

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 762 243**

51 Int. Cl.:

A61K 31/567 (2006.01)

A61K 31/569 (2006.01)

A61P 21/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **26.05.2011 PCT/US2011/038138**

87 Fecha y número de publicación internacional: **01.12.2011 WO11150209**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **26.05.2011 E 11787414 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **18.09.2019 EP 2576582**

54 Título: **Tratamiento de distrofia muscular**

30 Prioridad:

26.05.2010 US 348553 P

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

22.05.2020

73 Titular/es:

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

72 Inventor/es:

BELANOFF, JOSEPH

74 Agente/Representante:

SALVÀ FERRER, Joan

Observaciones:

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

ES 2 762 243 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

Tratamiento de distrofia muscular

5 SOLICITUDES RELACIONADAS

La presente solicitud reivindica prioridad de la Solicitud de Patente de Estados Unidos N° de Serie 61/348.553, presentada el 26 de mayo de 2010.

10 ANTECEDENTES DE LA INVENCIÓN

Las distrofias musculares son un grupo de más de 30 enfermedades genéticas caracterizadas por debilidad progresiva y degeneración de los músculos esqueléticos que controlan el movimiento. Algunas formas de distrofia muscular se observan en la infancia o niñez, mientras que otras pueden no aparecer hasta la mediana edad o más tarde. Los trastornos difieren en términos de la distribución y extensión de la debilidad muscular, edad de inicio, velocidad de progresión y patrón de herencia. Los diversos tipos de distrofia muscular afectan a más de 50.000 estadounidenses.

La distrofia muscular de Duchenne (DMD) es la forma más común de distrofia muscular con una tasa de incidencia de aproximadamente uno de cada 3.500 varones en todo el mundo. En la DMD, se produce muy poco de la proteína distrofina. Esta proteína es esencial para la integridad del músculo. El inicio de la enfermedad es entre 3 y 5 años y el trastorno progresa rápidamente. La mayoría de los niños no son capaces de caminar a los 12 años, y más tarde necesitan un respirador artificial. La distrofia miotónica es la segunda forma más común de distrofia muscular después de Duchenne con una incidencia mundial de aproximadamente uno de cada 20.000, y es la forma más común de distrofia muscular que afecta a los adultos. Existen dos tipos de distrofia miotónica de inicio en adultos. La de tipo 1 (DM1), también conocida como enfermedad de Steinert, representa aproximadamente el 98% de todos los casos de distrofia miotónica. La enfermedad de tipo 2 más rara, DM2, es también conocida como miopatía miotónica proximal (PROMM).

DM1 es una enfermedad autosómica dominante causada por la expansión de repeticiones de trinucleótidos de citosina-timina-guanina (CTG) en el exón 15 del gen de la proteína quinasa de distrofia miotónica (DMPK) que se encuentra en el cromosoma 19q13.3. La proteína codificada por este gen es una serina-treonina quinasa que está estrechamente relacionada con otras quinasas que interactúan con los miembros de la familia Rho de GTPasas pequeñas. Los sustratos para esta enzima incluyen miogenina, la subunidad beta de los canales de calcio de tipo L, y phospholemman. La región 3' no traducida de este gen contiene normalmente 5-34 copias de una repetición de trinucleótidos CTG. El aumento del número de copias de la repetición CTG da lugar a DM1 con la gravedad de la enfermedad aumentando con el aumento del número de copias de la repetición. Aproximadamente 50 o más repeticiones de CTG causan una distrofia miotónica de inicio de adultos de leve a clásica y de 700 a más de 3000 repeticiones a menudo dan lugar a la forma congénita severa de la enfermedad.

DM2 se debe a una repetición CCTG en el intrón 1 del gen de CNBP (también conocido como ZNF9) en el cromosoma 3q21.3. Este gen codifica un dedo de zinc de tipo CCHC, proteína de unión a ácido nucleico, cuya función sigue siendo poco clara. La expansión de la repetición para DM2 es mucho mayor que para DM1, que varía de 75 a más de 11.000 repeticiones. A diferencia de la DM1, el tamaño de la expansión de ADN repetido en DM2 no parece hacer una diferencia en la edad de aparición o la gravedad de la enfermedad.

Debido a la naturaleza debilitante y progresiva de las distrofias musculares, incluyendo la distrofia muscular miotónica, la incapacidad y la pérdida de la calidad de vida resultante de los pacientes, el costo significativo de la atención de apoyo, y la falta de cura definitiva, existe una necesidad urgente para medios nuevos y eficaces para detener la progresión y mejorar el sufrimiento de los individuos afectados. La presente invención satisface esta y otras necesidades relacionadas.

BREVE RESUMEN DE LA INVENCIÓN

En un aspecto, la presente invención proporciona una composición farmacéutica para usar en un procedimiento para tratar un paciente que padece una distrofia muscular. El procedimiento comprende administrar al paciente una cantidad eficaz de un antagonista de receptor de glucocorticoides para mejorar los síntomas de la distrofia muscular, a condición de que el paciente de otro modo no está en necesidad de tratamiento con un antagonista de receptor de glucocorticoides.

En algunas realizaciones, el paciente padece una distrofia muscular y se le administra una composición que consiste esencialmente de un antagonista de receptor de glucocorticoides en una cantidad eficaz para mejorar los síntomas de la afección.

En otras realizaciones, el paciente padece un tipo específico de distrofia muscular, como la distrofia miotónica (por ejemplo, la distrofia miotónica de tipo 1 o la distrofia miotónica de tipo 2), y se le administra una cantidad eficaz de

un antagonista del receptor de glucocorticoides para mejorar los síntomas de la afección. En algunos casos, la composición administrada al paciente comprende un antagonista de receptor de glucocorticoides en una cantidad eficaz para mejorar los síntomas de la afección. En otros casos, la composición administrada al paciente consiste esencialmente en un antagonista de receptor de glucocorticoides en una cantidad eficaz para mejorar los síntomas de la afección.

En algunas realizaciones, el antagonista de receptor de glucocorticoides utilizado en el procedimiento de la presente invención comprende un esqueleto esteroideo con al menos un resto que contiene fenilo en la posición 11-β del esqueleto esteroideo. Por ejemplo, el resto que contiene fenilo en la posición 11-β del esqueleto esteroideo es un resto de dimetilaminofenilo. Algunos antagonistas de receptor de glucocorticoides a modo de ejemplo incluyen mifepristona, 11β-(4-dimetilaminoetoxifenil)-17α-propinil-17β-hidroxi-4,9-estradien-3-ona, 17β-hidroxi-17α-19-(4-metilfenil)androsta-4,9(11)-dien-3-ona, 4α(S)-bencil-2(R)-prop-1-inil-1,2,3,4,4α,9,10,10α(R)-octahidro-fenantreno-2,7-diol y 4α(S)-bencil-2(R)-cloroetil-1,2,3,4,4α,9,10,10α(R)-octahidro-fenantreno-2,7-diol y (11β,17β)-11-(1,3-benzodioxol-5-il)-17-hidroxi-17-(1-propinil)estra-4,9-dien-3-ona. Se pueden administrar de acuerdo con diferentes pautas, tales como una vez por día. En algún caso, pueden ser administrados por vía oral; o pueden ser administrados por aplicación transdérmica, mediante una suspensión nebulizada, o mediante un pulverizador en aerosol.

La presente descripción comprende un kit para mejorar los síntomas de la distrofia muscular en un paciente, que de otro modo no está en necesidad de tratamiento de una afección mediante el uso de un antagonista de receptor de glucocorticoides. El kit comprende: (i) un antagonista de receptor de glucocorticoide; y, (ii) un material instructivo que proporciona las indicaciones, dosificación y pauta de administración del antagonista de receptor de glucocorticoides a un paciente que padece distrofia muscular. En algunas realizaciones, el antagonista de receptor de glucocorticoides es mifepristona, la cual puede estar en forma de comprimidos para administración al paciente. En otras realizaciones, el kit se utiliza para tratar un tipo particular de la distrofia muscular, tal como la distrofia miotónica (por ejemplo, distrofia miotónica tipo 1 o distrofia miotónica tipo 2).

