

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 707 596**

51 Int. Cl.:

A61K 31/4188 (2006.01)

A61K 31/55 (2006.01)

A61P 5/00 (2006.01)

C07D 487/04 (2006.01)

C07F 9/6506 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **13.01.2011 PCT/US2011/021100**

87 Fecha y número de publicación internacional: **21.07.2011 WO11088188**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **13.01.2011 E 11702096 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **24.10.2018 EP 2523731**

54 Título: **Uso de un agente modificador de hormonas suprarrenales**

30 Prioridad:

14.01.2010 US 294980 P

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

04.04.2019

73 Titular/es:

NOVARTIS AG (100.0%)

Lichtstrasse 35

4056 Basel, CH

72 Inventor/es:

HU, QI-YING;

KSANDER, GARY;

MEREDITH, ERIK;

MONOVICH, LAUREN G.;

PAPILLON, JULIEN y

SCHUMACHER, CHRISTOPH

74 Agente/Representante:

CARVAJAL Y URQUIJO, Isabel

Observaciones:

Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 707 596 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

Uso de un agente modificador de hormonas suprarrenales

5 **Campo de la Invención.**

La invención se refiere al uso de un compuesto con propiedades modificadoras de hormonas suprarrenales en estados de enfermedad caracterizados por un aumento en los niveles de hormonas del estrés y/o por una disminución en los niveles de hormonas de andrógenos.

10

Antecedentes de la Invención.

La esteroidogénesis en la glándula suprarrenal se presenta por medio de las enzimas del citocromo P450 altamente relacionadas y controladas. La inhibición de la sintasa de aldosterona o de la enzima 11B2 del citocromo P450 (CYP11B2) representa una nueva estrategia farmacológica para reducir los niveles excesivos de aldosterona. La aldosterona es un mineralocorticoide que se sintetiza principalmente en la glándula suprarrenal y se libera hacia la circulación para controlar, en el epitelio renal, el equilibrio de sodio/potasio y, por consiguiente, la homeostasia del agua y la presión sanguínea, así como la formación de matriz extracelular en el tejido no epitelial del corazón y el riñón, y la remodelación de órganos. La sintasa de aldosterona media, en la glándula suprarrenal, la conversión terminal y limitante de la tasa, de la 11-desoxicorticosterona a corticosterona por medio de la 11-beta-hidroxilación, la conversión de corticosterona a 18-hidroxi-corticosterona por medio de la 18-metil-hidroxilación, y finalmente, la conversión de la 18-hidroxi-corticosterona a aldosterona por medio de la 18-metiloxidación. La actividad y expresión de la enzima es regulada principalmente por la angiotensina II, el potasio, y la adrenocorticotropina. Estos reguladores de la sintasa de aldosterona son sensibles a las acciones de la aldosterona y al ritmo circadiano fisiológico, y como tales, crean un ciclo de retroalimentación endocrino. La angiotensina II se produce después de la estimulación de la actividad de la renina que es desencadenada por medio de la pérdida de sodio y la disminución de la presión sanguínea debido a los estados hipoaldosteronémicos. En las condiciones hipoaldosteronémicas, se retiene el potasio a cambio de la pérdida de sodio. Finalmente, se produce la adrenocorticotropina a partir de la glándula hipófisis en respuesta a los bajos niveles de glucocorticoides y al ritmo circadiano. Por consiguiente, una inhibición selectiva de la sintasa de aldosterona y una reducción de la secreción de aldosterona se contrarrestan con la estimulación de la renina y la generación de la angiotensina II, así como por una retención de potasio; el aumento en los niveles tanto de angiotensina II como de potasio es un potente estimulante de la actividad de la sintasa de aldosterona y, por consiguiente, de la secreción de aldosterona. El ritmo circadiano se embota por la aldosterona después de la inhibición de la sintasa de aldosterona, y no obstante, los niveles de adrenocorticotropina no cambian de una manera significativa, debido a que los glucocorticoides son los principales reguladores de la secreción de adrenocorticotropina. La enzima limitante de la tasa de la secreción de cortisol es la enzima suprarrenal 11-beta-hidroxilasa o la 11B1 del citocromo P450 (CYP11B1), que convierte el 11-desoxicortisol en cortisol. Los niveles de cortisol se controlan por medio del ciclo de retroalimentación hipotalámico-hipofisario-suprarrenal, mediante el control de la liberación de adrenocorticotropina (ACTH). La adrenocorticotropina estimula, en la glándula suprarrenal, las reacciones esteroidogénicas tempranas y tardías que conducen a la síntesis de cortisol, pero también de dehidroepiandrosterona y androstenodiona (véase la Figura 1, un diagrama para la esteroidogénesis suprarrenal). La enzima productora de cortisol CYP11B1 muestra una alta homología de secuencia del 95 por ciento en el nivel de los aminoácidos con la enzima productora de aldosterona CYP11B2. Por consiguiente, se necesita probar un compuesto dirigido hacia la sintasa de aldosterona para reducir la secreción excesiva de aldosterona, con el fin de determinar su selectividad enzimática.

50 **Síntesis de la divulgación y la Invención.**

En un aspecto, la presente invención proporciona un método para el tratamiento de una enfermedad o trastorno caracterizado por un aumento en los niveles de hormonas de estrés y/o por una disminución en los niveles de hormonas de andrógenos en un sujeto, el cual comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto representado por la fórmula (I), o de una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

55

En otro aspecto, se divulga un método para el tratamiento de insuficiencia cardíaca, caquexia, síndrome coronario agudo, síndrome de estrés crónico, síndrome de Cushing, o síndrome metabólico, el cual comprende administrar al sujeto, una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto representado por la fórmula (I), o de una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

60

En un aspecto adicional, se divulga el uso de un compuesto de la fórmula (I), o de una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para la preparación de una composición farmacéutica para el tratamiento de un trastorno o enfermedad caracterizada por un aumento en los niveles de hormonas de estrés y/o por una disminución en los niveles de hormonas de andrógenos en un sujeto.

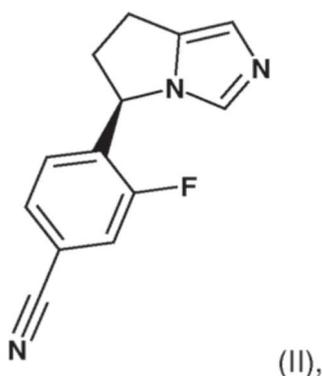
65

En un aspecto adicional, se proporciona el uso de un compuesto de la fórmula (I), o de una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en el tratamiento de un trastorno o enfermedad caracterizados por un aumento en los niveles de hormonas de estrés y/o por una disminución en los niveles de hormonas de andrógenos en un sujeto.

5 En otro aspecto, la presente invención proporciona el uso de un compuesto de la fórmula (I), o de una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para la preparación de una composición farmacéutica para el tratamiento de un trastorno o enfermedad seleccionados a partir de insuficiencia cardíaca, caquexia, síndrome coronario agudo, síndrome de estrés crónico, síndrome de Cushing, o síndrome metabólico.

10 En un aspecto adicional, se proporciona el uso de un compuesto de la fórmula (I), o de una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en el tratamiento de un trastorno o enfermedad seleccionados a partir de insuficiencia cardíaca, caquexia, síndrome coronario agudo, síndrome de estrés crónico, síndrome de Cushing, o síndrome metabólico.

15 La presente invención proporciona el compuesto 4-[(5R)-6,7-dihidro-5H-pirrolo[1,2-c]imidazol-5-il]-3-fluorobenzonitrilo, que tiene la fórmula (II):

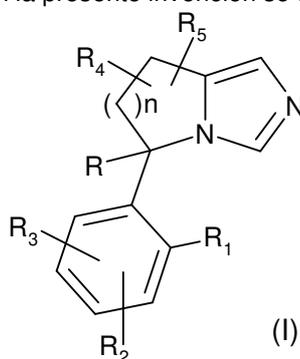


20 o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, para el uso en el tratamiento del síndrome de Cushing (que incluye hipercortisolismo debido a tumores adrenocorticales, hipofisarios o ectópicos), enfermedad de Cushing o hipercortisolemia.

25 La presente invención además proporciona el compuesto de la fórmula (II) en la forma de su sal de dihidrógeno fosfato para el uso en el tratamiento del síndrome de Cushing, la enfermedad de Cushing, o la hipercortisolemia. Adicionalmente, la presente invención proporciona 4-[(5R)-6,7-dihidro-5H-pirrolo[1,2-c]imidazol-5-il]-3-fluorobenzonitrilo dihidrógeno fosfato.

30 **Descripción detallada de la divulgación y la Invención.**

Los compuestos que se pueden utilizar en la presente invención se describen utilizando la siguiente fórmula (I):



en donde n es 1 o 3;

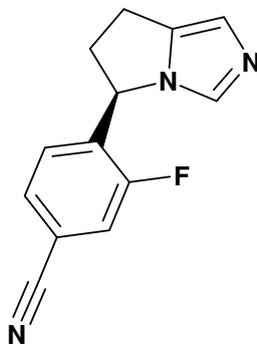
35 R es hidrógeno o —C(O)N(R_a)-(R_b), en donde R_a y R_b son independientemente —alquilo (de 1 a 4 átomos de carbono), o —alquilo (de 1 a 4 átomos de carbono)—arilo (de 5 a 7 átomos de carbono), en donde cada uno de R_a y R_b está opcionalmente sustituido por —alcoxilo (de 1 a 4 átomos de carbono);

40 R₁, R₂, y R₃, son independientemente hidrógeno, halógeno, ciano o —arilo (de 6 a 10 átomos de carbono), en donde este —arilo (de 6 a 10 átomos de carbono) está opcionalmente sustituido por halógeno, con la condición

de que no más de uno de R₁, R₂, y R₃ es hidrógeno; y

R₄ y R₅ son hidrógeno; o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

- 5 En una forma de realización, el compuesto de la fórmula (I) es el 4-[(5R)-6,7-dihidro-5H-pirrol-[1,2-c]-imidazol-5-il]-3-fluoro-benzonitrilo, el cual tiene la fórmula (II):



10 Como se utiliza en la presente memoria, el término "alquilo" se refiere a un resto de hidrocarburo ramificado o no ramificado, completamente saturado. preferentemente, el alquilo comprende 1 a 6 átomos de carbono, más preferentemente de 1 a 16 átomos de carbono, de 1 a 10 átomos de carbono, de 1 a 7 átomos de carbono, o de 1 a 4 átomos de carbono. Los ejemplos representativos de alquilo incluyen, sin limitación, metilo, etilo, propilo normal, isopropilo, butilo normal, butilo secundario, isobutilo, butilo terciario, pentilo normal, isopentilo, neopentilo, hexilo normal, 3-metil-hexilo, 2,2-dimetil-pentilo, 2,3-dimetil-pentilo, heptilo normal, octilo normal, nonilo normal, decilo normal, y similares.

15 Como se utiliza en la presente memoria, el término "alcoxi" se refiere a alquilo-O-, en donde alquilo se define en la presente anteriormente. Los ejemplos representativos de alcoxi incluyen, sin limitación, metoxi, etoxi, propoxi, 2-propoxi, butoxi, butoxi terciario, pentiloxi, hexiloxi, ciclopropiloxi-, ciclohexiloxi, y similares. Como se utiliza en la presente memoria, el término "alcoxi inferior" se refiere a los grupos alcoxi que tienen de aproximadamente 1 a 7, preferentemente de aproximadamente 1 a 4 átomos de carbono.

20 El término "arilo" se refiere a los grupos hidrocarburo aromáticos monocíclicos o bicíclicos que tienen de 6 a 20 átomos de carbono en la porción del anillo. preferentemente, el arilo es un arilo (de 6 a 10 átomos de carbono). Los ejemplos no limitantes incluyen fenilo, bifenilo, naftilo, o tetrahidro-naftilo, cada uno de los cuales puede estar opcionalmente sustituido por 1 a 4 sustituyentes, tales como alquilo, trifluoro-metilo, ciclo-alquilo, halógeno, hidroxilo, alcoxi, acilo, alquilo-C(O)-O-, arilo-O-, heteroarilo-O-, amino, HS-, alquilo-S-, arilo-S-, nitro, ciano, carboxi, alquilo-O-C(O)-, carbamoilo, alquilo-S(O)-, sulfonilo, sulfonamido, heterociclilo, y similares, en donde R es independientemente hidrógeno, alquilo, arilo, heteroarilo, aril-alquilo-, heteroaril-alquilo-, y similares.

