sí misma o puede ser el número apropiado de cualquiera de estos en forma empaquetada.

Los GRA se pueden administrar de manera oral. Por ejemplo, el GRA se puede administrar como una píldora, una cápsula o una formulación líquida como se describe en el presente documento. De manera alternativa, los GRA se pueden proporcionar mediante administración parenteral. Por ejemplo, el GRA se puede administrar de manera intravenosa (por ejemplo, por inyección o infusión). Métodos adicionales de administración de los compuestos que se describen en el presente documento y las composiciones farmacéuticas o formulaciones de estos se describen en el presente documento.

En algunas realizaciones, el GRA se administra en una dosis. En otras realizaciones, el GRA se administra en más de una dosis, por ejemplo, 2 dosis, 3 dosis, 4 dosis, 5 dosis, 6 dosis, 7 dosis o más. En algunos casos, las dosis son de igual cantidad. En otros casos, las dosis son de cantidades diferentes. Las dosis se pueden aumentar o reducir en la duración de la administración. La cantidad variará de acuerdo con, por ejemplo, las propiedades de GRA. Para determinar una dosis eficaz, el GRA debe elevar el nivel de ACTH al menos dos veces en personas con función hipotalámica-pituitaria-adrenal (HPA) normal.

En algunas realizaciones, una cantidad terapéuticamente eficaz de GRA se administrará a un sujeto que ha sido diagnosticado con insuficiencia adrenal, con el fin de mejorar al menos un síntoma de la insuficiencia adrenal. En algunos casos, se puede administrar una cantidad terapéuticamente eficaz del GRA para tratar insuficiencia adrenal, por ejemplo, insuficiencia adrenal primaria o insuficiencia adrenal secundaria.

#### IV. Ejemplos

## Ejemplo 1. Diagnóstico de hipercortisolemia

- 5 Una mujer de 45 años visita a su endocrinólogo. Parece presentar obesidad abdominal, brazos y piernas delgadas, una cara redonda colorada y un bulto gordo entre los hombros. Presenta acné y estrías de color rojizo púrpura en el cuerpo que miden más de 1 cm de ancho. Ella describe contar con piel frágil que cicatriza mal, menstruación irregular y siente, frecuentemente, cambios de humor, dolores de cabeza y una sensación crónica de cansancio. Los registros de su examen físico muestran que presenta debilidad muscular proximal y osteoporosis. Sus análisis de sangre indican que presenta niveles bajos de potasio, diabetes y presión sanguínea elevada. No ha recibido glucocorticoides exógenos antes de esta visita. Su endocrinólogo sospecha que presenta hipercortisolemia y le ordena una prueba de cortisol salival a altas horas de la noche.
- 10 Ella cumple con el requisito de no lavarse los dientes, no comer ni beber durante 30 minutos antes de la recolección de saliva. A medianoche, recolectó su saliva mediante la colocación de un hisopo en su boca, mientras giraba el hisopo, durante aproximadamente 2 minutos. La muestra se analiza mediante el uso del ID de prueba: SALCT de Mayo Clinic, continuando con el protocolo que se proporciona con la prueba. El resultado muestra que su nivel de cortisol es de 200 ng/dl, lo que indica que presenta hipercortisolemia.

## 20 Ejemplo 2. Diagnóstico del síndrome de Cushing

- Después del diagnóstico de hipercortisolemia, se le ordenan pruebas adicionales para determinar si presenta síndrome de Cushing. En primer lugar, se realiza una prueba de supresión de dexametasona. Recibe el suministro de 1 mg de dexametasona a las 11 p. m. y a la mañana siguiente, se recolectan sus muestras de sangre entre las 8 a. m y las 9 a. m. El suero se recolecta de la sangre y se mide el cortisol mediante el uso del ID de prueba: CORT de Mayo Clinic (<http://www.mayomedicallaboratories.com/test-catalog/Clinical+and+Interpretive/8545>), de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Su nivel de cortisol sérico es de 2,2 mcg/dl, consistente con la presencia de síndrome de Cushing.
- 25 A continuación, se ordena una recolección de orina de 24 horas para medir el cortisol libre en orina. Se recolectan 3 ml de su muestra de orina de 24 horas en un recipiente, con la adición de 10 gramos de ácido bórico como conservante. La muestra se centrifuga y se retira del precipitado antes del ensayo. El contenido de cortisol se analiza mediante el uso del ID de prueba: COCOU de Mayo Clinic, de acuerdo con las instrucciones del fabricante (<http://www.mayomedicallaboratories.com/test-catalog/Specimen/82948>). La prueba muestra un nivel de cortisol de 35 180 mcg, 4 veces el límite superior del rango normal de cortisol para la prueba: de 3,5 mcg a 45 mcg. Sobre la base del resultado de su prueba de excreción de orina de 24 horas, así como sus síntomas clínicos, recibe el diagnóstico de síndrome de Cushing. La siguiente etapa consiste en medir la ACTH para diferenciar entre el síndrome de Cushing dependiente de ACTH y el síndrome de Cushing independiente de ACTH.
- 30 35
- 40 Ejemplo 3. Diagnóstico del síndrome de Cushing dependiente de ACTH.