DEFINICIONES

El término "**distrofia muscular**," como se usa en el presente documento, se refiere a cualquier afección o trastorno hereditario que afecta el músculo esquelético y se caracteriza por debilidad muscular progresiva, defectos en las proteínas del músculo, y finalmente la muerte de las células musculares. Este término abarca ampliamente cualquier afección que aplica al menos uno y típicamente más síntomas, incluyendo dolor muscular, debilidad muscular, rigidez muscular, dificultad para caminar, miotonía, fatiga, escoliosis, neuropatía periférica axonal, cardiomiopatía, arritmia cardíaca, retraso mental, hypersomnia, apnea del sueño, cataratas subcapsulares posteriores iridiscentes, insensibilidad a la insulina, diabetes mellitus tipo II, calvicie prematura, insuficiencia testicular, hipotonía infantil y déficits respiratorios. No todos los síntomas deben estar presentes. Por ejemplo, una persona con distrofia muscular puede presentar cataratas o miotonía leve, pero no debilidad muscular o arritmia cardíaca. Del mismo modo, una persona con distrofia muscular puede presentar dolor muscular y debilidad, pero no hypersomnia o apnea del sueño.

Los términos "distrofia miotónica de tipo 1" o "DM1" también se conocen como enfermedad de Steinert, una afección donde el paciente tiene un número anormalmente grande de repeticiones CTG en el gen DMPK del paciente. Típicamente, los síntomas se observan en individuos con 50 o más repeticiones CTG. DM1 incluye a los pacientes con formas (fenotipos) leves, clásicos y congénitas de la enfermedad.

Los términos "distrofia miotónica de tipo 2", "DM2", "miopatía miotónica proximal" o "PROMM" se refieren a una afección donde el paciente tiene un número anormalmente grande de repeticiones CCTG en su gen CNBP (ZNF9). Los síntomas generales se observan en individuos que tienen al menos 75 repeticiones CCTG.

Típicamente, el número y la gravedad de los síntomas de la distrofia muscular dependen del tipo y la gravedad del defecto genético. Por ejemplo, con DM1, a medida que aumenta el número de copias de CTG, la edad en que los síntomas se manifiestan disminuye, con pacientes con mayor número de copias teniendo síntomas más graves a una edad particular, en comparación con los pacientes con un número de copias inferior. Para las formas más leves de la enfermedad, un paciente puede inicialmente ser asintomático y presentar manifestaciones físicas de la enfermedad una vez que se alcanza la adolescencia o la edad adulta.

El término "**mejorar**," como se usa en el presente documento, se refiere a los efectos de la administración de un antagonista de receptor de glucocorticoides a un paciente con distrofia muscular (por ejemplo, un paciente con distrofia miotónica) que dan lugar a cualquier indicio de éxito en la prevención, reducción o reversión de uno o más síntomas relacionados con la enfermedad. La reducción puede estar indicada en menor gravedad, retraso en el inicio de los síntomas o una ralentización de la progresión de la enfermedad. La prevención, reducción o reversión de los síntomas se pueden medir basándose en parámetros objetivos, tales como los resultados de un examen físico o análisis de laboratorio (es decir, análisis de sangre), disminución de la necesidad de medicación (es decir, disminución de la medicación para el dolor), disminución de la necesidad de medidas de apoyo (es decir, el uso de un ventilador), o aumento de la movilidad. La prevención, reducción o reversión de los síntomas pueden también

medirse en base a parámetros subjetivos, tales como una reducción en el dolor o la rigidez o aumento de la movilidad de un paciente y sensación de bienestar.

El término "**cantidad eficaz**", como se usa en el presente documento, se refiere a una cantidad de una sustancia que produce efectos terapéuticos deseados resultantes de la administración de la sustancia. Los efectos incluyen la prevención, corrección, o inhibición de la progresión de los síntomas de una enfermedad/afección y complicaciones relacionadas en cualquier grado detectable. La cantidad exacta dependerá de la finalidad del tratamiento, y será determinable por un experto en la técnica usando técnicas conocidas (véase, por ejemplo, Lieberman, Pharmaceutical Dosage Forms (vols 1-3, 1992); Lloyd, The Art, Science and Technology of Pharmaceutical Compounding (1999); y Pickar, Dosage Calculations (1999)).

El término "**cortisol**" se refiere a una familia de compuestos a los que también se hace referencia como hidrocortisona, incluyendo cualquier análogo sintético o natural del mismo.

El término "**receptor de glucocorticoides (GR)**" se refiere a una familia de receptores intracelulares, también conocidos como el receptor de cortisol, que específicamente se unen a cortisol y/o análogos de cortisol. El término incluye isoformas de receptor de glucocorticoides, receptor de glucocorticoides recombinante y receptor de glucocorticoides mutado.

El término "**mifepristona**" se refiere a una familia de compuestos a los que también se hace referencia como RU486, o RU38.486, o 11-β-(4-dimetil-aminofenil)-17-α-(1-propinil)-estra-4,9-dien-3-ona, o 11-β-(4-dimetilaminofenil)-17-β-hidroxi-17-α-(1-propinil)estra-4,9-dien-3-ona, o análogos de los mismos, que se unen al GR, típicamente con elevada afinidad, e inhiben los efectos biológicos iniciados/mediados por la unión de cualquier cortisol o análogo de cortisol a un receptor de GR. Los nombres químicos para RU-486 varían; por ejemplo, RU486 también se ha denominado: 11β-[p-(dimetilamino)fenil]-17β-hidroxi-17-(1-propinil)estra-4,9-dien-3-ona; 11β-(4-dimetilaminofenil)-17β-hidroxi-17α-(prop-1-inil)estra-4,9-dien-3-ona; 17β-hidroxi-11β-(4-dimetilaminofenil-1)-17α-(propinil-1)estra-4,9-dien-3-ona; 17β-hidroxi-11β-(4-dimetilaminofenil-1)-17α-(propinil-1)-E; (11β, 17β)-11-[4-dimetilamino]-fenil]-17-hidroxi-17-(1-propinil)estra-4,9-dien-3-ona; y 11β-[4-(N, N-dimetilamino)fenil]-17α-(prop-1-inil)-D-4,9-estradien-17β-ol-3-ona.

El término "**antagonista de receptor de glucocorticoides (GRA)**", como se usa en el presente documento, se refiere a cualquier composición o compuesto que, mediante la unión específica a receptor de glucocorticoides (GR), inhibe o antagoniza parcial o completamente la unión de un agonista de receptor de glucocorticoides, tal como cortisol o un análogo de cortisol (sintético o natural), al receptor de glucocorticoides. Por "específica" o "específicamente", se entiende que un GRA se une preferentemente al receptor de glucocorticoides con una afinidad mayor que su afinidad de unión al receptor de mineralocorticoides (MR), típicamente de al menos 100 veces, y frecuentemente al menos 1000 veces superior.

Un paciente "**que de otro modo no está en necesidad de tratamiento de un antagonista de receptor de glucocorticoides**" es un paciente que no padece una afección conocida en la técnica para ser efectivamente tratable con los antagonistas de receptor de glucocorticoides. Las afecciones conocidas en la técnica por ser efectivamente tratables con los antagonistas de receptor de glucocorticoides incluyen la enfermedad de Cushing, abstinencia de drogas, psicosis, demencia, trastornos de estrés, depresión mayor psicótica y ganancia de peso inducida por medicamentos anti-psicóticos.

Una "**composición que consiste esencialmente en un antagonista de receptor de glucocorticoides**" es una composición que contiene sólo un agente terapéuticamente eficaz, el antagonista de receptor de glucocorticoides, pero no otros agentes eficaces para la afección a tratar, tal como distrofia muscular o distrofia miotónica. Dicha composición puede contener opcionalmente uno o más excipientes farmacéutica o fisiológicamente aceptables.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCIÓN

La presente invención se refiere al descubrimiento sorprendente de que agentes capaces de inhibir respuestas biológicas inducidas por glucocorticoides a través de su capacidad de unirse específicamente al receptor de glucocorticoides son eficaces para tratar o aliviar los síntomas de la distrofia muscular. En los pacientes que han sido diagnosticados con la afección, los procedimientos descritos pueden preferiblemente revertir o inhibir el empeoramiento de los síntomas relacionados con tal afección y/o prevenir el desarrollo de nuevos síntomas. En una realización, los procedimientos descritos utilizan agentes que actúan como antagonistas de receptor de glucocorticoides, para revertir o prevenir los síntomas de una distrofia muscular, incluyendo distrofia miotónica de tipo 1 o tipo 2. Los procedimientos son eficaces en el tratamiento de un paciente con distrofia muscular aquejado de niveles normales, aumentados o disminuidos de cortisol u otros glucocorticoides, naturales o sintéticos.