25 Adicionalmente, el término "arilo", como se utiliza en la presente, se refiere a un sustituyente aromático, el cual puede ser un solo anillo aromático, o múltiples anillos aromáticos que se fusionen entre sí, enlazados de una manera covalente, o enlazados a un grupo común, tal como un resto metileno o etileno. El grupo de enlace común también puede ser un carbonilo como en benzofenona, o un oxígeno como en difenil-éter, o un nitrógeno como en difenil-amina.

30 Como se utiliza en la presente, el término "halógeno" o "halo" se refiere a flúor, cloro, bromo, y yodo.

35 Como se utiliza en la presente, el término "sales farmacéuticamente aceptables" se refiere a las sales que conservan la efectividad biológica y las propiedades de los compuestos de esta invención, y que no son biológicamente o de otra manera indeseables. En muchos casos, los compuestos de la presente invención son capaces de formar sales de ácido y/o base en virtud de la presencia de los grupos amino y/o carboxilo, o grupos similares a los mismos. Las sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables se pueden formar con ácidos inorgánicos y ácidos orgánicos. Los ácidos inorgánicos a partir de los cuales se pueden derivar las sales incluyen, por ejemplo, ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido nítrico, ácido fosfórico, y similares. Los ácidos orgánicos a partir de los cuales se pueden derivar las sales incluyen, por ejemplo, ácido acético, ácido propiónico, ácido glicólico, ácido pirúvico, ácido oxálico, ácido maleico, ácido malónico, ácido succínico, ácido fumárico, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido benzoico, ácido cinámico, ácido mandélico, ácido metan-sulfónico, ácido etan-sulfónico, ácido p-toluen-sulfónico, ácido salicílico, y similares. Las sales de adición de base farmacéuticamente aceptables se pueden formar con bases inorgánicas y orgánicas. Las bases inorgánicas a partir de las cuales se pueden derivar las sales incluyen, por ejemplo, sodio, potasio, litio, amonio, calcio, magnesio, hierro, zinc, cobre, manganeso, aluminio, y similares; se prefieren en particular, las sales de

5 amonio, potasio, sodio, calcio y magnesio. Las bases orgánicas a partir de las cuales se pueden derivar las sales incluyen, por ejemplo, aminas primarias, secundarias, y terciarias, aminas sustituidas, incluyendo aminas sustituidas que se presentan naturalmente, aminas cíclicas, resinas básicas de intercambio de iones, y similares, específicamente tales como isopropil-amina, trimetil-amina, dietil-amina, trietil-amina, tripropil-amina, y etanolamina. Las sales farmacéuticamente aceptables de la presente invención se pueden sintetizar a partir de un compuesto progenitor, un resto básico o ácido, mediante los métodos químicos convencionales. En términos generales, estas sales se pueden preparar mediante la reacción de las formas del ácido libre de estos compuestos con una cantidad estequiométrica de la base apropiada (tal como hidróxido, carbonato, bicarbonato, o similares de Na, Ca, Mg, o K), o mediante la reacción de las formas de base libre de estos compuestos con una cantidad estequiométrica del ácido apropiado. Estas reacciones típicamente se llevan a cabo en agua o en un solvente orgánico, o en una mezcla de los dos. En términos generales, se prefieren los medios no acuosos como éter, acetato de etilo, etanol, isopropanol, o acetonitrilo, cuando sea practicable. Las listas de las sales adecuadas adicionales se pueden encontrar, por ejemplo, en *Remington's Pharmaceutical Sciences*, 20ª Edición, Mack Publishing Company, Easton, Pa., (1985).

15 En otra forma de realización, el compuesto de la fórmula (I) es la sal de dihidrógeno-fosfato de 4-[(5R)-6,7-dihidro-5H-pirrol-1,2-c]-imidazol-5-il]-3-fluoro-benzonitrilo.

20 Como se utiliza en la presente, el término "portador farmacéuticamente aceptable" incluye cualquiera y todos los solventes, medios de dispersión, recubrimientos, tensoactivos, antioxidantes, conservadores (por ejemplo, agentes antibacterianos, agentes antifúngicos), agentes isotónicos, agentes retardantes de absorción, sales, conservadores, fármacos, estabilizantes de fármacos, aglutinantes, excipientes, agentes de desintegración, lubricantes, agentes edulcorantes, agentes saborizantes, tintes, materiales similares y combinaciones de los mismos, como serían conocidos por un experto ordinario en este campo (véase, por ejemplo, *Remington's Pharmaceutical Sciences*, 18ª Edición, Mack Printing Company, 1990, páginas 1289-1329). Excepto hasta donde cualquier portador convencional sea incompatible con el ingrediente activo, se contempla su uso en las composiciones terapéuticas o farmacéuticas.

30 El término "cantidad terapéuticamente efectiva" de un compuesto de la presente invención se refiere a una cantidad del compuesto de la presente invención que provocará la respuesta biológica o médica de un sujeto, o que mitigará los síntomas, hará más lento o retardará el progreso de la enfermedad, o prevendrá una enfermedad, etc. En una modalidad no limitante, el término "una cantidad terapéuticamente efectiva" se refiere a la cantidad del compuesto de la presente invención que, cuando se administra a un sujeto, es efectiva para:

35 (1) por lo menos parcialmente aliviar, inhibir, prevenir y/o mitigar una afección o un trastorno o una enfermedad (i) caracterizados por niveles excesivos de hormona de estrés y/o por niveles insuficientes de hormona de andrógeno, o (ii) asociados con las actividades de los niveles excesivos de hormona de estrés y/o de los niveles insuficientes de hormona de andrógeno, o (iii) caracterizados por actividades anormales de los niveles excesivos de hormona de estrés y/o de los niveles insuficientes de hormona de andrógeno; o

40 (2) reducir o inhibir las actividades de los niveles excesivos de hormona de estrés y/o reducir o inhibir la actividad de las enzimas esteroideogénicas que conducen indirectamente a niveles insuficientes de hormona de andrógeno, o

45 (3) reducir o inhibir la síntesis de los niveles excesivamente producidos de hormona de estrés y/o aumentar los niveles de hormona de andrógeno.

50 En otra forma de realización no limitante, el término "una cantidad terapéuticamente efectiva" se refiere a la cantidad del compuesto de la presente invención que, cuando se administra a una célula, o a un tejido, o a un material biológico no celular, o a un medio, es efectiva para reducir o inhibir por lo menos parcialmente las actividades de los niveles excesivos de hormona de estrés y/o para aumentar los niveles de hormona de andrógeno; o para reducir o inhibir por lo menos parcialmente la síntesis de los niveles excesivamente producidos de hormona de estrés y/o para aumentar los niveles de hormona de andrógeno.

55 Como se utiliza en la presente, el término "sujeto" se refiere a un animal. En una forma de realización, el animal es un mamífero. Un sujeto también se refiere, por ejemplo, a primates (por ejemplo, a seres humanos), vacas, ovejas, cabras, caballos, perros, gatos, conejos, ratas, ratones, peces, aves, y similares. En una forma de realización, el sujeto es un ser humano.

60 Como se utiliza a través de toda esta solicitud de patente, los niveles de las hormonas como se miden en un sujeto, podrían estar en cualquier muestra tomada a partir de ese sujeto. En una forma de realización, los niveles se miden en una muestra de sangre. En otra forma de realización, los niveles se determinan a partir de una muestra de plasma.

65 Como se utiliza en la presente, el término "un trastorno" o "una enfermedad" se refiere a cualquier desarreglo o

anormalidad de una función; un estado físico o mental patológico. Véase *Dorland's Illustrated Medical Dictionary*, (W. B. Saunders Co. 27ª Edición, 1988).

5 Como se utiliza en la presente, el término "tratar" o "tratamiento" de cualquier enfermedad o trastorno, se refiere, en una forma de realización, a mitigar parcialmente o totalmente la enfermedad o el trastorno (es decir, detener o reducir el desarrollo de la enfermedad o por lo menos uno de los síntomas clínicos de la misma). En otra forma de realización, "tratar" o "tratamiento" se refiere a mejorar parcialmente o totalmente por lo menos un parámetro físico, el cual puede no ser discernible por el paciente. En todavía otra forma de realización, "tratar" o "tratamiento" se refiere a modular la enfermedad o el trastorno, ya sea físicamente (por ejemplo, la estabilización de un síntoma discernible), fisiológicamente (por ejemplo, la estabilización de un parámetro físico), o ambos. En todavía otra forma de realización, "tratar" o "tratamiento" se refiere a prevenir o retardar el establecimiento o desarrollo o progreso de la enfermedad o del trastorno.

15 Como se utiliza en la presente, el término "un," "uno," "el/la" y términos similares utilizados en el contexto de la presente invención (en especial en el contexto de las reivindicaciones), se han de interpretar para cubrir tanto el singular como el plural, a menos que se indique de otra manera en la presente o que sea claramente contradicho por el contexto. La mención de intervalos de valores en la presente pretende servir meramente como un método resumido de hacer referencia individualmente a cada valor separado que caiga dentro del intervalo. A menos que se indique de otra manera en la presente, cada valor individual se incorpora en la memoria descriptiva como si fuera individualmente mencionado en la presente. Todos los métodos descritos en la presente se pueden llevar a cabo en cualquier orden adecuado, a menos que se indique de otra manera en la presente o que sea claramente contradicho de otra manera por el contexto. El uso de cualquiera y todos los ejemplos, o el lenguaje de ejemplo (por ejemplo, "tal como") proporcionado en la presente, pretende meramente iluminar mejor la invención, y no presenta una limitación sobre el alcance de la invención reivindicada de otra manera. Ningún lenguaje de la memoria descriptiva debe ser interpretado para indicar cualquier elemento no reivindicado, como esencial para la práctica de la invención.

30 Cualquier átomo de carbono asimétrico sobre los compuestos de la presente invención puede estar presente en la configuración (R), (S), o (R,S), preferentemente en la configuración (R) o (S). Los sustituyentes en los átomos con enlaces insaturados, si es posible, pueden estar presentes en la forma *cis* (Z) o *trans* (E). Por consiguiente, los compuestos de la presente invención pueden estar en la forma de uno de los posibles isómeros o mezclas de los mismos, por ejemplo, como isómeros geométricos sustancialmente puros (*cis* o *trans*), diaestereómeros, isómeros ópticos (antípodos), racematos, o mezclas de los mismos.

35 Cualesquiera mezclas resultantes de isómeros se pueden separar sobre la base de las diferencias fisicoquímicas de los constituyentes, en los isómeros geométricos u ópticos puros, diaestereómeros, racematos, por ejemplo, mediante cromatografía y/o cristalización fraccionaria.

40 Cualesquiera racematos resultantes de los productos finales o intermediarios se pueden resolver en las antípodos ópticas mediante métodos conocidos, por ejemplo, mediante la separación de las sales diaestereoméricas de los mismos, obtenidas con un ácido o base ópticamente activos, y liberando el compuesto ácido o básico ópticamente activo. En particular, el resto imidazolilo, por consiguiente, se puede emplear para resolver los compuestos de la presente invención en sus antípodos ópticas, por ejemplo, mediante cristalización fraccionaria de una sal formada con un ácido ópticamente activo, por ejemplo, ácido tartárico, ácido dibenzoil-tartárico, ácido diacetil-tartárico, ácido di-O,O'-p-toluoil-tartárico, ácido mandélico, ácido málico, o ácido canfor-10-sulfónico. Los productos racémicos también se pueden resolver mediante cromatografía quiral, por ejemplo, cromatografía de líquidos a alta presión (HPLC) utilizando un adsorbente quiral.

50 Además, la presente invención contempla los compuestos de la fórmula (I) de modo de incluir la forma libre, la forma de sal, o los derivados de profármaco de los mismos. Los compuestos se pueden obtener en la forma de hidratos, o pueden incluir los solventes utilizados para su cristalización.