- A continuación, se realiza un análisis de sangre para determinar su nivel de ACTH en plasma. Se extrae 1 ml de muestra de sangre entera de la paciente por la mañana. La sangre se centrifuga en una centrífuga refrigerada y el plasma se separa inmediatamente de las células. Se analizan 0,5 ml de la muestra de plasma para determinar la presencia de ACTH mediante el uso del ID de prueba: ACTH de Mayo Clinic, de acuerdo con las instrucciones del fabricante (<http://www.mayomedicallaboratories.com/test-catalog/Specimen/8411>). El resultado muestra que su ACTH en plasma es de 80 pg/ml, lo que indica que presenta síndrome de Cushing dependiente de ACTH.

## 50 Ejemplo 4. Diagnóstico de la enfermedad de Cushing.

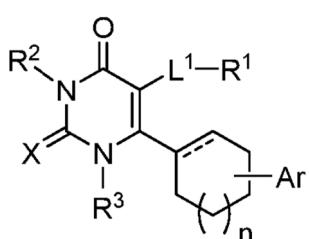
- 55 A continuación del diagnóstico de síndrome de Cushing dependiente de ACTH, la paciente se somete a IPSS para identificar la fuente de secreción anormal de ACTH, es decir, si es pituitaria o ectópica. La administración de mifepristona y el IPSS se realizan para determinar la causa de su síndrome de Cushing dependiente de ACTH. En primer lugar, la paciente toma una dosis oral de 300 mg a 1500 mg de mifepristona a las 11 p. m. la noche anterior al IPSS. La mifepristona a esta dosis resulta suficiente para aumentar la ACTH de la glándula pituitaria al menos dos veces en personas que presentan una función normal del eje hipotalámico-pituitario-adrenal (HPA). Entre las 8 a. m. y las 10 a. m., un radiólogo intervencionista realiza un microcateterismo femoral, en el que dos microcatéteres de 0.018 pulgadas se hacen avanzar desde la vena femoral hasta los senos petrosos inferiores derecho e izquierdo (IPS). Otro microcatéter de 0.018 se inserta en la vena yugular periférica. Se administra un bolo de 5000 unidades de heparina en las venas para impedir la trombosis de senos venosos.

- 60 Despues de que los microcatéteres se introducen en los senos y el bulbo yugular, se realiza una venografía de diagnóstico, en la cual se realiza una inyección rápida de contraste en un intento de lograr reflujo del contraste en el seno petroso inferior para guiar la colocación de un microcatéter. Despues de confirmar la posición del microcatéter y posicionarlo bien en el IPS, se llevan a cabo dos muestreos con 5 a 10 minutos de diferencia. Las muestras de sangre se extraen del IPS y la vena yugular de manera simultánea en cada muestreo y se colocan de manera inmediata en tubos que contienen EDTA en hielo.

- 5 Se centrifuga la mitad de cada muestra de sangre durante 10 minutos a 1000 g-2000 g para retirar las células y recolectar plasma. La otra mitad se deja en reposo a temperatura ambiente durante 30 minutos para que coagule, y
- 10 se obtiene el suero después de retirar el coágulo por centrifugación. Las muestras de plasma tanto de la vena yugular como del IPS se analizan para detectar ACTH mediante el uso del ID de prueba: ACTH de Mayo Clinic, como se describe anteriormente. Las muestras de suero se analizan en cuanto a prolactina mediante el uso del ID de prueba: PLPMA de Mayo Clinic, de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Los resultados muestran que el nivel de prolactina en el IPS izquierdo de la paciente es de 25 ng/ml y en el IPS derecho es de 24 ng/ml. El nivel de prolactina en su vena yugular es de 12 ng/ml. El nivel de la ACTH en su IPS es de 800 pg/ml y de la ACTH en la vena yugular es de 200 pg/ml.
- 15 La relación de prolactina de sus IPS (tanto izquierdo como derecho) con respecto a la de la vena yugular es mayor que 1,8, lo que refleja el gradiente correcto central a periférica, confirmando, de este modo, el posicionamiento correcto del cateterismo. La relación de la ACTH de sus IPS con respecto a la de la vena yugular es mayor que 3, lo que indica que presenta enfermedad de Cushing.