El cortisol actúa uniéndose a un receptor de glucocorticoides intracelulares (GR). En los seres humanos, los receptores de glucocorticoides están presentes en dos formas: un receptor-α de glucocorticoide de unión a ligando de 777 aminoácidos; y, una isoforma de receptor-β de glucocorticoides que difiere en sólo los últimos quince

aminoácidos. Los dos tipos de receptores de glucocorticoides tienen una elevada afinidad por sus ligandos específicos, y se considera que funcionan a través de las mismas vías de transducción de señales.

Los efectos biológicos del cortisol, incluyendo patologías o disfunciones provocadas por hipercortisolemia, se pueden modular y controlar a nivel del receptor de glucocorticoides usando antagonistas de receptor. Varias clases diferentes de agentes son capaces de actuar como antagonistas de receptor de glucocorticoides, es decir, para bloquear los efectos fisiológicos de la unión de agonista a receptor de glucocorticoides (el agonista natural es cortisol). Estos antagonistas incluyen composiciones que, mediante la unión al receptor de glucocorticoides, bloquean la capacidad de un agonista para unirse efectivamente a y/o activar el receptor de glucocorticoides. Una familia de antagonistas de receptor de glucocorticoides conocidos, la mifepristona y compuestos relacionados, son agentes anti-glucocorticoide eficaces y potentes en seres humanos (Bertagna, J. Clin. Endocrinol Metab. 59:25, 1984). La mifepristona se une al receptor de glucocorticoides con alta afinidad, con una K de disociación $<10^{-9}$ M (Cadepond, Annu Rev. Med. 48: 129, 1997). Por lo tanto, en una realización de la invención, la mifepristona y compuestos relacionados se usan para tratar distrofias musculares.

La distrofia muscular puede ser detectada mediante exámenes físicos regulares. Con frecuencia como debilidad muscular en las pruebas motores manuales de los flexores del cuello y los flexores de los dedos, y más tarde como debilidad sintomática que a menudo implica músculos de la cintura de la cadera al subir escaleras y levantarse de las sillas. La miotonía puede ser identificada tocando un músculo con un martillo de reflejos o mediante la observación de descargas espontáneas repetitivas en electromiografía (EMG). Las cataratas subcapsulares características posteriores son visibles en oftalmoscopia directa o como opacidades patognomónicas iridiscentes rojo y verde subcapsulares posteriores en examen con lámpara de hendidura. Los trastornos de la conducción cardíaca relacionada con la distrofia muscular son detectables en un electrocardiograma de rutina (ECG). Aproximadamente el 75% de los adultos con DM1 o DM2 tienen hipogammaglobulinemia que puede ser detectada por electroforesis de proteínas séricas o electroforesis de inmunoproteínas. La insensibilidad a la insulina y la diabetes de tipo II se pueden identificar mediante una prueba de ensayo de tolerancia a la glucosa o prueba de glucosa en sangre. La insuficiencia gonadal primaria en los machos puede ser detectada mediante el ensayo de la concentración de testosterona o FSH en suero. La confirmación de un diagnóstico de la distrofia muscular es mediante pruebas genéticas moleculares usando técnicas estándar (es decir, PCR y transferencia Southern). Una variedad de medios están disponibles para el control de síntomas de la enfermedad y para evaluar el éxito de los procedimientos de tratamiento de la presente invención, es decir, el éxito y el grado en que se reducen, invierten o de otro modo mejoran los síntomas de la distrofia muscular. Estos medios implican típicamente los mismos exámenes físicos y procedimientos estándar de ensayos de laboratorio médicos que se utilizan en la formulación del diagnóstico inicial.

I. DETERMINACIÓN DE UNA DISTROFIA MUSCULAR

Los criterios para determinar una afección de la distrofia muscular se exponen anteriormente. La fuerza muscular de un paciente se puede medir de forma manual (es decir, Manual Muscle Testing o MMT), mientras que la fuerza muscular respiratoria se puede medir electrónicamente mediante instrumentos, tales como transductores de presión, que se utilizan rutinariamente por los profesionales de la salud en la evaluación de la salud y capacidad respiratoria. La presencia de cataratas se puede determinar a través de un examen físico.

Los síntomas particulares de la distrofia muscular (por ejemplo, hipotiroidismo, resistencia a la insulina, diabetes tipo II y bajo nivel de testosterona) se pueden detectar mediante pruebas de laboratorio estándar. El equipo de laboratorio estándar y protocolos de pruebas bien establecidas (por ejemplo, prueba de tolerancia a la glucosa) están disponibles para la evaluación de los parámetros relevantes, que a continuación se comparan con los valores normales establecidos o estándares de diagnóstico, también bien conocidos por los practicantes médicos, antes de realizar una determinación en cuanto si el paciente tiene una afección de distrofia muscular. La confirmación de un diagnóstico sospechoso, especialmente para una distrofia miotónica, es mediante una prueba genética molecular.

II. PROCEDIMIENTOS GENERALES DE LABORATORIO

Cuando se llevan a la práctica los procedimientos descritos, se pueden utilizar una serie de pruebas generales de laboratorio para ayudar en el progreso del paciente bajo tratamiento con antagonistas de receptor de glucocorticoides, incluyendo el seguimiento de parámetros, tales como cortisol en sangre, metabolismo de fármacos, etc. Estos procedimientos pueden ser útiles porque todos los pacientes metabolizan y reaccionan a los fármacos de forma única. Además, tal seguimiento puede ser importante porque cada antagonista de receptor de glucocorticoides tiene diferente farmacocinética. Diferentes pacientes y antagonistas de receptor de glucocorticoides pueden requerir diferentes regímenes de dosificación y formulaciones. Tales procedimientos y medios para determinar los regímenes de dosificación y formulaciones están bien descritos en la literatura científica y de patentes. Algunos ejemplos ilustrativos se exponen a continuación.

A. Determinación de los niveles sanguíneos de cortisol

65

Los distintos niveles de cortisol en sangre se pueden observar en los pacientes que sufren de una distrofia muscular, aunque la presente invención también puede ponerse en práctica en pacientes con niveles aparentemente normales de cortisol en sangre. Por lo tanto, el seguimiento de cortisol en sangre y la determinación de los niveles de cortisol basales son ensayos de laboratorio útiles para ayudar en el tratamiento de distrofias musculares. Una amplia
 5 variedad de pruebas de laboratorio existen que se pueden utilizar para determinar si un individuo es normal, hipocortisolémico o hipercortisolémico. Los pacientes que han desarrollado síntomas de distrofia muscular pueden tener niveles normales de cortisol, que son a menudo de menos de 25 µg/dl por la mañana, y con frecuencia aproximadamente de 15 µg/dl o menos por la tarde. Los valores a menudo caen en el extremo superior del intervalo normal, que se considera generalmente que es de 5-15 µg/dl por la tarde.

10

Los inmunoensayos, tales como radioinmunoensayos, se utilizan comúnmente para controlar el nivel de cortisol porque son precisos, fáciles de realizar y relativamente baratos. Uno de tales ensayos disponibles en forma de kit es el radioinmunoensayo disponible como "kit de cortisol de doble anticuerpo" (Diagnostic Products Corporation, Los Angeles, CA), (Acta Psychiatr Scand 70: 239-247, 1984). Esta prueba es un radioinmunoensayo competitivo en el
 15 que cortisol marcado con ¹²⁵I compete con el cortisol de una muestra clínica por los sitios del anticuerpo. En esta prueba, debido a la especificidad del anticuerpo y la falta de cualquier efecto de proteína significativo, las muestras de suero y no requieren ni preextracción ni predilución.