55 Los compuestos de la presente invención se pueden sintetizar o producir y caracterizar mediante los métodos como se describen en la Publicación Internacional Número WO2007/024945.

60 En otra forma de realización de referencia, los métodos incluyen el uso de los compuestos de acuerdo con la fórmula (I) para tratar las enfermedades o los trastornos descritos anteriormente, en donde los compuestos, incluyendo los isómeros, isómeros ópticos, o las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, preferentemente incluyendo los isómeros e isómeros ópticos, se seleccionan a partir de:

4'-fluoro-6-(6,7,8,9-tetrahidro-5H-imidazo-[1,5-a]-azepin-5-il)-bifenil-3-carbonitrilo;

3-bromo-4-(6,7,8,9-tetrahidro-5H-imidazo-[1,5-a]-azepin-5-il)-benzonitrilo;

65 5-(2-cloro-4-ciano-fenil)-N-(4-metoxi-bencil)-N-metil-6,7-dihidro-5H-pirrol-1,2-c-imidazol-5-

carboxamida;

(4-fluoro-bencil)-metil-amida del ácido 5-(4-ciano-2-metoxi-fenil)-6,7-dihidro-5H-pirrol-[1,2-c]-imidazol-5-carboxílico;

5

4-(6,7-dihidro-5H-pirrol-[1,2-c]-imidazol-5-il)-3-fluoro-benzonitrilo;

5-(3-fluoro-4-metoxi-fenil)-6,7-dihidro-5H-pirrol-[1,2-c]-imidazol;

10

4-fluoro-bencil-éster del ácido 5-(2-cloro-4-ciano-fenil)-6,7-dihidro-5H-pirrol-[1,2-c]-imidazol-5-carboxílico;

5-(2-bromo-4-fluoro-fenil)-6,7,8,9-tetrahidro-5H-imidazo-[1,5-a]-azepina;

15

2-bromo-4-(6,7,8,9-tetrahidro-5H-imidazo-[1,5-a]-azepin-5-il)-benzonitrilo;

3-piridin-3-il-4-(6,7,8,9-tetrahidro-5H-imidazo-[1,5-a]-azepin-5-il)-benzonitrilo; y

20

3-cloro-4-(6,7,8,9-tetrahidro-5H-imidazo-[1,5-a]-azepin-5-il)-benzonitrilo;

en particular, seleccionado a partir de:

4'-fluoro-6-(6,7,8,9-tetrahidro-5H-imidazo-[1,5-a]-azepin-5-il)-bifenil-3-carbonitrilo;

25

3-bromo-4-(6,7,8,9-tetrahidro-5H-imidazo-[1,5-a]-azepin-5-il)-benzonitrilo;

5-(2-cloro-4-ciano-fenil)-N-(4-metoxi-bencil)-N-metil-6,7-dihidro-5H-pirrol-[1,2-c]-imidazol-5-carboxamida; y

30

4-(6,7-dihidro-5H-pirrol-[1,2-c]-imidazol-5-il)-3-fluoro-benzonitrilo.

Preferentemente, un compuesto de la fórmula (I), como se describe en la presente, es de la fórmula (4-[(5R)-6,7-dihidro-5H-pirrol-[1,2-c]-imidazol-5-il]-3-fluoro-benzonitrilo o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en particular, dihidrógeno fosfato de 4-[(5R)-6,7-dihidro-5H-pirrol-[1,2-c]-imidazol-5-il]-3-fluoro-benzonitrilo. Una sal de un compuesto de la fórmula (I), como se define en la presente, preferentemente una sal de fosfato, tal como dihidrógeno fosfato, se puede preparar de acuerdo con los métodos convencionales conocidos por la persona experta en el arte, por ejemplo, como se describe en Chem. Commun., 2007, 419-421 (2007); en Development of a pharmaceutical cocrystal of a monophosphate salt with phosphoric acid, Alex M. Chen, Martha E. Ellison, Andrey Peresykin, Robert M. Wenslow, Narayan Variankaval, Cecile G. Savarin, Theresa K. Natishan, A David J. Mathre, A Peter G. Dormer, A Danielle H. Euler, B Richard G. Ball, Zhixiong Ye, Yaling Wanga e Ivan Santos; en Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use, editado por P. Heinrich Stahl y Camile G. Wermuth. VHCA, Verlag Helvetica Chimica Acta, Zürich, Suiza, y Wiley-VCH, Weinheim, Alemania. 2002; en Organic Process Research & Development 2000, 4, 427-435 Salt Selection and Optimisation Procedures for Pharmaceutical New Chemical Entities, Richard J. Bastin, Michael J. Bowker, y Bryan J. Slater; en Advanced Drug Delivery Reviews 56 (2004) 275-300, High-throughput crystallization: polymorphs, salts, co-crystals and solvates of pharmaceutical solids, Sherry L. Morissette*, O'rn Almarssona, Matthew L. Peterson, Julius F. Remenara, Michael J. Reada, Anthony V. Lemmoa, Steve Ellisa, Michael J. Cimab, Colin R. Gardner; y en Journal of Pharmaceutical Sciences, VOLUMEN 96, Número 5, Mayo de 2007, Structure, Solubility, Screening, and Synthesis of Molecular Salts, Black, S. N., Collier, E. A., Davey, R. J. y Roberts, R. J.

50

De acuerdo con la invención, un compuesto de la fórmula (I) y/o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, representa un modificador pleiotrópico de la esteroidogénesis suprarrenal cuando se administra a un sujeto. Un compuesto de la fórmula (I) mantiene o reduce los niveles de cortisol cuando se administra a un sujeto. Un compuesto de la fórmula (I) aumenta los niveles de 11-desoxicortisol cuando se administra a un sujeto. Un compuesto de la fórmula (I) aumenta los niveles de adrenocorticotropina cuando se administra a un sujeto. Un compuesto de la fórmula (I) aumenta los niveles de 11-desoxicorticosterona. Un compuesto de la fórmula (I) aumenta los andrógenos suprarrenales cuando se administra a un sujeto.

55

60

En el Ejemplo 1, se ha demostrado que un compuesto de la fórmula (I), a decir, el dihidrógeno fosfato de 4-[(5R)-6,7-dihidro-5H-pirrol-[1,2-c]-imidazol-5-il]-3-fluoro-benzonitrilo, representa un modificador pleiotrópico de la esteroidogénesis suprarrenal cuando se administra a un sujeto. Se muestra en la Figura 1 que el dihidrógeno fosfato de 4-[(5R)-6,7-dihidro-5H-pirrol-[1,2-c]-imidazol-5-il]-3-fluoro-benzonitrilo mantiene o reduce los niveles de cortisol cuando se administra a un sujeto. Además se demuestra que el dihidrógeno fosfato de 4-[(5R)-6,7-dihidro-5H-pirrol-[1,2-c]-imidazol-5-il]-3-fluoro-benzonitrilo aumenta

65

- 5 los niveles de 11-desoxicortisol cuando se administra a un sujeto. El dihidrógeno fosfato de 4-[(5R)-6,7-dihidro-5H-pirroló-[1,2-c]-imidazol-5-il]-3-fluoro-benzonitrilo aumenta los niveles de adrenocorticotropina cuando se administra a un sujeto. El dihidrógeno fosfato de 4-[(5R)-6,7-dihidro-5H-pirroló-[1,2-c]-imidazol-5-il]-3-fluoro-benzonitrilo aumenta los niveles de 11-desoxi-corticosterona. El dihidrógeno fosfato de 4-[(5R)-6,7-dihidro-5H-pirroló-[1,2-c]-imidazol-5-il]-3-fluoro-benzonitrilo aumenta los andrógenos suprarrenales cuando se administra a un sujeto.
- 10 Se ha demostrado la relevancia clínica de un aumento en los niveles de las hormonas del estrés y/o de una disminución en los niveles de hormonas andrógenos, para las siguientes afecciones:
- 15 (i) insuficiencia cardíaca crónica,
- (ii) insuficiencia cardíaca crónica con tolerancia deteriorada al ejercicio,
- 20 (iii) insuficiencia cardíaca crónica con debilidad muscular,
- (iv) caquexia cardíaca,
- (v) caquexia inducida por enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC),
- 25 (vi) caquexia inducida por cirrosis,
- (vii) caquexia inducida por tumor,
- (viii) caquexia inducida por virus (VIH),
- (ix) insuficiencia cardíaca aguda,
- 30 (x) insuficiencia cardíaca aguda descompensada,
- (xi) síndrome coronario agudo,
- (xii) síndrome de estrés crónico,
- 35 (xiii) síndrome de Cushing,
- (xiv) síndrome metabólico,
- 40 (xv) hipercortisolemia,
- (i) La insuficiencia cardíaca crónica, así como las afecciones de insuficiencia cardíaca crónica con tolerancia deteriorada al ejercicio (ii), y la debilidad muscular (iv) muestran niveles elevados de aldosterona en plasma, como es mostrado por Bolger y colaboradores, *Circulation* 2002; 106: 92-99, una relación elevada del plasma a la dehidroepiandrosterona, como es mostrado por Anker y colaboradores, *European Heart Journal* 1999; 20: 683-693, y niveles reducidos de andrógenos, como es mostrado por Jankowaska y colaboradores, *Circulation* 2006; 114: 1829-1837.
- 45 (iv) La caquexia cardíaca es una grave complicación de la insuficiencia cardíaca crónica, debido a que los pacientes sufren una pérdida general del tejido graso, del tejido magro, y del tejido óseo. Los pacientes con caquexia cardíaca muestran niveles elevados en plasma de aldosterona y cortisol, así como niveles reducidos de deshidroepiandrosterona, como es descrito por Anker y colaboradores, *Circulation* 1997; 96: 526-534, y como se ilustra en la Publicación Internacional Número WO 2000/21509 y en la Patente de los Estados Unidos de Norteamérica Número US 2009/0023639.
- 50 (v) La caquexia inducida por enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), la caquexia inducida por cirrosis (vi), la caquexia inducida por tumor (vii), y la caquexia inducida por virus (VIH) (viii) se caracterizan por un aumento de los niveles de aldosterona en plasma como se documenta en la Publicación Internacional Número WO 2000/21509 o en la Patente de los Estados Unidos de Norteamérica Número US 2009/0023639, y se han tratado con andrógeno anabólico o con derivados de andrógeno, como es informado por Yeh y colaboradores, *Chest* 2002; 122: 421-428 y por Cuerda y colaboradores, *Nutrition Clinical Practice* 2005 20; 93-97.
- 60 (ix-x) El cortisol en plasma predice los eventos cardíacos, tales como la muerte y la internación en los pacientes con insuficiencia cardíaca de acuerdo con Yamaji y colaboradores, *Circulation Heart Failure* 2009; 2: 608-613.
- 65 (xi) El infarto de miocardio eleva los niveles de cortisol que afectan la remodelación cardíaca, como es indicado

por Mihailidu y colaboradores, *Hypertension* 2009 en impresión. La magnitud de la respuesta del cortisol está relacionada con el tamaño del siguiente infarto, como es mostrado por Bain y colaboradores, *International Journal of Cardiology* 1992; 27: 145–150.