## REIVINDICACIONES

- 5      1. Un método de diagnóstico diferencial del síndrome de Cushing dependiente de la hormona adrenocorticotrópica (ACTH) en un paciente donde el diagnóstico diferencial se realiza entre el síndrome de ACTH ectópica y la enfermedad de Cushing, comprendiendo el método las etapas de:
- 10     (i) obtener de un paciente una concentración de ACTH en una muestra de líquido obtenida del seno venoso petroso inferior izquierdo o derecho y una concentración de ACTH a partir de líquido obtenido de una muestra venosa periférica, y
- 15     (ii) obtener una relación de concentración de ACTH a partir de las concentraciones de ACTH, donde el paciente es un paciente con síndrome de Cushing y niveles elevados de ACTH también a quien se le ha administrado una dosis de antagonista del receptor de glucocorticoides (GRA) suficiente para aumentar la ACTH de la glándula pituitaria al menos dos veces en personas con función normal hipotalámica-pituitaria-adrenal (HPA), donde las muestras se obtuvieron al menos dos horas después de la administración de GRA,
- 20     donde una relación de concentración de ACTH mayor que 3 para la concentración de ACTH de la muestra del seno venoso inferior sobre la muestra del seno venoso periférico sirve como diagnóstico de la enfermedad de Cushing.
- 25     2. El método de la reivindicación 1 donde la muestra venosa periférica es una muestra venosa yugular.
- 30     3. El método de la reivindicación 1 donde la relación se deriva de la concentración de ACTH en una muestra de líquido obtenida de los senos venosos petrosos inferiores izquierdo y derecho.
- 35     4. El método de la reivindicación 1 donde el antagonista del receptor de glucocorticoides es un inhibidor selectivo del receptor de glucocorticoides.
- 40     5. El método de la reivindicación 1 donde se tomaron un muestreo primero y uno segundo de las concentraciones de ACTH con 5 a 10 minutos de diferencia para ambos senos venosos petrosos inferiores y una muestra venosa periférica.
- 45     6. El método de la reivindicación 1, donde el antagonista del receptor de glucocorticoides comprende una estructura principal esteroidea con al menos una fracción que contiene fenilo en la posición 11- $\beta$  de la estructura principal esteroidea.
- 50     7. El método de la reivindicación 6, donde la fracción que contiene fenilo en la posición 11- $\beta$  de la estructura principal esteroidea es una fracción dimetilaminofenilo.
- 55     8. El método de la reivindicación 6, donde el antagonista del receptor de glucocorticoides es mifepristona.
- 45     9. El método de la reivindicación 1, donde el antagonista del receptor de glucocorticoides se selecciona a partir del grupo que consiste en 11 $\beta$ -(4-dimetilaminoetoxifenil)-17 $\alpha$ -propinil-17 $\beta$ -hidroxi-4,9estadien-3-ona, (11 $\beta$ ,17 $\beta$ )-11-(1,3-benzodioxol-5-il)-17-hidroxi-17-(1-propinil)estra-4,9-dien-3-ona y (17 $\alpha$ )-17-hidroxi-19-(4-metilfenil)androst-4,9(11)-dien-3-ona.
- 50     10. El método de la reivindicación 1, donde el antagonista del receptor de glucocorticoides presenta una estructura principal no esteroidea.
- 55     11. El método de la reivindicación 10, donde la estructura principal no esteroidea se selecciona a partir de una ciclohexilpirimidina, una azadecalina fusionada, una azadecalina fusionada con heteroaril cetona, y una azadecalina fusionada con octahidro.
- 55     12. El método de la reivindicación 11, donde la estructura principal no esteroidea es una ciclohexilpirimidina que presenta la siguiente fórmula:



donde

5 la línea discontinua se encuentra ausente o es un enlace;