B. Determinación de niveles de GRA en sangre y orina

20

Debido a que el metabolismo, tasa de depuración, los niveles de toxicidad, etc. de un paciente difiere con variaciones en las condiciones de la enfermedad primaria o secundaria subyacente, la historia de fármacos, edad, estado médico general y similares, puede ser necesario medir los niveles en sangre y orina del antagonista de receptor de glucocorticoides utilizado en el procedimiento de tratamiento. Los medios para dicha monitorización
 25 están bien descritos en la literatura científica y de patentes.

C. Otros procedimientos de laboratorio

Debido a que el mecanismo de una distrofia muscular, incluyendo distrofia miotónica tipo 1 o tipo 2, puede ser complejo, pueden usarse una serie de pruebas de laboratorio adicionales conjuntamente en los procedimientos de la invención para ayudar en el diagnóstico, la eficacia del tratamiento, pronóstico, toxicidad y similares. Por ejemplo, pueden llevarse a cabo varios ensayos para evaluar la fuerza muscular, flexibilidad y rango de movimiento de un paciente. Se pueden utilizar otros procedimientos de examen estándar para detectar la anormalidad cardíaca de un paciente, disminución de la capacidad mental o la infertilidad masculina. Además, el diagnóstico y la evaluación de
 30 tratamiento se pueden aumentar mediante la supervisión y la medición de las variables sensibles a glucocorticoides, incluyendo, pero no limitadas a, glucemia en ayunas, azúcar en sangre después de la administración oral de glucosa, concentraciones plasmáticas de hormona estimulante del tiroides (TSH), globulina de unión a corticosteroides, hormona luteinizante (LH), globulina de unión a testosterona-estradiol, leptina, insulina, y/o testosterona total y libre.

40

Pruebas de laboratorio que monitorizan y miden la generación de metabolito de antagonista del receptor de glucocorticoides, las concentraciones plasmáticas y tasas de depuración, incluyendo la concentración de orina de antagonista y metabolitos, también pueden ser útiles en la práctica de los procedimientos de la invención. Por ejemplo, la mifepristona tiene dos metabolitos hidrófilos, N-monometilado y N-dimetilado. Las concentraciones en plasma y orina de estos metabolitos (además de mifepristona) se pueden determinar usando, por ejemplo, cromatografía en capa fina, tal como se describe en Kawai, Pharmacol. and Experimental Therapeutics 241: 401-406, 1987.

45

III. ANTAGONISTAS DE RECEPTOR DE GLUCOCORTICOIDES

50

La presente invención proporciona una composición farmacéutica para utilizar en procedimientos de tratamiento de una distrofia muscular utilizando cualquier compuesto que puede, a través de su unión específica a un receptor de glucocorticoides, bloquear una respuesta biológica asociada con la unión de cortisol o un análogo de cortisol al receptor de glucocorticoides. Los antagonistas específicos de la actividad del receptor de glucocorticoides utilizado
 55 en los procedimientos de la invención están bien descritos en la literatura científica y de patentes. A continuación, se exponen algunos ejemplos ilustrativos.

A. Antagonista de receptor de glucocorticoides esteroideos

Los antagonistas de receptor de glucocorticoides esteroideos se administran para el tratamiento de una distrofia muscular en diversas realizaciones de la invención. Los antagonistas del receptor de glucocorticoides esteroideos pueden obtenerse mediante modificación de la estructura básica de los agonistas de glucocorticoides, es decir, formas variadas del esqueleto de esteroide. La estructura del cortisol se puede modificar en una variedad de maneras. Las dos clases más comúnmente conocidas de modificaciones estructurales del esqueleto de esteroide de
 60 cortisol para crear antagonistas de receptor de glucocorticoides incluyen modificaciones del grupo 11-beta hidroxilo y modificación de la cadena lateral 17-beta (véase, por ejemplo, Lefebvre, J. Steroid Biochem. 33: 557-563, 1989).

65

Los ejemplos de antagonistas de receptor de glucocorticoides esteroideos incluyen compuestos esteroideos de tipo andrógeno, tal como se describen en la Patente de Estados Unidos N° 5.929.058, y los compuestos descritos en las Patentes de Estados Unidos N° 4.296.206; 4.386.085; 4.447.424; 4.477.445; 4.519.946; 4.540.686; 4.547.493; 5 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. Tales antagonistas de receptor de glucocorticoides esteroideos incluyen dexametasona-oxetanona, 19-nordesoxicorticosterona, 19-norprogesterona, cortisol-21-
10 mesilato; dexametasona-21-mesilato, 11 β -(4-dimetilaminoetoxifenil)-17 α -propinil-17 β -hidroxi-hidroxi-4,9-estradien-3-ona (RU009) y 17 β -hidroxi-17 α -19-(4-metilfenil)androsta-4,9(11)-dien-3-ona (RU044).

Otros ejemplos de antiglucocorticoides esteroideos se describen 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. Además, EP 0 763 541 y Hoyberg
15 et al., Int'l J. Neuro-psychofarmacology, Supl. 1, S148 (2002) describe el compuesto (11 β , 17 β)-11-(1,3-benzodioxol-5-il)-17-hidroxi-17-(1-propinil)estra-4,9-dien-3-ona (ORG 34517), que en algunas realizaciones puede administrarse en una cantidad eficaz en la práctica de la presente invención.

1. Eliminación o sustitución del grupo 11-beta hidroxi

20 Los agonistas de receptor de glucocorticoides con esqueletos esteroideos modificados que comprenden la eliminación o sustitución del grupo 11-beta hidroxi se administran en una realización de la invención. Esta clase incluye compuestos naturales, incluyendo derivados de cortexolona, progesterona y testosterona, y compuestos sintéticos, tales como mifepristona (Lefebvre, et al. Supra). Las realizaciones preferidas de la invención incluyen
25 todos los derivados del esqueleto de esteroide 11-beta-arilo porque estos compuestos están desprovistos de la actividad de unión del receptor de progesterona (PR) (Agarwal, FEBS 217: 221-226, 1987). Otra realización preferida comprende un derivado de esqueleto de esteroide 11-beta fenil-aminodimetilo, es decir, mifepristona, que es tanto un antagonista del receptor de glucocorticoides eficaz y un agente anti-progesterona. Estos compuestos actúan como antagonistas del receptor de esteroides de unión reversible. Por ejemplo, cuando se une a un esteroide
30 11-beta fenil-aminodimetilo, el receptor de esteroides se mantiene en una conformación que no puede unirse a su ligando natural, tal como cortisol en el caso de receptor de glucocorticoides (Cadepond, 1997, supra).

Los esteroideos 11-beta fenil-aminodimetilo sintéticos incluyen mifepristona, también conocida como RU486, o 17-
35 beta-hidroxi-11-beta-(4-dimetil-aminofenil)17-alfa-(1-propinil)estra-4,9-dien-3-ona). La mifepristona se ha demostrado que es un potente antagonista de la progesterona y receptores de glucocorticoides. Otros esteroideos 11-beta fenil-aminodimetilo que han demostrado tener efectos antagonistas de receptor de glucocorticoides incluyen RU009 (RU39.009), 11-beta-(4-dimetil-aminoetoxifenil)-17-alfa-(propinil-17-beta-hidroxi-4,9-estradien-3-ona) (véase Bocquel, J. Steroid Biochem Molec Biol 45: 205-215, 1993). Otro antagonista de receptor de glucocorticoides relacionado con RU486 es RU044 (RU43.044) 17-beta-hidroxi-17-alfa-19-(4-metil-fenil) androsta-4,9 (11)dien-3-ona)
40 (Bocquel, 1993, supra). Véase también Teutsch, Steroids 38: 651-665, 1981; patentes de Estados Unidos n°. 4.386.085 y 4.912.097.