- 5 (xii) Los trastornos de estrés crónico con sus ramificaciones físicas y psicológicas se han asociado con niveles excesivos de aldosterona y cortisol de acuerdo con Kubzansky y Adler, *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 2009; 5: 1–7. En particular, la secreción excesiva y persistente de cortisol puede conducir a depresión, hiperglucemia, y a la supresión del sistema inmunológico.
- 10 (xiii) El síndrome de Cushing describe una afección de liberación crónicamente excesiva de cortisol. El exceso de cortisol se puede originar directamente a partir de un tumor corticosuprarrenal, o secundariamente, a partir de un tumor de hipófisis (enfermedad de Cushing) o ectópico que libera adrenocorticotropina, como es ilustrado por Boscaro y Arnaldi, *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 2009; 94: 3121–3131.
- 15 (xiv) El síndrome metabólico define un estado de desregulación metabólica caracterizada por la resistencia a la insulina y una predisposición a la diabetes tipo 2, obesidad central y visceral, hipertensión, y dislipidemia. La desregulación metabólica puede ser causada por un desequilibrio endocrino subyacente mediado por la aldosterona esteroidea suprarrenal y el cortisol, como es informado por Kidamby y colaboradores, *Hypertension* 2007; 49: 704–711.
- 20 (xv) La hipercortisolemia se refiere a las afecciones que se caracterizan por altos niveles de cortisol circulante. Los altos niveles de cortisol en plasma pueden contribuir directamente a una afección patológica, representan un signo de una afección patológica, o pueden ser de una naturaleza no patológica.
- 25 La invención se refiere al uso de un compuesto de la fórmula (I) y/o de una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, o de cualquier otra forma del mismo, como se discute anteriormente, con propiedades modificadoras de hormonas suprarrenales, como el tratamiento para las afecciones que se caracterizan por niveles excesivos de hormonas de estrés y/o niveles insuficientes de hormona andrógenos, tales como insuficiencia cardíaca, caquexia, síndrome coronario agudo, síndrome de estrés crónico, hipercortisolemia, síndrome de Cushing, o
- 30 síndrome metabólico, en particular, insuficiencia cardíaca, caquexia, síndrome coronario agudo, síndrome de estrés crónico, síndrome de Cushing, o síndrome metabólico. La insuficiencia cardíaca podría ser tanto la insuficiencia cardíaca aguda como la insuficiencia cardíaca crónica. La insuficiencia cardíaca aguda podría ser la insuficiencia cardíaca aguda descompensada. La insuficiencia cardíaca crónica podría estar asociada con tolerancia deteriorada al ejercicio y/o con debilidad muscular. La caquexia podría ser caquexia cardíaca, caquexia inducida por enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), caquexia inducida por cirrosis, caquexia inducida por tumor, o caquexia inducida por virus (VIH). El síndrome de estrés crónico puede incluir depresión, hiperglucemia e inmunosupresión. El síndrome de Cushing puede incluir hipercortisolismo debido a tumores corticosuprarrenales, hipofisarios, o ectópicos. El síndrome metabólico podría incluir obesidad, diabetes, hipertensión, dislipidemia y aterosclerosis. Los compuestos de la fórmula (I) tienen propiedades
- 35 modificadoras de hormonas suprarrenales en las enfermedades o afecciones caracterizadas por un aumento en los niveles de hormonas del estrés y/o por una disminución en los niveles de hormonas andrógenos, como se muestra en la sección experimental.
- 40 La presente invención proporciona un método para disminuir o mantener los niveles de cortisol en un sujeto, mediante la administración de una dosis terapéuticamente eficaz de un compuesto de la fórmula (I).
- 45 La presente invención proporciona un método para el tratamiento de un trastorno, de una enfermedad o afección caracterizada por niveles reducidos o insuficientes de hormona andrógenos en un sujeto, mediante la administración de una dosis terapéuticamente eficaz de un compuesto de la fórmula (I).
- 50 La presente invención proporciona un compuesto de la fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para utilizarse en el tratamiento de un trastorno, de una enfermedad o afección caracterizada por niveles reducidos o insuficientes de hormona andrógenos.
- 55 La presente invención proporciona un método para el tratamiento de un trastorno, de una enfermedad o afección caracterizada por niveles excesivos de hormona del estrés, tales como los niveles de aldosterona y cortisol, en un sujeto, mediante la administración de una dosis terapéuticamente eficaz de un compuesto de la fórmula (I).
- 60 La presente invención proporciona un compuesto de la fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para utilizarse en el tratamiento de un trastorno, enfermedad o condición caracterizada por niveles excesivos de hormonas de estrés, tales como los niveles de aldosterona y cortisol.
- 65 La presente invención proporciona un método para aumentar o mantener los niveles de 11–desoxicortisol en un sujeto, mediante la administración de una dosis terapéuticamente eficaz de un compuesto de la fórmula (I).

La presente invención proporciona un método para aumentar o mantener los niveles de adrenocorticotropina en un sujeto, mediante la administración de una dosis terapéuticamente eficaz de un compuesto de la fórmula (I).

5 La presente invención proporciona un método para aumentar o mantener los niveles de 11–desoxicorticosterona en un sujeto, mediante la administración de una dosis terapéuticamente eficaz de un compuesto de la fórmula (I).

10 La presente invención proporciona un método para aumentar o mantener los niveles de andrógenos suprarrenales en un sujeto, mediante la administración de una dosis terapéuticamente eficaz de un compuesto de la fórmula (I).

15 La presente invención proporciona el uso de un compuesto de la fórmula (I) como un modificador pleiotrópico de la esteroidogénesis suprarrenal en un sujeto.

Proporciona además el uso de un compuesto de acuerdo con la fórmula (I) para la preparación de una composición farmacéutica para el tratamiento de un trastorno, de una enfermedad o afección caracterizados por niveles excesivos de hormonas del estrés y/o niveles insuficientes de hormonas andrógenos.

20 Proporciona además una composición farmacéutica que comprende un compuesto de acuerdo con la fórmula (I), para el uso en el tratamiento de un trastorno, una enfermedad o afección caracterizados por niveles excesivos de hormonas del estrés y/o niveles insuficientes de hormonas andrógenos. Estas enfermedades o trastornos pueden ser insuficiencia cardíaca, caquexia, síndrome coronario agudo, síndrome de estrés crónico, hipercortisolemia, síndrome de Cushing, o síndrome metabólico.

25 Proporciona además el uso de un compuesto de la presente invención para la preparación de una composición farmacéutica para el tratamiento de un trastorno o de una enfermedad o afección caracterizados por niveles excesivos de hormonas de estrés y/o niveles insuficientes de hormonas andrógenos, tales como insuficiencia cardíaca, caquexia, síndrome coronario agudo, síndrome de estrés crónico, síndrome de Cushing, o síndrome metabólico.

30 En otro aspecto, la presente invención proporciona métodos para el tratamiento de las enfermedades o trastornos caracterizados por niveles excesivos de hormona de estrés y/o niveles insuficientes de hormonas andrógenos, mediante la administración a un sujeto, de una cantidad terapéuticamente efectiva de una composición farmacéutica que comprende un compuesto de acuerdo con la Fórmula (I) y un portador farmacéuticamente aceptable. En otro aspecto, estas enfermedades o trastornos pueden ser insuficiencia cardíaca, caquexia, síndrome coronario agudo, síndrome de estrés crónico, síndrome de Cushing, o síndrome metabólico.

35 En una forma de realización de referencia, la presente invención proporciona métodos para la administrar a un sujeto de una cantidad terapéuticamente efectiva de una composición farmacéutica que comprende un compuesto de acuerdo con la Fórmula (I) y un portador farmacéuticamente aceptable, para tratar enfermedades o trastornos caracterizados por niveles excesivos de hormona de estrés y/o niveles insuficientes de hormona andrógenos. En otro aspecto, estas enfermedades o trastornos pueden ser insuficiencia cardíaca, caquexia, síndrome coronario agudo, síndrome de estrés crónico, hipercortisolemia, síndrome de Cushing, o síndrome metabólico; en particular, insuficiencia cardíaca, caquexia, síndrome coronario agudo, síndrome de estrés crónico, síndrome de Cushing, o síndrome metabólico.

40 Siempre que se utilice anteriormente, la insuficiencia cardíaca podría ser tanto la insuficiencia cardíaca aguda como la insuficiencia cardíaca crónica. La insuficiencia cardíaca aguda podría ser insuficiencia cardíaca aguda descompensada. La insuficiencia cardíaca crónica podría estar asociada con tolerancia deteriorada al ejercicio y/o con debilidad muscular. La caquexia podría ser caquexia cardíaca, caquexia inducida por enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), caquexia inducida por cirrosis, caquexia inducida por tumor, o caquexia inducida por virus (VIH). El síndrome de estrés crónico puede incluir depresión, hiperglucemia, e inmunosupresión. El síndrome de Cushing puede incluir hipercortisolismo debido a tumores corticosuprarrenales, hipofisarios, o ectópicos. El síndrome metabólico podría incluir obesidad, diabetes, hipertensión, dislipidemia, y aterosclerosis. Los compuestos de la fórmula (I) tienen propiedades modificadoras de hormonas suprarrenales en las enfermedades o afecciones caracterizadas por un aumento en los niveles de hormonas del estrés y/o por una disminución en los niveles de hormonas andrógenos, como se muestra en la sección experimental.

45 Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de la presente invención se puede preparar de acuerdo con los métodos conocidos en la técnica. La composición farmacéutica se puede formular para vías de administración particulares, tales como administración oral, administración parenteral y administración rectal, etc. Además, las composiciones farmacéuticas de la presente invención se pueden preparar en una forma

sólida, que incluye cápsulas, comprimidos, píldoras, gránulos, polvos o supositorios, o en una forma líquida, que incluye soluciones, suspensiones o emulsiones. Las composiciones farmacéuticas se pueden someter a las operaciones farmacéuticas convencionales, tales como esterilización, y/o pueden contener diluyentes inertes, agentes lubricantes, o agentes reguladores convencionales, así como adyuvantes, tales como conservadores, estabilizantes, agentes humectantes, emulsionantes y reguladores, etc.

La composición farmacéutica de acuerdo con la presente invención puede presentarse en una dosificación unitaria de por lo menos 0,05 o 1 miligramo o más de los compuestos descritos en la presente como el ingrediente activo, tal como de 0,01 miligramos a 1000 miligramos, de 0,01 miligramos a 500 miligramos, de 0,01 a 50 miligramos, de 0,01 miligramos a 5 miligramos, de 0,01 a 2 miligramos, o de 0,1 miligramos a 2 miligramos de ingrediente activo; tal como en una dosificación unitaria de por lo menos 0,05 o 1 miligramo, o de 4 miligramos a 100 miligramos, por ejemplo, de 2 miligramos a 50 miligramos, de los compuestos descritos en la presente como el ingrediente activo para un sujeto de aproximadamente 50 a 70 kilogramos. Por ejemplo, la dosificación unitaria puede contener de 1 a 1000 miligramos de ingrediente activo para un sujeto de aproximadamente 50 a 70 kilogramos, de aproximadamente 1 a 500 miligramos, de aproximadamente 1 a 50 miligramos, de aproximadamente 0,5 a 5 miligramos, de 0,1 a 1 miligramos, o de aproximadamente 0,05 a 0,5 miligramos de ingrediente activo. El régimen de dosificación utilizando los compuestos descritos en la presente se pueden seleccionar de acuerdo con una diversidad de factores, que incluyen el tipo, la especie, la edad, el peso, el género, el tipo de enfermedad o trastorno que se va a tratar, la gravedad de la enfermedad o el trastorno que se va a tratar, la vía de administración y el compuesto o la sal particular empleados. Un médico, clínico, o veterinario de experiencia ordinaria puede determinar fácilmente la cantidad efectiva de cada uno de los ingredientes activos, necesaria para prevenir, tratar, o inhibir el progreso del trastorno o de la enfermedad.

Las propiedades de dosificación anteriormente citadas se pueden demostrar en las pruebas *in vitro* (ver las Solicitudes del PCT Números PCT/US2007/018660 y WO2007/065942A2), y en las pruebas *in vivo* (ver el Ejemplo 1 más adelante), utilizando convenientemente mamíferos, por ejemplo, ratones, ratas, perros, monos, o sus órganos, tejidos y preparaciones aislados. Los compuestos de la presente invención se pueden aplicar *in vitro* en la forma de soluciones, por ejemplo, preferentemente soluciones acuosas, e *in vivo*, ya sea enteralmente, parenteralmente, de una manera conveniente intravenosamente, por ejemplo, como una suspensión o en solución acuosa. La dosificación *in vitro* puede variar entre concentraciones molares de aproximadamente 10^{-3} molar y 10^{-9} molar. Una cantidad terapéuticamente efectiva *in vivo*, de acuerdo con la vía de administración, puede variar entre 0,001 y 15 miligramos/kilogramo, preferentemente, entre 0,003 y 0,05 miligramos/kilogramo.