X se selecciona a partir del grupo que consiste en O y S;

10 R<sup>1</sup> se selecciona a partir del grupo que consiste de cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo y heteroarilo, sustituido con, de manera opcional, 1 a 3 grupos R<sup>1a</sup>;

15 cada R<sup>1a</sup> se selecciona de manera independiente a partir del grupo que consiste en H, alquilo C<sub>1-6</sub>, alquenilo C<sub>2-6</sub>, alquinilo C<sub>2-6</sub>, alcoxi C<sub>1-6</sub>, alquilo C<sub>1-6</sub>OR<sup>1b</sup>, halógeno, haloalquilo C<sub>1-6</sub>, haloalcoxi C<sub>1-6</sub>, OR<sup>1b</sup>, NR<sup>1b</sup>R<sup>1c</sup>, C(O)R<sup>1b</sup>, C(O)OR<sup>1b</sup>, OC(O)R<sup>1b</sup>, C(O)NR<sup>1b</sup>R<sup>1c</sup>, NR<sup>1b</sup>C(O)R<sup>1c</sup>, SO<sub>2</sub>R<sup>1b</sup>, SO<sub>2</sub>NR<sup>1b</sup>R<sup>1c</sup>, cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo y heteroarilo;

cada R<sup>1b</sup> y R<sup>1c</sup> se selecciona de manera independiente a partir del grupo que consiste en H y alquilo C<sub>1-6</sub>;

20 R<sup>2</sup> se selecciona a partir del grupo que consiste en H, alquilo C<sub>1-6</sub>, alquilo C<sub>1-6</sub>-OR<sup>1b</sup>, alquilo C<sub>1-6</sub> NR<sup>1b</sup>R<sup>1c</sup> y alquieno C<sub>1-6</sub> heterocicloalquilo;

R<sup>3</sup> se selecciona a partir del grupo que consiste en H y alquilo C<sub>1-6</sub>;

25 Ar es arilo, sustituido con, de manera opcional, 1 - 4 grupos R<sup>4</sup>;

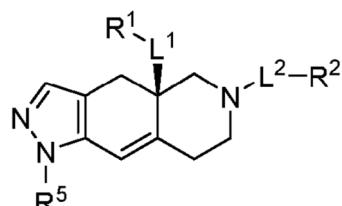
cada R<sup>4</sup> se selecciona de manera independiente a partir del grupo que consiste en H, alquilo C<sub>1-6</sub>, alcoxi C<sub>1-6</sub>, halógeno, haloalquilo C<sub>1-6</sub> y haloalcoxi C<sub>1-6</sub>;

30 L<sup>1</sup> es un enlace o alquieno C<sub>1-6</sub>; y

35 el subíndice n es un número entero de 0 a 3,

o sales e isómeros de estos.

35 13. El método de la reivindicación 11, donde la estructura principal no esteroidea es una azadecalina fusionada que presenta la siguiente fórmula:



donde

40 L<sup>1</sup> y L<sup>2</sup> son miembros que se seleccionan de manera independiente a partir de un enlace y alquieno no sustituido;

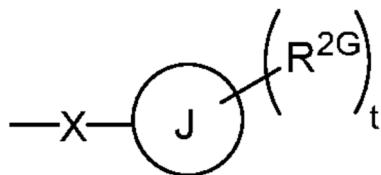
45 R<sup>1</sup> es un miembro que se selecciona a partir de alquilo no sustituido, heteroalquilo no sustituido, heterocicloalquilo no sustituido, -OR<sup>1A</sup>, NR<sup>1C</sup>R<sup>1D</sup>, -C(O)NR<sup>1C</sup>R<sup>1D</sup>, y -C(O)OR<sup>1A</sup>, donde

R<sup>1A</sup> es un miembro que se selecciona a partir de hidrógeno, alquilo no sustituido y heteroalquilo no sustituido,

50 R<sup>1C</sup> y R<sup>1D</sup> son miembros que se seleccionan de manera independiente a partir de alquilo no sustituido y heteroalquilo no sustituido,

55 donde R<sup>1C</sup> y R<sup>1D</sup> se unen, de manera opcional, para formar un anillo no sustituido con el nitrógeno al que se encuentran unidos, donde dicho anillo comprende de manera opcional un anillo adicional de nitrógeno;