Una realización incluye composiciones que contienen la estructura de esteroide de glucocorticoide básica, que son
45 antagonistas de receptores de glucocorticoides irreversibles. Tales compuestos incluyen derivados de alfa-ceto-metanosulfonato del cortisol, incluyendo el cortisol-21-mesilato (4-pregнено-11 β , 17 α , 21-triol-3,20-diona-21-metanosulfonato) y dexametasona-21-mesilato (16-metil-9 alfa-fluoro-1,4-pregnadieno-11 beta, 17-alfa, 21-triol-3, 20-diona-21-metanosulfonato). Ver Simons, J. Steroid Biochem. 24: 25-32, 1986; Mercier, J. Steroid Biochem. 25: 11-20, 1986; y la patente de Estados Unidos N° 4.296.206.

50 2. Modificación del grupo de cadena lateral 17-beta

Los antagonistas de receptor de glucocorticoides esteroideos obtenidos mediante diversas modificaciones
estructurales de la cadena lateral 17-beta también se utilizan en los procedimientos de la invención. Esta clase incluye antiglucocorticoides sintéticos, tales como dexametasona-oxetanona, diversos derivados de 17, 21-acetonida
55 y derivados 17-beta-carboxamida de dexametasona (Lefebvre, 1989, supra; Rousseau, Nature 279: 158-160, 1979).

3. Otras modificaciones del esqueleto de esteroides

Los antagonistas del receptor de glucocorticoides utilizados en las diversas realizaciones de la invención incluyen
60 cualquier modificación del esqueleto esteroide que efectúa una respuesta biológica resultante de una interacción receptor de glucocorticoides-antagonistas. Los antagonistas del esqueleto esteroideo pueden ser cualquier variación natural o sintética de cortisol, tal como esteroides adrenales que carecen del grupo metilo C-19, tales como 19-nordesoxicorticosterona y 19-norprogesterona (Wynne, Endocrinology 107: 1278-1280, 1980).

65 En general, el sustituyente de cadena lateral 11-beta, y particularmente el tamaño de ese sustituyente, puede desempeñar un papel clave en la determinación del grado de actividad antagonista del receptor de glucocorticoides

de un esteroide. Las sustituciones en el anillo A del esqueleto de esteroide también pueden ser importantes. Las cadenas laterales de 17-hidroxi-propinilo generalmente disminuyen la actividad antagonista de receptor de glucocorticoides en comparación con compuestos que contienen la cadena lateral 17-propinilo.

- 5 Los antagonistas de receptor de glucocorticoides adicionales conocidos en la técnica y adecuados para la práctica de la invención incluyen 21-hidroxi-6,19-oxidoprogesterona (véase, Vicent, Mol Pharm 52: 749-753, 1997); ORG 31710, (6 β , 11 β , 17 β)-11-(4-(dimetil-amino)fenil)-6-metil-4',5'-dihidro[estra-4,9-dieno-17,2' (3H)-furan]-3-ona, (véase, Mizutani, J Steroid Biochem Mol Biol 42 (7): 695-704, 1992); ORG 34517, (11 β , 17 β)-11-(1,3-benzodioxol-5-il)-17-hidroxi-17-(1-propinil)-estra-4,9-dien-3-ona, tal como se describe en Hoyberg et al, Int'l J. of
10 Neuropsychopharmacology., 5: Supp. 1, S148 (2002); ORG 33628, [(11 β , 17 α)-11-(4-acetilfenil)-17,23-epoxi-19,24-dinorcola-4-,9,20-trien-3-ona]; ORG 31806, [(7 β , 11 β , 17 β)-11-(4-(dimetilamino)fenil)-7-Me-4',5'-dihidroespiro (estra-4,9-dieno-17,2'(3H)-furan)-3-ona]; ORG 34116, (11 β , 17 α)-11,21-bis[4-(dimetilamino)fenil]-17-hidroxi-19-norpregna-4,9-dien-20-in-3-ona; ORG 34850, (11 β , 17 α)-11-[4-(dimetilamino)fenil]-17-hidroxi-21-[4-(metilsulfonil)fenil]-19-norpregna-4,9-dien-20-in-3-ona, y compuestos relacionados descritos en la patente de Estados Unidos. No.
15 5.741.787; RU43044, (17 β -hidroxi-11 β -4-[metil]-1-metiletil]aminofenil/-17 α -[prop-1-inil]estra-4-9-dieno-3-ona "RU40555", véase Kim, J Steroid Biochem Mol Biol. 67 (3): 213-22, 1998), RU28362, y ZK98299.

B. Antagonistas de receptor de glucocorticoides no esteroideos

- 20 Los antagonistas de receptor de glucocorticoides no esteroideos también se utilizan en los procedimientos de la invención para tratar a los pacientes con distrofia muscular. Estos incluyen miméticos sintéticos y análogos de proteínas, incluyendo entidades moleculares parcialmente peptídicas, pseudopeptídicas y no peptídicas. Por ejemplo, los peptidomiméticos oligoméricos útiles en la invención incluyen peptidosulfonamidas (alfa-beta-insaturados), derivados de glicina N-sustituídos, oligocarbamatos, peptidomiméticos de oligourea, hidrazinopéptidos,
25 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). La creación y el cribado simultáneo de grandes bibliotecas de moléculas sintéticas puede llevarse a cabo utilizando técnicas bien conocidas en la química combinatoria, por ejemplo, véase van Breemen, Anal Chem 69: 2159-2164, 1997; y Lam, Anticancer Drug Des 12: 145-167, 1997. El diseño de peptidomiméticos específicos para receptor de glucocorticoides se puede diseñar usando programas
30 informáticos junto con enfoques de cribado de química combinatoria (biblioteca combinatoria) (Murray, J. of Computer-Aided Molec Design. 9: 381-395, 1995; Bohm, J. of Computer-Aided Design Molec 10: 265-272, 1996). Dicho "diseño racional de fármacos" puede ayudar a desarrollar isómeros y conformeros de péptidos, incluyendo cicloisómeros, isómeros retro-inverso, isómeros retro y similares (como se describe en Chorev, TibTech 13: 438-445, 1995).
35 Los ejemplos de antagonistas de receptor de glucocorticoides no esteroideos incluyen, pero no se limitan a cis-1-acetil-4-(4-((2-(2,4-diclorofenil)-2-(1H-imidazol-1-ilmetil)-1,3-dioxolan-4-il)metoxi)fenil)piperazina; 1-(o-cloro-alfa, alfa-difenilbencil)imidazol; N-(trifenilmetil)imidazol; N-([2-fluoro-9-fenil]fluorenil)imidazol; N-([2-piridil]difenilmetil)imidazol; N-(2[4,4',4"-triclorotritil]oxietil)morfolina; 1-(2[4,4',4"-triclorotritil]oxietil)-4(2hidroxietil)piperazin dimaleato; N-
40 ([4,4',4"-triclorotritil]imidazol); 9-(3-mercapto-1,2,4-triazolil)-9-fenil-2,7-difluorofluorenona; 1-(2-clorotritil)-3,5-dimetilpirazol; 4-(morfolinometil)-A-(2-piridil) benzhidrol; 5-(5-metoxi-2-(N-metilcarbamoil)fenil)dibenzosuberol; N-(2-clorotritil)-L-prolinol acetato; 1-(2-clorotritil)-2-metilimidazol; 1-(2 clorotritil)-1,2,4-triazol; 1, S-bis (4,4',4"-triclorotritil)-1,2,4-triazol-3-tiol; y N-((2,6-dicloro-3-metilfenil)difenil)metilimidazol (véase la Patente de Estados Unidos Nº 6.051.573); los compuestos antagonistas del receptor de glucocorticoides descritos en las Patentes de Estados
45 Unidos Nº 5.696.127 y 6.570.020.; los compuestos antagonistas de receptor de glucocorticoides descritos en la publicación de patente de Estados Unidos. No. 20020077356, los antagonistas de receptor de glucocorticoides descritos en Bradley et al., J. Med. Chem. 45, 2417-2424 (2002), por ejemplo, 4 α (S)-bencil-2(R)-cloroetil-1,2,3,4,4 α ,9,10,10 α (R)-octahidro-fenantreno-2,7-diol "CP 394531" y 4 α (S)-bencil-2(R)prop-1-inil-1-,2,3,4,4 α ,9,10,10 α (R)-octahidrofenantreno-2,7-diol "CP 409069" y compuestos relacionados descritos en el documento WO
50 00/66522; los compuestos descritos en el documento WO 96/19458, que describe compuestos no esteroideos que son antagonistas de alta afinidad, altamente selectivos para receptores esteroideos, tales como 6-sustituído-1,2-dihidro-N-protegidas quinolinas; benzopiranol[3,4-f]quinolinas descritas como moduladores del receptor de glucocorticoides descritos en WO 99/41256 y WO 01/16128; derivados de aminobenceno descritos como moduladores del receptor de glucocorticoides descritos en WO 02/064550; y algunos ligandos opioides κ , tales como
55 los compuestos opioides κ dinorfina-1,13-diamida, U50.488 (trans-(1R, 2R)-3,4-dicloro-N-metil-N-[2-(1-pirrolidinil)ciclohexil]bencenoacetamida, bremazocina y etilcetociclazocina; y el ligando de receptor opioide no específico, naloxona, tal como se describe en Evans et al., Endocrinol. 141: 2294-2300 (2000); (piridin 4-ilmetil)amida del ácido 4 β (S)-bencil-7(S)-hidroxi-7-(1-propinil)-4 β , 5,6,7,8,8 α (R),9,10-octahidrofenantreno-2-carboxílico "CP-472555", ácido 4 β (S)-bencil-7(S)-hidroxi-7-(3,3,3-trifluoropropilo)-4 β ,5,6,7,8,8 α (R),9,10-octahidrofenantren-2-carboxílico, (2-
60 metilpiridin-3-ilmetil)amida y los compuestos relacionados descritos en los documentos WO 0066522 y US20040176595; carbamatos de octahidrofenantrenilo descritos en EP 1201649; oxadiazolilalcoxi octahidrofenantrenos descritos en EP 1201660; octahidrofenantren hidracinas, tal como se describen en el documento WO 2005/047254; moduladores del receptor de glucocorticoides tal como se describen en el documento WO 04/005299; compuestos tricíclicos descritos en WO 05/011336 y WO 05/011337; derivados de
65 cetona de Wieland-Miescher descritos en el documento WO 03/011755; derivados de ciclopent[*f*]indazol y benz[*f*]indazol descritos en el documento WO 04/075840; compuestos espirocíclicos descritos en el documento WO