A continuación se citan las definiciones de los diferentes términos utilizados a través de toda la memoria descriptiva:

El término "hormona de estrés", como se utiliza en la presente, se refiere a una hormona que se secreta en respuesta a una exposición inusual de la vida. La respuesta al estrés involucra la activación tanto del sistema medulosuprarrenal simpático con la secreción de epinefrina y norepinefrina, como del sistema corticosuprarrenal hipofisario hipotalámico (HPA), con la secreción de cortisol. Los ejemplos de las hormonas de estrés, por ejemplo, se describen en la Tabla 1 en la Publicación Internacional Número WO2007/105203. En una forma de realización preferida, una hormona de estrés es aldosterona o cortisol, preferentemente, cortisol.

El término "un aumento en los niveles de hormonas del estrés" o "los niveles excesivos de hormonas de estrés" se utiliza en la presente para indicar que el nivel de concentraciones hormonales se eleva de una manera estadísticamente significativa en relación con aquel de otros parámetros, tales como la actividad de la aldosterona a la renina plasmática, o se eleva de una manera estadísticamente significativa en relación con los valores de referencia clínicos normales. Por ejemplo, los niveles de hormonas de estrés se incrementan si el nivel de aldosterona está por encima de 277 pM en reposo, o si el nivel de cortisol está por encima de 552 nM a la mañana, como se describe, por ejemplo, en *Endocrinology* 9^a Edición (Editores J. D. Wilson, D. W. Foster, H. M. Kronenberg, P. R. Larsen) W. B. Saunders Co., Filadelfia, 1988.

El término "reducir o inhibir las actividades de los niveles excesivos de hormonas de estrés", como se utiliza en la presente, significa cualquier mejora en la prevención, el control, retardo, abatimiento, o mitigación de los desequilibrios relativos y/o absolutos del aumento o exceso de hormona de estrés que conducen a una fisiopatología. Aunque el término "inhibir" no pretende restringirse a la normalización de los niveles de hormonas de estrés, también incluye la posibilidad de que los niveles de hormona de estrés se normalicen enteramente hasta los valores de referencia clínicos.

El término "reducir o inhibir la síntesis de los niveles excesivamente producidos de hormonas de estrés", como se utiliza en la presente, significa cualquier mejora en la prevención, el control, retardo, abatimiento, o mitigación de los desequilibrios relativos y/o absolutos del aumento o exceso de hormonas de estrés que conducen a una fisiopatología. Aunque el término "inhibir" no pretende restringirse a la normalización de los niveles de las hormonas de estrés, también incluye la posibilidad de que los niveles de hormona de estrés se normalicen

enteramente hasta los valores de referencia clínicos.

5 El término "hormona andrógeno", como se utiliza en la presente, se refiere a hormonas del sexo masculino, e incluye, por ejemplo, sulfato de dehidroepiandrosterona (DHEAS), dehidroepiandrosterona (DHEA), androstenodiona (A), testosterona (T) y dihidrotestosterona (DHT).

10 Los términos "una disminución en los niveles de hormonas andrógenos" o "los niveles insuficientes de hormonas andrógenos" se utilizan en la presente para indicar que el nivel de las concentraciones de andrógeno está reducido de una manera estadísticamente significativa en relación con aquel de otros parámetros, o está
15 reducido de una manera estadísticamente significativa en relación con los valores de referencia clínicos normales. Por ejemplo, los niveles de hormonas andrógenos disminuyen o son insuficientes si el nivel de androstenodiona está, por ejemplo, por debajo de 2619 pM, o si el nivel de dehidroandrosterona está, por ejemplo, por debajo de 6,94 nM, como se describe, por ejemplo, en Endocrinology 9ª Edición (Editores J. D. Wilson, D. W. Foster, H. M. Kronenberg, P. R. Larsen) W. B. Saunders Co., Filadelfia, 1988.

20 El término "reducir o inhibir la actividad de las enzimas esteroideogénicas que conducen indirectamente a niveles insuficientes de hormonas andrógenos", como se utiliza en la presente, significa cualquier mejora en la prevención, el control, retardo, abatimiento, o mitigación de los desequilibrios relativos y/o absolutos de hormonas andrógenos reducidos o insuficientes que conducen a una fisiopatología. Aunque el término "inhibir" no pretende restringirse a la normalización de los niveles de hormonas andrógenos, también incluye la posibilidad de que los niveles de hormonas andrógenos se normalicen enteramente hasta los valores de referencia clínicos.

25 El término "mantener" o "mantenimiento", cuando se hace referencia a los niveles de hormonas, se utiliza en la presente para significar una mejora en la prevención, el control, o retardo de los niveles reducidos/insuficientes relativos y/o absolutos de hormonas andrógenos, y/o de los niveles incrementados/excesivos relativos y/o absolutos de hormonas del estrés.

30 El término "disminuir/reducir" o "disminución/reducción", cuando se hace referencia a los niveles de hormonas de estrés, se utiliza en la presente para significar cualquier mejora en el abatimiento de los niveles incrementados/excesivos relativos y/o absolutos de hormonas de estrés.

35 El término "aumento" o "aumentar", cuando se hace referencia a los niveles de hormonas andrógenos, se utiliza en la presente para significar cualquier mejora en la mitigación de los niveles reducidos/insuficientes relativos y/o absolutos de hormonas andrógenos.

Como se utiliza en la presente, el término "anormal" se refiere a una actividad o característica que difiere de la actividad o característica normal.

40 El término "actividad anormal", como se utiliza en la presente, se refiere a cualquier desarreglo de la función normal. La actividad anormal puede ser más fuerte o más débil que la actividad normal. En una forma de realización, la "actividad anormal" se refiere a cualquiera de sobre- o sub-actividad de, por ejemplo, de una hormona, como se define en la presente.

45 El término "actividad", como se utiliza en la presente, se refiere a cualquier actividad específica que una molécula sea capaz de llevar a cabo o de codificar. Por ejemplo, la actividad puede ser que una molécula sea capaz de asociarse con un compañero de enlace específico con una afinidad específica, capaz de catalizar una reacción específica, capaz de inhibir una reacción específica, o capaz de efectuar una respuesta celular particular.

50 El término "expresión", como se utiliza en la presente, se debe entender como se define, por ejemplo, en Maniatis y colaboradores "Molecular Cloning: A Laboratory Manual", Cold Spring Harbor Laboratory Press: Segunda Edición, 1989; por ejemplo, se refiere a la acumulación de una molécula, tal como una hormona, como se define en la presente.

55 El término "agente modificador de hormona suprarrenal pleiotrópico", como se utiliza en la presente, se debe entender como una molécula, tal como un compuesto de la fórmula (I), como se define en la presente, que inhibe la síntesis de tanto la aldosterona como el cortisol, mientras que aumenta los niveles de ACTH, 11-desoxicorticosterona, y la síntesis de los andrógenos suprarrenales, androstenodiona y
60 dehidroepiandrosterona.

65 El término "sustituido", como se utiliza en la presente, se refiere a uno o más sustituyentes, por ejemplo, uno o dos sustituyentes, por ejemplo, los sustituyentes como se definen en la presente para un compuesto de la fórmula (I).

El término “síndrome de Cushing” también es referido como hiperadrenocorticismo o hipercorticismo. El síndrome de Cushing puede incluir hipercortisolismo debido a tumores corticosuprarrenales, hipofisarios, o ectópicos.

- 5 Para el propósito de esta invención, el compuesto de la fórmula (I), como se define en la presente, se refiere tanto a la forma libre así como a cualquier sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

Sección experimental.

- 10 Los siguientes ejemplos ilustran la invención anteriormente descrita. Sin embargo, no se pretende restringir el alcance de esta invención de ninguna manera. Otras formas de realización serán evidentes para una persona experta en la técnica al leer la descripción detallada anterior. El alcance de la presente invención no está limitado a los ejemplos anteriores, sino que está abarcado por las siguientes reivindicaciones.

Ejemplo 1: Ensayo de CYP22B1 de rata *in vitro*.

- Se obtuvieron comprimidos de inhibidor de proteasa libre de EDTA completos en Roche Applied Science (Indianápolis, IN). El medio de Eagle Modificado por Dulbecco (DMEM), antibiótico, geneticina, higromicina y suero bovino fetal (FBS, conforme a sus siglas en inglés) fueron productos de Invitrogen (Carlsbad, CA). La Solución A de Regeneración de NADPH y la Solución B se adquirieron en BD Biosciences Clontech (Palo Alto, CA). Las perlas SPA de PVT antioveja y la [1,2,6,7-³H(N)]corticosterona se adquirieron en Amersham (Piscataway, NJ), y PerkinElmer (Boston, MA), respectivamente.

- 25 La línea celular V79-4 CYP11B1-adrenodoxina-adrenoxina reductasa #259 se mantuvo en DMEM complementado con suero bovino fetal al 10 por ciento, antibiótico 0,5x, 800 microgramos/ mililitro de geneticina, y 250 microgramos/mililitro de higromicina (medio de doble selección). Para la preparación de la enzima, las células #259 se sembraron en discos de 150 milímetros en un medio de doble selección. Después de 2 días de crecimiento, las células se lavaron una vez con PBS, se rasparon y se recolectaron en PBS, y se centrifugaron a 1300 revoluciones por minuto durante 6 minutos. Cada pellet (que representaba 10 discos de células) se volvió a suspender en 3 mililitros de regulador de homogeneización helado (MgCl₂ 8.5 mM, KCl 3.13 mM, NaCl 7.59 mM, Tris 50 mM/HCl, pH de 7.4, y un comprimido de inhibidor de proteasa libre de EDTA completo por 100 mililitros de regulador), se sonicó utilizando un Sonificador Branson 450 con 6 impulsos, y entonces se colocó sobre hielo durante 5 minutos. El procedimiento de sonicación se repitió 3 veces más, con un descanso de 5 minutos sobre hielo entre las sonicaciones. El material sonicado se centrifugó entonces a 500 x g durante 4 minutos para remover las células no partidas. El sobrenadante se llevó hasta una concentración final de glicerol del 5 por ciento, se congeló instantáneamente en nitrógeno líquido, y se almacenó a -80°C.

- 40 El material a partir de las preparaciones de CYP11B1 congeladas se descongeló sobre hielo el día del experimento, y entonces se diluyó en un regulador de ensayo helado que contenía MgCl₂ 8.5 mM, KCl 3.13 mM, NaCl 7.59 mM, y Tris 50 mM/HCl, pH de 7,4, hasta una concentración de proteína de 0,5 a 6 miligramos/ mililitro. Los ensayos de CYP11B1 se llevaron a cabo en placas no tratadas con cultivo de tejido, de fondo en U, de 96 pocillos. De acuerdo con el experimento, se incubaron de 50 a 300 microgramos de proteína en 35 microlitros, con 75 microlitros de regulador de ensayo o de un compuesto en la concentración deseada y 20 microlitros de mezcla de sustrato (Solución A de Regeneración de NADPH 1.08x, Solución B de Regeneración de NADPH 6.5x, NADPH 811 μM, y 11-desoxicorticosterona 3.25 μM en regulador de ensayo) durante hasta 4 horas a 25°C en una incubadora de agitación. La reacción se interrumpió mediante la adición de 10 microlitros de Triton X-100 al 1,4 por ciento, y agitando brevemente las placas. Las placas entonces se centrifugaron a 2400 revoluciones por minuto durante 6 minutos, y se removieron 50 microlitros del sobrenadante para la medición del contenido de corticosterona mediante el ensayo de proximidad de centelleo (SPA).

- 50 La medición de corticosterona se llevó a cabo utilizando un formato de placa de 96 pocillos. Cada muestra de prueba (50 microlitros) se incubó con 0,02 μCi de [1,2,6,7-³H(N)]corticosterona y 0,3 microgramos de anticuerpo anticorticosterona en PBS que contenía Triton X-100 al 0,1 por ciento, albúmina de suero bovino al 0,1 por ciento, y glicerol al 12 por ciento, en un volumen total de 200 microlitros a temperatura ambiente durante 1 hora. Las perlas SPA de PVT antioveja (50 microlitros) entonces se agregaron a cada pocillo, y se incubaron durante la noche a temperatura ambiente antes del recuento en un contador de placas Microbeta. La cantidad de corticosterona en cada muestra se calculó mediante la comparación con una curva estándar generada utilizando cantidades conocidas de la hormona.