R<sup>2</sup> presenta la fórmula:



donde

5 R<sup>2G</sup> es un miembro que se selecciona a partir de hidrógeno, halógeno, alquilo no sustituido, heteroalquilo no sustituido, cicloalquilo no sustituido, heterocicloalquilo no sustituido, -CN y -CF<sub>3</sub>;

J es fenilo;

10 t es un número entero de 0 a 5;

X es -S(O<sub>2</sub>)-; y

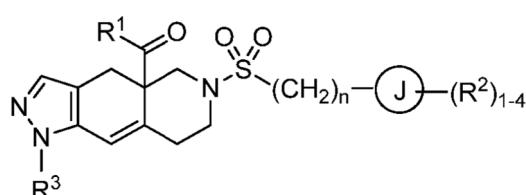
15 R<sup>5</sup> es fenilo sustituido con, de manera opcional, 1 - 5 grupos R<sup>5A</sup>, donde

R<sup>5A</sup> es un miembro que se selecciona a partir de hidrógeno, halógeno, -OR<sup>5A1</sup>, S(O<sub>2</sub>)NR<sup>5A2</sup>R<sup>5A3</sup>, -CN, y alquilo no sustituido, donde

20 R<sup>5A1</sup> es un miembro que se selecciona a partir de hidrógeno y alquilo no sustituido, y

R<sup>5A2</sup> y R<sup>5A3</sup> son miembros que se seleccionan de manera independiente a partir de hidrógeno y alquilo no sustituido, o sales e isómeros de estos.

25 14. El método de la reivindicación 11, donde la estructura principal no esteroidea es una azadecalina fusionada con heteroaril cetona que presenta la siguiente fórmula:



30 donde

R<sup>1</sup> es un anillo heteroarilo que presenta de 5 a 6 miembros del anillo y de 1 a 4 heteroátomos cada uno se selecciona de manera independiente a partir del grupo que consiste en N, O y S, sustituido con, de manera opcional, 1 a 4 grupos, cada uno se selecciona de manera independiente a partir de R<sup>1a</sup>;

cada R<sup>1a</sup> se selecciona de manera independiente a partir del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo C<sub>1-6</sub>, halógeno, haloalquilo C<sub>1-6</sub>, alcoxi C<sub>1-6</sub>, haloalcoxi C<sub>1-6</sub>, CN, N-óxido, cicloalquilo C<sub>3-8</sub> y heterocicloalquilo C<sub>3-8</sub>;

40 el anillo J se selecciona a partir del grupo que consiste en un anillo cicloalquilo, un anillo heterocicloalquilo, un anillo arilo y un anillo heteroarilo, donde los anillos heterocicloalquilo y heteroarilo presentan de 5 a 6 miembros del anillo y de 1 a 4 heteroátomos, cada uno se selecciona de manera independiente a partir del grupo que consiste en N, O y S;

45 cada R<sup>2</sup> se selecciona de manera independiente a partir del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo C<sub>1-6</sub>, halógeno, haloalquilo C<sub>1-6</sub>, alcoxi C<sub>1-6</sub>, haloalcoxi C<sub>1-6</sub>, alquil C<sub>1-6</sub>-alcoxi C<sub>1-6</sub>, CN, OH, NR<sup>2a</sup>R<sup>2b</sup>, C(O)R<sup>2a</sup>, C(O)OR<sup>2a</sup>, C(O)NR<sup>2a</sup>R<sup>2b</sup>, SR<sup>2a</sup>, S(O)R<sup>2a</sup>, S(O)2R<sup>2a</sup>, cicloalquilo C<sub>3-8</sub> y heterocicloalquilo C<sub>3-8</sub>, donde los grupos heterocicloalquilo están sustituidos con, de manera opcional, 1 - 4 grupos R<sup>2c</sup>;

50 de manera alternativa, dos grupos R<sup>2</sup> unidos al mismo carbono se combinan para formar un grupo oxo (=O);

55 de manera alternativa, dos grupos R<sup>2</sup> se combinan para formar un anillo heterocicloalquilo que presenta de 5 a 6 miembros del anillo y de 1 a 3 heteroátomos, cada uno se selecciona de manera independiente a partir del grupo que consiste en N, O y S, donde el anillo heterocicloalquilo está sustituido con, de manera opcional, 1 a 3 grupos R<sup>2d</sup>;

cada R<sup>2a</sup> y R<sup>2b</sup> se selecciona de manera independiente a partir del grupo que consiste en hidrógeno y alquilo C<sub>1-6</sub>;

cada  $R^{2c}$  se selecciona de manera independiente a partir del grupo que consiste en hidrógeno, halógeno, hidroxi, alcoxi  $C_{1-6}$ , haloalcoxi  $C_{1-6}$ , CN, y  $NR^{2a}R^{2b}$ ;