04/093805; derivados de octahidro-2-H-nafto [1,2,-f]indol-4-carboxamida descritos en el documento WO 2004/026248; derivados del ácido cólico descritos en el documento WO 04/000869; derivados de dibenzopirano descritos en el documento WO 01/16128; derivados de 6H-dibenzo[b,d]pirano descritos en US20020049322 y US20030220332; derivados de aminobenceno sustituidos descritos en el documento WO 02/064550; derivados de trifenilmetano descritos en la patente de Estados Unidos. No. 6.166.013; el compuesto ácido (3,5-dibromo-4-[5-isopropil-4-metoxi-2-(3-metilbenzoil-fenoxi)]fenil)acético "KB285" descrito en el documento WO 99/63976 y los compuestos relacionados descritos en los documentos WO 01/047859, WO 02/43648, y WO 02/44120; derivados de azadecalina descritos en el documento WO 05/070893 y la solicitud de patente de Estados Unidos No. 10/596.998 (publicada como US 2007/0203179); compuestos de azadecalina con anillos fusionados descritos en el documento WO 05/087.769 y la solicitud de patente de Estados Unidos No. 10/591.884 (publicada como US 2007/0281928); compuestos de pirimidina modificados descritos en el documento WO 06/014394 y la solicitud de patente de Estados Unidos No. 11/174.096 (publicada como US 2006/0025405)...

C. Identificación de antagonistas de receptor de glucocorticoides

Debido a que cualquier antagonista de receptor de glucocorticoides específico se puede usar para el tratamiento de distrofias musculares de acuerdo con los procedimientos de la invención, además de los compuestos y composiciones descritos anteriormente, antagonistas de receptor de glucocorticoides adicionales útiles se pueden determinar por el experto en la materia. Se puede utilizar una variedad de dichos procedimientos de rutina bien conocidos y se describen en la literatura científica y de patentes. Incluyen ensayos *in vitro* e *in vivo* para la identificación de antagonistas de receptor de glucocorticoides adicionales. Algunos ejemplos ilustrativos se describen a continuación.

Un ensayo que se puede utilizar para identificar un antagonista de receptor de glucocorticoides de la invención mide el efecto de un supuesto antagonista de receptor de glucocorticoides sobre la actividad de la tirosina aminotransferasa de acuerdo con el procedimiento de Granner, Meth. Enzymol. 15: 633, 1970. Este análisis se basa en la medición de la actividad de la enzima hepática tirosina aminotransferasa (TAT) en cultivos de células de hepatoma de rata (RHC). TAT cataliza la primera etapa en el metabolismo de la tirosina y es inducida por glucocorticoides (cortisol) en células del hígado y de hepatoma. Esta actividad se mide fácilmente en extractos celulares. TAT convierte el grupo amino de la tirosina en ácido 2-oxoglutarico. También se forma P-hidroxifenilpiruvato. Se puede convertir en p-hidroxibenzaldehído más estable en una solución alcalina y se cuantifica mediante absorbancia a 331 nm. El supuesto antagonista de receptor de glucocorticoides se coadministra con cortisol al hígado entero, *in vivo* o *ex vivo*, o células de hepatoma o extractos celulares. Un compuesto se identifica como un antagonista de receptor de glucocorticoides cuando su administración disminuye la cantidad de actividad de TAT inducida, en comparación con el control (es decir, solamente cortisol o un agonista de receptor de glucocorticoides añadido) (véase también Shirwany, Biochem Biophys Acta 886: 162- 168, 1986).

También son ilustrativos de los muchos ensayos que se pueden usar para identificar composiciones utilizadas en los procedimientos de la invención, además del ensayo de TAT, están los ensayos basados en actividades de glucocorticoides *in vivo*. Por ejemplo, se pueden utilizar ensayos que evalúan la capacidad de un posible antagonista de receptor de glucocorticoides para inhibir la captación de ³H-timidina en el ADN en las células estimuladas por glucocorticoides. Para identificar adicionalmente supuestos antagonistas de receptor de glucocorticoides, también se pueden utilizar ensayos cinéticos capaces de discriminar entre agonistas y antagonistas de receptor de glucocorticoides por medio de cinética de unión al receptor (como se describe en Jones, Biochem J. 204: 721-729, 1982).

Para compuestos adicionales que pueden ser utilizados en los procedimientos de la invención y procedimientos para identificar y fabricar dichos compuestos, véanse las patentes de Estados Unidos Nos.: 4.296.206 (véase más arriba); 4.386.085 (véase más arriba); 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; y 5.616.458; y WO 96/19458, que describe compuestos no esteroideos que son moduladores altamente selectivos de alta afinidad (antagonistas) para los receptores de esteroides, tales como quinolinas 6-sustituido-1,2-dihidro N-1 protegidas.

La especificidad del antagonista para el receptor de glucocorticoide en relación con el receptor de mineralocorticoides se puede medir usando una diversidad de ensayos conocidos por los expertos en la técnica. Por ejemplo, los antagonistas específicos pueden identificarse midiendo la capacidad del antagonista para unirse al receptor de glucocorticoides en comparación con el receptor de mineralocorticoides (véanse, por ejemplo, las Patentes de Estados Unidos N° 5.606.021; 5.696.127; 5.215.916; 5.071.773). Dicho análisis se puede realizar usando un ensayo de unión directa o evaluando la unión competitiva al receptor de glucocorticoide o receptor de mineralocorticoides purificados en presencia de un antagonista conocido. En un ensayo de ejemplo, las células que expresan de manera estable el receptor de glucocorticoides o el receptor de mineralocorticoides (véase, por ejemplo, la patente de Estados Unidos 5.606.021) a niveles altos se utilizan como una fuente de receptor purificado. La afinidad del antagonista por el receptor se mide después directamente. Los antagonistas que exhiben al menos una afinidad 100 veces mayor, a menudo 1000 veces, para el receptor de glucocorticoide en relación con

el receptor de mineralocorticoides se seleccionan a continuación para su uso en los procedimientos de la presente invención.