- 60 Las curvas de respuesta a la concentración completas de un inhibidor se llevaron a cabo por lo menos 3 veces. Los valores IC₅₀ se derivaron utilizando un programa de ajuste de curva de mínimos cuadrados no lineal de IDBS XLfit. Se ha encontrado que los compuestos dentro del alcance de la presente invención, en particular, los compuestos específicos que se dan a conocer en la presente, son inhibidores de CYP11B1 activos que tienen IC₅₀ en el intervalo de 0,3 nM a 600 nM.

65

Ejemplo 2: Ensayo de CYP11B2 de rata *in vitro*.

La línea celular V79-4 rCYP11B2-adrenodoxina-adrenoxina reductasa #305 se mantiene en DMEM complementado con suero bovino fetal al 10 por ciento, antibiótico 0.5x, 800 microgramos/ mililitro de geneticina, y 250 microgramos/mililitro de higromicina (medio de doble selección). Para la preparación de la enzima, las células #305 se siembran en discos de 150 milímetros (medio de doble selección) con una división de área superficial aproximada de 1:15 a partir de los cultivos en matraces T-185 que crecen a una confluencia del 75 al 85 por ciento. Después de 2 días de crecimiento, las células se lavan una vez con PBS, se raspan, y se recolectan en PBS, y se centrifugan a 1300 revoluciones por minuto durante 6 minutos. Cada pellet (que representa 10 discos de células) se vuelve a suspender en 3 mililitros de regulador de homogeneización helado (MgCl₂ 8.5 mM, KCl 3.13 mM, NaCl 7.59 mM, Tris 50 mM/HCl, pH de 7,4, y un comprimido de inhibidor de proteasa libre de EDTA completo por 100 mililitros de regulador), se sonica utilizando un Sonificador Branson 450 con 6 pulsos, y entonces se coloca sobre hielo durante 5 minutos. El procedimiento de sonicación se repite 3 veces más, con 5 minutos de incubación sobre hielo entre las sonicaciones. El material sonicado se centrifuga entonces a 500 x g durante 4 minutos para remover las células no partidas. El sobrenadante se lleva hasta una concentración final de glicerol del 5 por ciento, se congela instantáneamente en nitrógeno líquido, y se almacena a -80°C

El material a partir de las preparaciones de CYP11B2 congeladas se descongela sobre hielo el día del experimento, y entonces se diluye en un regulador de ensayo helado que contiene MgCl₂ 8.5 mM, KCl 3.13 mM, NaCl 7.59 mM, y Tris 50 mM/HCl, pH de 7.4, hasta una concentración de proteína de 0.25 a 1.5 miligramos/mililitro. El ensayo de CYP11B2 se lleva a cabo en placas no tratadas con cultivo de tejido, de fondo en U, de 96 pocillos. De acuerdo con el experimento, se incuban de 14 a 84 microgramos de proteína en 55 microlitros, con 75 microlitros de regulador de ensayo o de un compuesto en la concentración deseada, y 20 microlitros de mezcla de sustrato (Solución A de Regeneración de NADPH 1.25x, Solución B de Regeneración de NADPH 7.5x, NADPH 935.75 µM, y 11-desoxicorticosterona 15 µM en regulador de ensayo) durante hasta 5 horas a 25°C en una incubadora de agitación. La reacción se interrumpe mediante la adición de 10 microlitros de Triton X-100 al 1,6 por ciento, y agitando brevemente las placas. Las placas entonces se centrifugan a 2400 revoluciones por minuto durante 6 minutos, y se remueven 100 microlitros del sobrenadante para la medición del contenido de aldosterona mediante el ensayo de proximidad de centelleo (SPA).

La medición de aldosterona se lleva a cabo utilizando un formato de placa de 96 pocillos. Cada muestra de prueba (de 2 a 10 microlitros de medio de cultivo celular o 100 microlitros de homogenado celular) se incuba con 0,02 µCi de [1,2,6,7-³H(N)]aldosterona y 0,3 microgramos de anticuerpo antialdosterona en PBS que contiene Triton X-100 al 0,1 por ciento, albúmina de suero bovino al 0,1 por ciento, y glicerol al 12 por ciento, en un volumen total de 200 microlitros, a temperatura ambiente durante 1 hora. Entonces se agregan a cada pocillo perlas de SPA de PVT antirrátón (50 microlitros), y se incuban durante 4 horas a temperatura ambiente antes del recuento en un contador de placas Microbeta. La cantidad de aldosterona en cada muestra se calcula mediante la comparación con una curva estándar generada utilizando cantidades conocidas de la hormona.

Las curvas de respuesta a la concentración completas de un inhibidor se llevan a cabo por lo menos 3 veces. Los valores IC₅₀ se derivan utilizando un programa de ajuste de curva de mínimos cuadrados no lineal de DBS XLfit.

Ejemplo 3: Ensayo de CYP11B1 humano *in vitro*.

Los comprimidos de inhibidor de proteasa libre de EDTA completos se obtuvieron en Roche Applied Science (Indianápolis, IN). El Medio de Eagle Modificado por Dulbecco (DMEM), antibiótico, geneticina, higromicina, y el suero bovino fetal (FBS) fueron productos de Invitrogen (Carlsbad, CA). La Solución A de Regeneración de NADPH y la Solución B se adquirieron en BD Biosciences Clontech (Palo Alto, CA). Las perlas SPA de PVT antirrátón y la [1,2,6,7-³H(N)]hidrocortisona se adquirieron en Amersham (Piscataway, NJ), y PerkinElmer (Boston, MA), respectivamente.

La línea celular V79-4 CYP11B1-adrenodoxina-adrenoxina reductasa #618 se mantuvo en DMEM complementado con FBS al 10 por ciento, antibiótico 0.5x, 800 microgramos/ mililitro de geneticina, y 250 microgramos/mililitro de higromicina (medio de doble selección). Para la preparación de la enzima, las células #618 se sembraron en discos de 150 milímetros a 6,75 x 10⁵ células por disco en un medio de doble selección. Después de 4 días de crecimiento, las células se lavaron una vez con PBS, se rasparon y se recolectaron en suero PBS, y se centrifugaron a 1300 revoluciones por minuto durante 6 minutos. Cada pellet (que representaba 10 discos de células) se volvió a suspender en 3 mililitros de regulador de homogeneización helado (MgCl₂ 8.5 mM, KCl 3.13 mM, NaCl 7.59 mM, Tris 50 mM/HCl, pH de 7,4, y un comprimido de inhibidor de proteasa libre de EDTA completo por 100 mililitros de regulador), se sonicó utilizando un Sonificador Branson 450 con 6 pulsos, y entonces se colocó sobre hielo durante 5 minutos. El procedimiento de sonicación se repitió 3 veces más, con un descanso de 5 minutos sobre hielo entre sonicaciones. El material sonicado se centrifugó entonces a 500 x g durante 4 minutos para remover las células no partidas. El sobrenadante se llevó hasta una

concentración final de glicerol del 5 por ciento, se congeló instantáneamente en nitrógeno líquido, y se almacenó a -80°C .

5 El material a partir de las preparaciones de CYP11B1 congeladas se descongeló sobre hielo el día del experimento, y entonces se diluyó en un regulador de ensayo helado que contenía MgCl_2 8.5 mM, KCl 3.13 mM, NaCl 7.59 mM, y Tris 50 mM/HCl, pH de 7,4, hasta una concentración de proteína de 0,5 a 6 miligramos/mililitro. Los ensayos de CYP11B1 se llevaron a cabo en placas no tratadas con cultivo de tejido, de fondo en U, de 96 pocillos. De acuerdo con el experimento, se incubaron de 50 a 300 microgramos de proteína en 35 microlitros, con 75 microlitros de regulador de ensayo o de un compuesto en la concentración deseada, y 20 microlitros de mezcla de sustrato (Solución A de Regeneración de NADPH 1.08x, Solución B de Regeneración de NADPH 6.5x, NADPH 811 μM , y 11-desoxicortisol 3.25 μM en regulador de ensayo) durante hasta 4 horas a 25°C en una incubadora de agitación. La reacción se interrumpió mediante la adición de 10 microlitros de Triton X-100 al 1,4 por ciento, y agitando brevemente las placas. Las placas entonces se centrifugaron a 2400 revoluciones por minuto durante 6 minutos, y se removieron 50 microlitros del sobrenadante para la medición del contenido de cortisol mediante el ensayo de proximidad de centelleo (SPA). La medición de cortisol se llevó a cabo utilizando un formato de placa de 96 pocillos. Cada muestra de prueba (50 microlitros) se incubó con 0,02 μCi de $[1,2,6,7\text{-}^3\text{H}(\text{N})]$ hidrocortisona y 0,3 microgramos de anticuerpo anticortisol en PBS que contenía Triton X-100 al 0,1 por ciento, albúmina de suero bovino al 0,1 por ciento, y glicerol al 12 por ciento, en un volumen total de 200 microlitros a temperatura ambiente durante 1 hora. Entonces se agregaron a cada pocillo perlas SPA de PVT antirratón (50 microlitros), y se incubaron durante la noche a temperatura ambiente antes del recuento en un contador de placas Microbeta. La cantidad de cortisol en cada muestra se calculó mediante la comparación con una curva estándar generada utilizando cantidades conocidas de la hormona. Las curvas de respuesta a la concentración completas de un inhibidor se llevaron a cabo por lo menos 3 veces. Los valores IC_{50} se derivaron utilizando un programa de ajuste de curva de mínimos cuadrados no lineal de IDBS XLfit. Se ha encontrado que los compuestos dentro del alcance de la presente invención, en particular, los compuestos específicos que se dan a conocer en la presente, son inhibidores de CYP11B1 activos que tienen IC_{50} en el intervalo de 0,2 nM a 200 nM.

Ejemplo 4: Ensayo de CYP11B2 (aldosterona) humano *in vitro*.

30 La línea celular de carcinoma corticosuprarrenal humano NCI-H295R se obtuvo en la American Type Culture Collection (Manassas, VA). El suplemento de insulina/transferrina/selenio (ITS)-A (100x), DMEM/F-12, el antibiótico/antimicótico (100x), y el suero bovino fetal (FBS), se adquirieron en Invitrogen (Carlsbad, CA). Las perlas de ensayo de proximidad de centelleo (SPA) de PVT antirratón y las placas NBS de 96 pocillos, se obtuvieron en GE Health Sciences (Piscataway, NJ), y Corning (Acton, MA), respectivamente. Las placas negras sólidas de fondo plano, de 96 pocillos, se adquirieron en Costar (Corning, NY). La aldosterona y la angiotensina (Ang II) se adquirieron en Sigma (St. Louis, MO). La D- $[1,2,6,7\text{-}^3\text{H}(\text{N})]$ -aldosterona se adquirió en PerkinElmer (Boston, MA). El suero-Nu fue un producto de BD Biosciences (Franklin Lakes, NJ).

40 Para la medición *in vitro* de la actividad de aldosterona, se siembran células de carcinoma corticosuprarrenal humano NCI-H295R en placas NBS de 96 pocillos en una densidad de 25.000 células/pocillo en 100 microlitros de un medio de crecimiento que contiene DMEM/F12 complementado con FCS al 10 por ciento, suero-Nu al 2,5 por ciento, 1 microgramo de ITS/mililitro, y antibiótico/antimicótico 1x. El medio se cambia después del cultivo durante 3 días a 37°C bajo una atmósfera del 5 por ciento de CO_2 /95 por ciento de aire. Al día siguiente, las células se enjuagan con 100 microlitros de solución salina regulada con fosfato (PBS), y se incuban con 100 microlitros del medio de tratamiento que contiene Ang II 1 μM , y un compuesto en diferentes concentraciones en pocillos por cuadruplicado a 37°C durante 24 horas. Al final de la incubación, se retiran 50 microlitros del medio de cada pocillo para la medición de la producción de aldosterona mediante un SPA utilizando anticuerpos monoclonales de ratón antialdosterona.