5 cada  $R^{2d}$  se selecciona de manera independiente a partir del grupo que consiste en hidrógeno y alquilo  $C_{1-6}$ , o dos grupos  $R^{2d}$  unidos al mismo átomo del anillo se combinan para formar (=O);

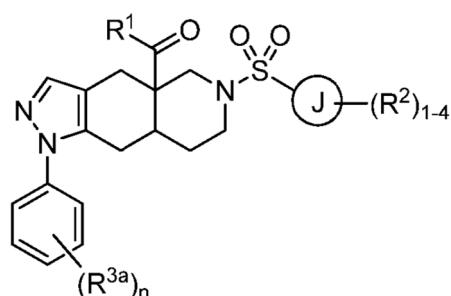
10  $R^3$  se selecciona a partir del grupo que consiste en fenilo y piridilo, cada uno sustituido con, de manera opcional, 1 - 4 grupos  $R^{3a}$ ;

15 cada  $R^{3a}$  se selecciona de manera independiente a partir del grupo que consiste en hidrógeno, halógeno y haloalquilo  $C_{1-6}$ ; y

el subíndice  $n$  es un número entero de 0 a 3;

15 o sales e isómeros de estos.

20 15. El método de la reivindicación 11, donde la estructura principal no esteroidea es una azadecalina fusionada con octahidro que presenta la siguiente fórmula:



donde

25  $R^1$  es un anillo heteroarilo que presenta de 5 a 6 miembros del anillo y de 1 a 4 heteroátomos cada uno se selecciona de manera independiente a partir del grupo que consiste en N, O y S, sustituido con, de manera opcional, 1 - 4 grupos cada uno se selecciona de manera independiente a partir de  $R^{1a}$ ;

30 cada  $R^{1a}$  se selecciona de manera independiente a partir del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo  $C_{1-6}$ , halógeno, haloalquilo  $C_{1-6}$ , alcoxi  $C_{1-6}$ , haloalcoxi  $C_{1-6}$ , N-óxido, y cicloalquilo  $C_{3-8}$ ;

35 el anillo J se selecciona a partir del grupo que consiste en un anillo arilo y un anillo heteroarilo que presentan de 5 a 6 miembros del anillo y de 1 a 4 heteroátomos cada uno se selecciona de manera independiente a partir del grupo que consiste en N, O y S;

40 35 cada  $R^2$  se selecciona de manera independiente a partir del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo  $C_{1-6}$ , halógeno, haloalquilo  $C_{1-6}$ , alcoxi  $C_{1-6}$ , haloalcoxi  $C_{1-6}$ , alquil  $C_{1-6}$ -alcoxi  $C_{1-6}$ , CN, OH,  $NR^{2a}R^{2b}$ ,  $C(O)R^{2a}$ ,  $C(O)OR^{2a}$ ,  $C(O)NR^{2a}R^{2b}$ ,  $SR^{2a}$ ,  $S(O)R^{2a}$ ,  $S(O)2R^{2a}$ , cicloalquilo  $C_{3-8}$ , y heterocicloalquilo  $C_{3-8}$ , que presenta de 1 a 3 heteroátomos cada uno se selecciona de manera independiente a partir del grupo que consiste en N, O y S;

45 40 de manera alternativa, los dos grupos  $R^2$  en átomos del anillo adyacentes se combinan para formar un anillo heterocicloalquilo que presenta de 5 a 6 miembros del anillo y de 1 a 3 heteroátomos cada uno se selecciona de manera independiente a partir del grupo que consiste en N, O y S, donde el anillo heterocicloalquilo está sustituido con, de manera opcional, 1 a 3 grupos  $R^{2c}$ ;

45 45 cada  $R^{2a}$ ,  $R^{2b}$  y  $R^{2c}$  se selecciona de manera independiente a partir del grupo que consiste en hidrógeno y alquilo  $C_{1-6}$ ,

50 cada  $R^{3a}$  es manera independiente halógeno; y

el subíndice  $n$  es un número entero de 0 a 3

o sales e isómeros de estos.