Un antagonista específico del receptor de glucocorticoides también se puede definir como un compuesto que tiene la capacidad de inhibir actividades mediadas por el receptor de glucocorticoides, pero no actividades mediadas por el receptor de mineralocorticoides. Un procedimiento de identificación de dicho antagonista específico de receptor de glucocorticoides es evaluar la capacidad de un antagonista para evitar la activación de construcciones informadoras usando ensayos de transfección (véase, por ejemplo, Bocquel et al, J. Steroid Biochem Molec Biol 45 205-215, 1993; Patente de Estados Unidos nº 5.606.021 y 5.929.058). En un ejemplo de la transfección de ensayo, un plásmido de expresión que codifica el receptor y un plásmido informador que contiene un gen informador unido a elementos reguladores específicos de receptor se cotransfectan en células huésped negativas del receptor adecuadas. Las células huésped transfectadas se cultivan después en presencia y ausencia de una hormona, tal como cortisol o análogo del mismo, capaz de activar el elemento promotor/potenciador sensible a la hormona del plásmido informador. A continuación, se monitorizan las células huésped transfectadas y cultivadas para la inducción (es decir, la presencia) del producto de la secuencia del gen informador. Por último, la expresión y/o la capacidad de unión a esteroide de la proteína receptora de hormonas (codificada por la secuencia de ADN del receptor en el plásmido de expresión y producida en la células huésped transfectadas y cultivadas), se miden mediante la determinación de la actividad del gen informador en presencia y ausencia de un antagonista. La actividad antagonista de un compuesto se puede determinar en comparación con antagonistas conocidos del receptor de glucocorticoides y el receptor de mineralocorticoides (véase, por ejemplo, la patente de Estados Unidos 5.696.127). La eficacia se indica después como la respuesta máxima observada para cada compuesto en porcentaje con relación a un compuesto antagonista de referencia. Un antagonista específico del receptor de glucocorticoides se considera que exhibe al menos una actividad de 100 veces, a menudo 1000 veces o más, hacia el receptor de glucocorticoides en relación con el receptor de mineralocorticoides.

VI. USO DE ANTAGONISTAS DE RECEPTOR DE GLUCOCORTICOIDES PARA TRATAR DISTROFIAS MUSCULARES

Los antagonistas de receptor de glucocorticoides, tales como mifepristona, se formulan como compuestos farmacéuticos a usar en los procedimientos descritos para tratar una distrofia muscular. Cualquier composición o compuesto que puede bloquear una respuesta biológica asociada con la unión de cortisol o un análogo de cortisol a un receptor de glucocorticoides se puede usar como un producto farmacéutico en la presente invención. Los medios de rutina para determinar las pautas de fármacos antagonistas de receptores de glucocorticoides y formulaciones para practicar los procedimientos dados a conocer se describen bien en la bibliografía de patentes y científica, y algunos ejemplos ilustrativos se exponen a continuación.

A. Composiciones farmacéuticas que contienen antagonistas de receptor de glucocorticoides

Los antagonistas de receptor de glucocorticoides utilizados en los procedimientos de la invención pueden administrarse mediante cualquier medio conocido en la técnica, por ejemplo, administración parenteral, tópica, oral, o local, tal como mediante aerosol o transdérmica. Los procedimientos de la invención proporcionan tratamientos profilácticos y/o terapéuticos. Los antagonistas de receptor de glucocorticoides como formulaciones farmacéuticas se pueden administrar en una variedad de formas de dosificación unitaria dependiendo del tipo particular de síntomas y su gravedad, la afección médica general de cada paciente, el procedimiento preferido de administración y similares. Los detalles sobre técnicas para la formulación y administración están bien descritos en la literatura científica y de patentes, véase, por ejemplo, la última edición de Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co, Easton PA. Las cantidades terapéuticamente eficaces de antagonista de receptor de glucocorticoides adecuadas para la práctica del procedimiento de la invención pueden variar de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 25 miligramos por kilogramo (mg/kg). Una persona de experiencia ordinaria en la técnica será capaz, sin gran experimentación, teniendo en cuenta esa capacidad y esta descripción, de determinar una cantidad terapéuticamente eficaz de un antagonista de receptor de glucocorticoides particular para la práctica de la presente invención.

En general, los antagonistas de receptor de glucocorticoides se pueden administrar como composiciones farmacéuticas mediante cualquier procedimiento conocido en la técnica para administrar fármacos terapéuticos. Las composiciones pueden tomar la forma de comprimidos, píldoras, cápsulas, semisólidos, polvos, formulaciones de liberación sostenida, soluciones, suspensiones, elixires, aerosoles o cualquier otra composición apropiada; y comprenden al menos un compuesto de la presente invención (un antagonista de receptor de glucocorticoides) en combinación con al menos un excipiente farmacéuticamente aceptable. Los excipientes adecuados son bien conocidos para las personas de experiencia ordinaria en la técnica, y éstos, y los procedimientos de formulación de las composiciones, se pueden encontrar en referencias estándar, tales como Alfonso AR: Remington's Pharmaceutical Sciences, 17ª ed, Mack Publishing Company, Easton PA, 1985. Los portadores líquidos adecuados, especialmente para soluciones inyectables, incluyen agua, solución salina acuosa, solución de dextrosa acuosa y glicoles.

65

Las suspensiones acuosas de la invención contienen un antagonista de receptor de glucocorticoides en mezcla con excipientes adecuados para la fabricación de suspensiones acuosas. Dichos excipientes incluyen un agente de suspensión, tal como carboximetilcelulosa de sodio, metilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, alginato de sodio, polivinilpirrolidona, goma tragacanto y goma de acacia, y agentes dispersantes o humectantes, tales como un fosfátido de origen natural (por ejemplo, lecitina), un producto de condensación de un óxido de alquileo 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, oxícetanol de heptadecaetileno), un producto de condensación de óxido de etileno con un éster parcial derivado de un ácido graso y un hexitol (por ejemplo, monooleato de sorbitol polioxietileno) 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 sorbitán polioxietileno). La suspensión acuosa también puede contener uno o más conservantes, tales como p-hidroxibenzoato de etilo o n-propilo o uno o más agentes colorantes, uno o más agentes aromatizantes y uno o más agentes edulcorantes, tales como sacarosa, fructosa, glucosa, sucralosa, aspartamo, sacarina, u otros agentes edulcorantes similares. Las formulaciones se pueden ajustar para la osmolaridad.

Las suspensiones de aceite se pueden formular mediante la suspensión de un antagonista del receptor de glucocorticoides 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 los mismos. Las suspensiones de aceite pueden contener un agente espesante, tal como cera de abejas, parafina dura o alcohol cetílico. Los agentes edulcorantes se pueden añadir para proporcionar una preparación oral de sabor agradable, tal como glicerol, sorbitol o sacarosa. Estas formulaciones se pueden conservar mediante la adición de un antioxidante, tal como ácido ascórbico. Como ejemplo de un vehículo oleoso inyectable, véase Minto, J. Pharmacol. Exp. Ther. 281: 93-102, 1997. Las formulaciones farmacéuticas de la invención también pueden estar en forma de emulsiones de aceite-en-agua. La fase oleosa puede ser un aceite vegetal o un aceite mineral, descrito anteriormente, o una mezcla de éstos. Los agentes emulsionantes adecuados incluyen gomas de origen natural, tales como goma arábica y goma de tragacanto, fosfátidos de origen natural, tales como lecitina de soja, ésteres o ésteres parciales derivados de ácidos grasos y anhídridos de hexitol, tales como, y productos de condensación de estos ésteres parciales con óxido de etileno, tales como monooleato de sorbitán polioxietileno. La emulsión también puede contener agentes edulcorantes y agentes aromatizantes, como en la formulación de jarabes y elixires. Tales formulaciones también pueden contener un demulcente, un conservante o un agente colorante.