50 La medición de la actividad de aldosterona también se puede llevar a cabo utilizando un formato de placa de 96 pocillos. Cada muestra de prueba se incuba con 0,02 μCi de D- $[1,2,6,7\text{-}^3\text{H}(\text{N})]$ -aldosterona y 0,3 microgramos de anticuerpo antialdosterona en PBS con Triton X-100 al 0,1 por ciento, albúmina de suero bovino al 0,1 por ciento, y glicerol al 12 por ciento, en un volumen total de 200 microlitros a temperatura ambiente durante 1 hora. Se agregan entonces a cada pocillo perlas SPA de PVT antirratón (50 microlitros), y se incuban durante la noche a temperatura ambiente antes del recuento en un contador de placas Microbeta. La cantidad de aldosterona en cada muestra se calcula mediante la comparación con una curva estándar generada utilizando cantidades conocidas de la hormona.

Ejemplo 5: Determinación de los valores IC_{50} para CYP11B1 y CYP11B2.

60 La excreción de aldosterona, cortisol, corticosterona y estradiol/estronea al medio de cultivo se puede detectar y cuantificar mediante los anticuerpos monoclonales específicos comercialmente disponibles en los radioinmunoensayos de acuerdo con las instrucciones del fabricante. La inhibición de la liberación de ciertos esteroides se puede utilizar como una medida de la inhibición enzimática respectiva por los compuestos de

prueba agregados. La inhibición de la actividad enzimática dependiente de la dosis, por un compuesto, se calcula por medio de una gráfica de inhibición que se caracteriza por una IC₅₀. Los valores IC₅₀ para los compuestos de prueba activos son aseverados mediante un simple análisis de regresión lineal con el objeto de construir gráficas de inhibición sin ponderación de datos. La gráfica de inhibición se calcula mediante el ajuste de una función logística de 4 parámetros a los puntos de datos brutos utilizando el método de mínimos cuadrados. La ecuación de la función logística de 4 parámetros se calcula como sigue: $Y = (d-a) / ((1 + (x/c)^b)) + a$, en donde: a = nivel de datos mínimo, b = gradiente, c = ICED, d = nivel de datos máximo, x = concentración de inhibidor.

5
10 La actividad de inhibición de la producción de aldosterona también se puede expresar en porcentaje de inhibición (% de inhibición) en una concentración dada (por ejemplo, porcentaje de inhibición a 1 μM), que es el nivel de aldosterona cuando la célula se trata con la concentración dada de un compuesto de esta invención (por ejemplo, concentración de 1 μM) contra la excreción de aldosterona cuando la célula está libre del compuesto de la invención:

$$\% \text{ de inhibición de producción de aldosterona} = [(Y-X)/Y] \times 100$$

20 en donde X es el nivel de aldosterona cuando la célula se trata con un compuesto de acuerdo con cualquiera de las fórmulas I a IVB; o con una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, e Y es el nivel de aldosterona cuando la célula está libre del compuesto de acuerdo con cualquiera de las fórmulas I a IVB, o de una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

25 La actividad de inhibición de la producción de CYP11B1 también se puede expresar en porcentaje de inhibición (% de inhibición) en una concentración dada (por ejemplo, porcentaje de inhibición a 1 μM), que es el nivel de cortisol cuando la célula se trata con la concentración dada de un compuesto de la invención (por ejemplo, concentración de 1 μM) contra la excreción de cortisol cuando la célula está libre del compuesto de la invención.

$$\% \text{ de inhibición de producción de cortisol} = [(Y'-X')/Y'] \times 100$$

30 en donde X' es el nivel de cortisol cuando la célula se trata con un compuesto de las fórmulas I a IVB; e Y' es el nivel de cortisol cuando la célula está libre del compuesto de las fórmulas I a IVB. Utilizando los ensayos de prueba para medir CYP11B1 (cortisol) y CYP11B2 (aldosterona), como se describe anteriormente, los compuestos de la invención exhibieron una eficacia inhibitoria como se muestra en la Tabla 1.

35 **Tabla 1**
Datos a partir de los Ejemplos 1, 2, 3 y 4

Compuesto	CYP11B1 humano nM	CYP11B2 humano nM	CYP11B1 de rata nM	CYP11B2 de rata nM
4'-fluoro-6-(6,7,8,9-tetrahydro-5H-imidazo-[1,5-a]-azepin-5-il)-bifenil-3-carbonitrilo, enantiómero A** (Ejemplo 25 como se describe en la Publicación Internacional Número WO2007/024945)	0,3	0,4	0,3	1,0
3-bromo-4-(6,7,8,9-tetrahydro-5H-imidazo-[1,5-a]-azepin-5-il)-benzonitrilo, racemato** (Ejemplo 23 como se describe en la Publicación Internacional Número WO2007/024945)	0,2	1,2	1,0	1,0
5-(2-cloro-4-ciano-fenil)-N-(4-metoxibencil)-N-metil-6,7-dihidro-5H-pirrol-[1,2-c]-imidazol-5-carboxamida, enantiómero B** (Ejemplo 9-9 como se describe en la Publicación Internacional Número WO2007/024945)	0,8	2,7	2,0	5,0

Compuesto	CYP11B1 humano nM	CYP11B2 humano nM	CYP11B1 de rata nM	CYP11B2 de rata nM
4-(6,7-dihidro-5H-pirrol-[1,2-c]-imidazol-5-il)-3-fluoro-benzonitrilo, enantiómero B** (enantiómero (R), como se describe en el Ejemplo 3, en la Publicación Internacional Número WO2007/024945)	1,8	0,7	495	110

** : Referirse a la Publicación Internacional Número WO2007/024945 para conocer los detalles.

Ejemplo 6: Ensayo de CYP11B1 *in vivo*.

- 5 Se evaluaron los efectos *in vivo* de los compuestos sobre la concentración de aldosterona en plasma (PAC, conforme a sus siglas en inglés) y la concentración de glucocorticoide (corticosterona) en plasma (PCC, conforme a sus siglas en inglés) en ratas conscientes.
- 10 Las ratas Sprague–Dawley machos (de aproximadamente 400 a 600 gramos de peso corporal) se instrumentaron quirúrgicamente con un catéter de arteria femoral y venoso. Los catéteres se exteriorizaron desde la parte inferior del lomo a través de un resorte y pivote de acero inoxidable que hacía posible que las ratas se movieran libremente en todo momento. Se permitió que las ratas se recuperaran durante por lo menos una semana desde la cirugía antes de iniciar los experimentos.
- 15 En la mañana del experimento, se recolectó una muestra de sangre antes del tratamiento en heparina, del catéter arterial. Las muestras de sangre se centrifugaron en una centrífuga refrigerada para generar el plasma. El plasma se almacenó congelado a -70°C hasta la medición posterior de la concentración de aldosterona en plasma (PAC) y la concentración de glucocorticoide (corticosterona) en plasma (PCC) (mediante radioinmunoensayo). Entonces se administró la hormona adrenocorticotrópica (ACTH(1–24), referida en la presente como ACTH) como un bolo intravenoso (i.v.) (100 nanogramos/kilogramo), seguida de una infusión intravenosa (i.v.) continua (30 nanogramos/kilogramo/minuto) durante 9 horas. Después de una hora de infusión, se extrajo una muestra de sangre de nivel inicial (tiempo 0) del catéter arterial, y se procesó y se almacenó como se describe anteriormente. Las ratas entonces se dosificaron (típicamente de 0,01 a 100 miligramos/kilogramo) con el compuesto de prueba p.o. mediante intubación oral o parenteralmente por medio del catéter arterial (i.a.). Los compuestos se formularon en un vehículo apropiado (por ejemplo, agua (p.o.) o solución salina (i.a.)) en un volumen fisiológicamente compatible (típicamente de 1 a 2 mililitros/kilogramo). Se extrajeron muestras de sangre adicionales a las 0,083 (i.a. solamente), 0,25, 0,5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, y 24 horas después de la dosificación con el compuesto, y se procesaron y se almacenaron como anteriormente para la determinación posterior de la concentración de aldosterona en plasma (PAC), la concentración de glucocorticoide (corticosterona) en plasma (PCC), y la concentración del compuesto en plasma (mediante LC/MS/MS (cromatografía líquida/espectrometría de masas/espectrometría de masas, conforme a sus siglas en inglés)). Los parámetros de biodisponibilidad oral y farmacocinéticos (PK) tradicionales se estimaron a partir de las concentraciones del compuesto en plasma.
- 35 En las ratas de control, la administración de ACTH produjo un aumento sostenido en la concentración de aldosterona en plasma (PAC) de aproximadamente 10 veces (desde aproximadamente 0,26 nM hasta aproximadamente 2,5 nM), y en la concentración de glucocorticoide (corticosterona) en plasma (PCC), de aproximadamente 4 a 5 veces (desde aproximadamente 300 nM hasta aproximadamente 1340 nM) durante la duración del experimento de 9 horas. En contraste, la administración de un compuesto de prueba redujo la concentración de aldosterona en plasma (PAC) y la concentración de glucocorticoide (corticosterona) en plasma (PCC) de una manera dependiente del tiempo y de la dosis, en 0 a 97 por ciento, de acuerdo con las potencias inhibitoras de CYP11B2 y CYP11B1 inherentes del compuesto y de sus propiedades de ADME (absorción, distribución, metabolismo, excreción). Sobre la base de la concentración del compuesto en plasma en cada dosis, se determinaron los perfiles PK/PD (farmacodinámicos) (reducción de la concentración de aldosterona en plasma (PAC) y de la concentración de glucocorticoide (corticosterona) en plasma (PCC)) de cada compuesto. La siguiente Tabla 2 resume las actividades inhibitoras de CYP11B1 y CYP11B2 de los compuestos representativos.
- 40
- 45

Tabla 2

Compuesto	Dosis (mg/kg)		% Reducción a partir del nivel inicial	
			t = 1 h	8 h
4'-fluoro-6-(6,7,8,9-tetrahydro-5H-imidazo-[1,5-a]-azepin-5-il)-bifenil-3-carbonitrilo, enantiómero A** (Ejemplo 25 como se describe en la Publicación Internacional Número WO2007/024945)	3 (i.a.)	PCC	89	43
		PAC	83	76
3-bromo-4-(6,7,8,9-tetrahydro-5H-imidazo-[1,5-a]-azepin-5-il)-benzonitrilo, racemato** (Ejemplo 23 como se describe en la Publicación Internacional Número WO2007/024945)	10 (p.o.)	PCC	70	87
		PAC	79	89
5-(2-cloro-4-ciano-fenil)-N-(4-metoxibencil)-N-metil-6,7-dihidro-5H-pirrol-[1,2-c]-imidazol-5-carboxamida, enantiómero B** (Ejemplo 9-9 como se describe en la Publicación Internacional Número WO2007/024945)	30 (i.a.)	PCC	76	78
		PAC	23	59
4-(6,7-dihidro-5H-pirrol-[1,2-c]-imidazol-5-il)-3-fluoro-benzonitrilo, enantiómero B** (enantiómero (R), como se describe en el Ejemplo 3, en la Publicación Internacional Número WO2007/024945)	10 (p.o.)	PCC	24	30
		PAC	65	72

** : Referirse a la Publicación Internacional Número WO2007/024945 para conocer los detalles.

5 Ejemplo 7.

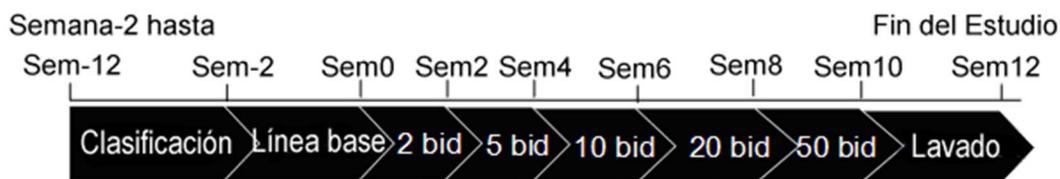
Se llevó a cabo un estudio piloto, doble-ciego, de valoración forzada, para evaluar los efectos hormonales de un compuesto de la fórmula (I), dihidrógeno fosfato de 4-[(5R)-6,7-dihidro-5H-pirrol-[1,2-c]-imidazol-5-il]-3-fluoro-benzonitrilo, en pacientes con hiperaldosteronismo primario diagnosticado. El estudio clínico se diseñó, se implementó y se informó de acuerdo con los lineamientos tripartitos armonizados por ICH para las buenas prácticas clínicas con los reglamentos locales aplicables. Cada paciente participó en un período de cribado/lavado, un período de introducción de placebo de 2 semanas, un período de tratamiento de 4 semanas, y un lavado con placebo de 1 semana. El período de tratamiento consistió en la administración oral del compuesto de la fórmula (I) dos veces al día en una dosis de 0,5 miligramos durante dos semanas, seguido de un aumento de la dosis hasta 1,0 miligramos dos veces al día durante otras 2 semanas. Se tomaron muestras de sangre en el inicio, en los días 1 y 2, día 8, día 15, día 22, y días 29 y 30 (todas, antes de la dosis, es decir, 12 horas después de la última dosis), y en el día final del estudio 36. Cada muestra se evaluó para determinar aldosterona y renina activa inmunorreactiva, 11-desoxi-corticosterona, cortisol, 11-desoxicortisol y adrenocorticotropina (ACTH) después de que los sujetos estuvieran en reposo durante por lo menos 60 minutos, para evitar cualquier cambio de valor inducido por la postura o por la tensión. La aldosterona en plasma se midió utilizando un equipo de radioinmunoensayo comercialmente disponible (DPC, Francia). La renina activa en plasma se midió utilizando los dos anticuerpos monoclonales 3E8 y 125I-4G1 en un equipo inmunorradiométrico comercialmente disponible (CisBio, Francia). La 11-desoxicorticosterona, el cortisol y el 11-desoxicortisol en plasma se midieron utilizando un método de LC-MS/MS estandarizado. La ACTH en plasma se midió utilizando un equipo inmunorradiométrico comercialmente disponible (CisBio, Francia).

Los análisis estadísticos del biomarcador farmacodinámico se resumieron utilizando estadísticas descriptivas, así como métodos gráficos y/o de regresión. La administración de un compuesto de la fórmula (I), dihidrógeno fosfato de 4-[(5R)-6,7-dihidro-5H-pirrol-[1,2-c]-imidazol-5-il]-3-fluoro-benzonitrilo, a pacientes con hiperaldosteronismo primario durante un período de 2 semanas 2 veces, se muestra en la Figura 2, y provocó, como se anticipó, una potente supresión de aldosterona que se reflejó por un aumento en el nivel de renina activa, pero también por una acumulación inesperadamente alta del esteroide precursor 11-desoxicorticosterona. La acumulación de la 11-desoxicorticosterona (P11DOCS) fue estimulada por el aumento en los niveles de ACTH. El aumento en los niveles de adrenocorticotropina resultó a partir de la inhibición de la síntesis de cortisol por medio de la 11-beta-hidroxilasa, como se refleja por la disminución de los niveles de cortisol y por una acumulación del sustrato enzimático 11-desoxicortisol (P11DOC). El aumento de los niveles de 11-desoxicorticosterona en presencia de la síntesis inhibida de hormona de estrés cambia hacia un aumento en la síntesis de los andrógenos suprarrenales androstenodiona y dehidroepiandrosterona (véase la Figura 1, un diagrama para la esteroidogénesis suprarrenal). Por consiguiente, el compuesto de la fórmula (I) exhibió el perfil farmacológico de un agente modificador de hormona suprarrenal pleiotrópico, debido a que inhibe la síntesis tanto de la aldosterona como del cortisol, mientras que aumenta los niveles de ACTH, 11-desoxicorticosterona, y finalmente, la síntesis de los andrógenos suprarrenales, androstenodiona y dehidroepiandrosterona.

Ejemplo 8.

Se lleva a cabo un estudio con rútolos a la vista, de un solo grupo, de escala de dosis en secuencia, de múltiples centros, en pacientes con enfermedad de Cushing, como se describe a continuación en la presente memoria.

El estudio consiste en un período inicial o de línea de base de 10 a 14 días, un período de tratamiento de 10 semanas que consiste en el tratamiento quincenal con escala de dosis, y un período de lavado de 14 días, seguido de una evaluación de la Terminación del Estudio 14 días después de la última administración del fármaco. El fármaco en estudio se aplica escalando las dosis de 2 miligramos, 5 miligramos, 10 miligramos, 20 miligramos y 50 miligramos dos veces por día (bid), cada una, durante un período de dos semanas (véase la línea de tiempo del estudio a continuación). La dosis terapéutica óptima depende de la gravedad y de la respuesta de la afección patológica subyacente.



N = 12 sujetos

Población: La población del estudio está comprendida por pacientes masculinos y femeninos con hipercortisolismo endógeno debido al aumento de la producción de ACTH [Hormona Adrenocorticotrópica] de la hipófisis (enfermedad de Cushing).

Pacientes masculinos o femeninos de 18 a 75 años de edad.

Los pacientes tienen la Enfermedad de Cushing **confirmada**, como es evidenciado por:

– UFC [Cortisol Libre Urinario] >1.5XULN [Límite Superior del Normal] (media de valores de tres muestras de orina de 24 horas recolectadas en 14 días).

– ACTH en plasma a la mañana por encima de 10 picogramos/mililitro.

Se permite a los sujetos eliminar la terapia con el fármaco actual, para cumplir con estos criterios de inscripción, si tienen un diagnóstico conocido de enfermedad de Cushing.

Terapia: Los sujetos empiezan con una dosis de 2 miligramos dos veces al día (b.i.d.) de dihidrógeno fosfato de 4-[(5R)-6,7-dihidro-5H-pirrol-[1,2-c]-imidazol-5-il]-3-fluoro-benzonitrilo, y aumentan la dosis cada 2 semanas. La dosis terapéutica óptima es determinada por el efecto del tratamiento y por la tolerabilidad de la intervención.

Evaluaciones de eficacia / farmacodinámicas: Las evaluaciones de eficacia incluyen cortisol libre urinario, ACTH, cortisol y renina en plasma, aldosterona en plasma y orina, sodio y potasio en plasma y orina, cortisol y

aldosterona salival, e insulina en plasma.

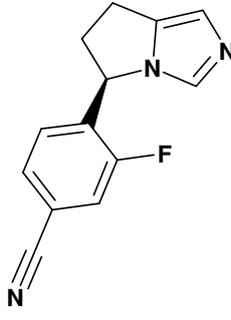
5 **Evaluaciones de seguridad:** Las evaluaciones de seguridad incluyen exámenes físicos, ECG (Electrocardiogramas), signos vitales, evaluaciones de laboratorio clínicas estándares (hematología, química sanguínea, análisis de orina), y monitoreo de eventos adversos y eventos adversos graves.

10 **Análisis de datos:** La variable de eficacia primaria se define como la proporción de respondedores al dihidrógeno fosfato de 4-[(5R)-6,7-dihidro-5H-pirroló-[1,2-c]-imidazol-5-il]-3-fluoro-benzonitrilo. Un paciente se considera un respondedor si la media del nivel de UFC de las muestras de orina de 24 horas de la Semana 10 es $\leq 1 \times \text{ULN}$. Los pacientes que interrumpen por una enfermedad o por razones relacionadas con el tratamiento (por ejemplo, muerte, evento adverso, progreso clínico de la enfermedad, etc.), o cuya media de niveles de UFC de 24 horas en la Semana 10 son más altos que el límite normal se clasifican como no respondedores. Los pacientes que solamente tienen una medición de UFC de 24 horas en la línea base o después de la línea base no se incluirán en los análisis de eficacia primaria.

15

REIVINDICACIONES

1. Compuesto 4-[(5*R*)-6,7-dihidro-5H-pirrolo[1,2-*c*]imidazol-5-il]-3-fluoro-benzonitrilo que tiene la fórmula:



5 o una sal farmacéuticamente aceptable de dicho compuesto, para el uso en el tratamiento del síndrome de Cushing o la enfermedad de Cushing.

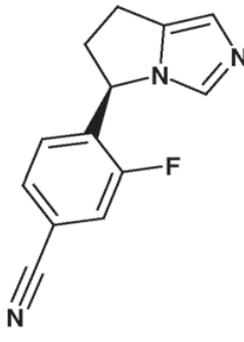
10 2. El compuesto o su sal farmacéuticamente aceptable para el uso de acuerdo con la reivindicación 1, donde la enfermedad o el trastorno es el síndrome de Cushing.

15 3. El compuesto o su sal farmacéuticamente aceptable para el uso de acuerdo con la reivindicación 1, donde la enfermedad o el trastorno es la enfermedad de Cushing.

4. El compuesto o su sal farmacéuticamente aceptable para el uso de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, donde el síndrome de Cushing incluye hipercortisolismo debido a tumores adrenocorticales, hipofisarios o ectópicos.

20 5. El compuesto para el uso de acuerdo con la reivindicación 1 en forma de su sal de dihidrógeno fosfato.

6. Compuesto 4-[(5*R*)-6,7-dihidro-5H-pirrolo[1,2-*c*]imidazol-5-il]-3-fluoro-benzonitrilo que tiene la fórmula:



25 o una sal farmacéuticamente aceptable de dicho compuesto, para el uso en el tratamiento de la hipercortisolemia.

7. El compuesto para el uso de acuerdo con la reivindicación 6 en forma de su sal de dihidrógeno fosfato.

30 8. 4-[(5*R*)-6,7-dihidro-5H-pirrolo[1,2-*c*]imidazol-5-il]-3-fluoro-benzonitrilo dihidrógeno fosfato.

Figura 1.

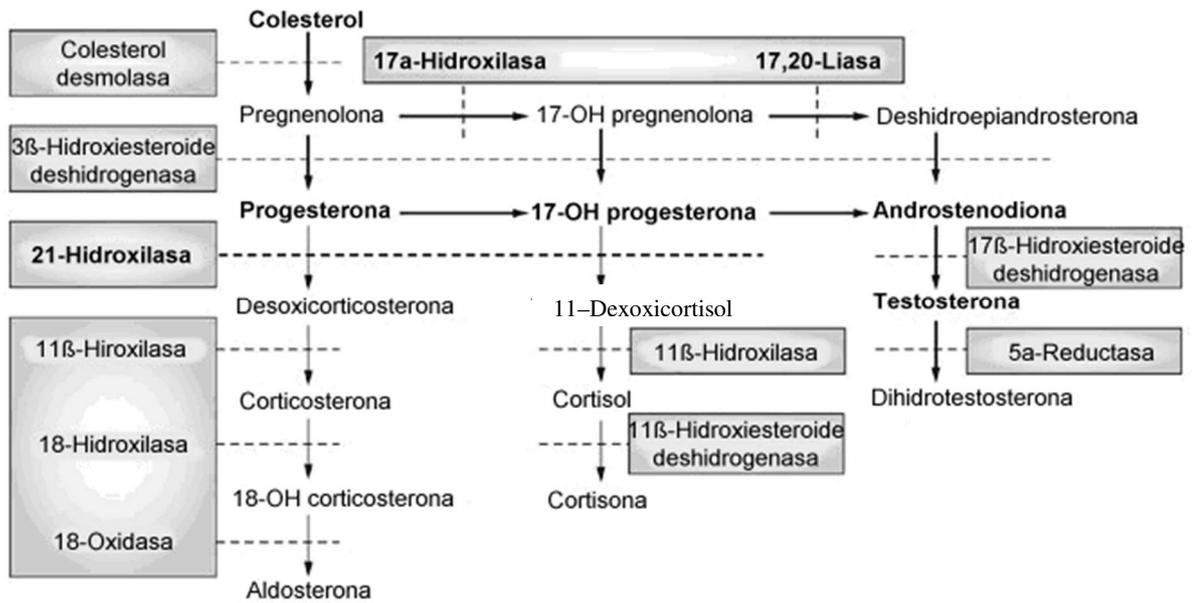


Figura 2.