Las formulaciones farmacéuticas de antagonista de receptor de glucocorticoides se pueden preparar de acuerdo con cualquier procedimiento conocido en la técnica para la fabricación de productos farmacéuticos. Tales formulaciones pueden contener agentes edulcorantes, agentes aromatizantes, agentes colorantes y agentes conservantes. Cualquier formulación de antagonista de receptor de glucocorticoides se puede mezclar con excipientes farmacéuticamente aceptables no tóxicos que son adecuados para la fabricación.

Típicamente, los antagonistas del receptor de glucocorticoides adecuados para uso en la práctica de la presente invención se administrarán por vía oral. La cantidad de un compuesto de la presente invención en la composición puede variar ampliamente dependiendo del tipo de composición, tamaño de una dosis unitaria, tipo de excipientes y otros factores bien conocidos por los de experiencia ordinaria en la técnica. En general, la composición final puede comprender del 0,000001 por ciento en peso (% p) al 10% p del antagonista del receptor de glucocorticoides, preferiblemente del 0,00001% p a 1% p, siendo el resto el excipiente o excipientes. Por ejemplo, el antagonista de receptor de glucocorticoides mifepristona se administra oralmente en forma de comprimido, con dosificaciones en el intervalo de entre aproximadamente 0,5 y 25 mg/kg, más preferiblemente entre aproximadamente 0,75 mg/kg y 15 mg/kg, más preferiblemente de aproximadamente 10 mg/kg.

Las formulaciones farmacéuticas para administración oral se pueden formular usando portadores farmacéuticamente aceptables bien conocidos en la técnica en dosificaciones adecuadas para la administración oral. Tales portadores permiten que las formulaciones farmacéuticas se formulen en formas de dosificación unitarias como comprimidos, píldoras, polvos, grageas, cápsulas, líquidos, pastillas, geles, jarabes, pastas, suspensiones, etc., adecuadas para la ingestión por el paciente. Las preparaciones farmacéuticas para uso oral pueden obtenerse a través de la combinación de antagonistas de receptor de glucocorticoides con un excipiente sólido, opcionalmente moliendo una mezcla resultante y procesando la mezcla de gránulos, después de añadir compuestos adicionales adecuados, si se desea, para obtener comprimidos o núcleos de grageas. Los excipientes sólidos adecuados son carbohidratos o rellenos de proteínas e incluyen, pero no se limitan a, azúcares, incluyendo lactosa, sacarosa, manitol, o sorbitol; almidón de maíz, trigo, arroz, patata, u otras plantas; celulosa, tal como metil celulosa, hidroxipropilmetilcelulosa o carboximetilcelulosa de sodio; y gomas incluyendo arábica y tragacanto; así como proteínas, tales como gelatina y colágeno. Si se desea, se pueden añadir agentes disgregantes o solubilizantes, tales como la polvinil pirrolidona reticulada, agar, ácido alginico, o una sal del mismo, tal como alginato de sodio.

Los antagonistas de receptor de glucocorticoides de la presente invención también se pueden administrar en forma de supositorios para administración rectal. Estas formulaciones se pueden preparar mezclando el fármaco con un excipiente adecuado no irritante que es sólido a temperaturas ordinarias pero líquido a la temperatura rectal y por lo tanto se fundirá en el recto para liberar el fármaco. Tales materiales son manteca de cacao y polietilenglicoles.

Los antagonistas de receptor de glucocorticoides de la presente invención también se pueden administrar mediante ruta intranasal, intraocular, intravaginales e intrarrectal, incluyendo supositorios, insuflación, polvos y formulaciones de aerosoles (por ejemplo inhaladores de esteroides, véase Rohatagi, J. Clin. Pharmacol. 35: 1187-1193, 1995; Tjwa, Ann Allergy Asthma Immunol 75: 107-111, 1995).

5

Los antagonistas de receptor de glucocorticoides de la presente invención pueden también ser suministrados por vía transdérmica, tal como por una vía tópica, formulados como barras aplicadoras, soluciones, suspensiones, emulsiones, geles, cremas, ungüentos, pastas, jaleas, pinturas, polvos y aerosoles.

- 10 Los antagonistas de receptor de glucocorticoides de la presente invención también se pueden suministrar como microesferas para liberación lenta en el cuerpo. Por ejemplo, las microesferas se pueden administrar mediante inyección intradérmica de microesferas que contienen un antagonista del receptor de glucocorticoides (por ejemplo, mifepristona), que se liberan lentamente por vía 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 administración oral (véase, por ejemplo, Eyles, J. Pharm Pharmacol. 49: 669-674, 1997). Las rutas transdérmica e intradérmicas permiten la administración constante durante semanas o meses.

Las formulaciones farmacéuticas de antagonista de receptor de glucocorticoides de la presente invención pueden proporcionarse como una sal y puede formarse con muchos ácidos, incluyendo, pero no limitados a, ácido clorhídrico, sulfúrico, acético, láctico, tartárico, málico, succínico, etc. Las sales tienden a ser más solubles en disolventes acuosos u otros protónicos que las formas de base libre correspondientes. En otros casos, la preparación preferida puede ser un polvo liofilizado en histidina 1 mM-50 mM, 0,1%-2% de sacarosa, 2%-7% de manitol a un intervalo de pH de 4,5 a 5,5, que se combina con tampón antes de su uso

- 20 En otra realización, las formulaciones de antagonista de receptor de glucocorticoides de la presente invención pueden proporcionarse como una sal y puede formarse con muchos ácidos, incluyendo, pero no limitados a, ácido clorhídrico, sulfúrico, acético, láctico, tartárico, málico, succínico, etc. Las sales tienden a ser más solubles en disolventes acuosos u otros protónicos que las formas de base libre correspondientes. En otros casos, la preparación preferida puede ser un polvo liofilizado en histidina 1 mM-50 mM, 0,1%-2% de sacarosa, 2%-7% de manitol a un intervalo de pH de 4,5 a 5,5, que se combina con tampón antes de su uso
- 25 En otra realización, las formulaciones de antagonista de receptor de glucocorticoides de la invención son útiles para la administración parenteral, tal como administración intravenosa (IV). Las formulaciones para la administración comprenderán comúnmente una solución de un antagonista del receptor de glucocorticoides (por ejemplo, mifepristona) disuelto en un portador farmacéuticamente aceptable. Entre los vehículos y disolventes aceptables que pueden emplearse están agua y solución de Ringer, un cloruro de sodio isotónico. Además, pueden emplearse convencionalmente aceites fijos estériles como medio disolvente o de suspensión. Para este propósito, puede emplearse cualquier aceite fijo suave incluyendo monoglicéridos o diglicéridos sintéticos. Además, ácidos grasos, tales como ácido oleico, se pueden utilizar igualmente en la preparación de inyectables. Estas soluciones son estériles y generalmente libres de materia indeseable. Estas formulaciones se pueden esterilizar mediante técnicas de esterilización convencionales bien conocidas. Las formulaciones pueden contener sustancias auxiliares farmacéuticamente aceptables, según se requiera, para aproximarse a las condiciones fisiológicas, tales como agentes de ajuste del pH y tampón, agentes de ajuste de toxicidad, por ejemplo, acetato sódico, cloruro sódico, cloruro potásico, cloruro cálcico, lactato sódico y similares. La concentración de antagonista de receptor de glucocorticoides en estas formulaciones puede variar ampliamente, y se seleccionará principalmente basándose en volúmenes de fluido, viscosidades, peso corporal, y similares, de acuerdo con el modo particular de administración
- 30 convencionalmente aceites fijos estériles como medio disolvente o de suspensión. Para este propósito, puede emplearse cualquier aceite fijo suave incluyendo monoglicéridos o diglicéridos sintéticos. Además, ácidos grasos, tales como ácido oleico, se pueden utilizar igualmente en la preparación de inyectables. Estas soluciones son estériles y generalmente libres de materia indeseable. Estas formulaciones se pueden esterilizar mediante técnicas de esterilización convencionales bien conocidas. Las formulaciones pueden contener sustancias auxiliares farmacéuticamente aceptables, según se requiera, para aproximarse a las condiciones fisiológicas, tales como agentes de ajuste del pH y tampón, agentes de ajuste de toxicidad, por ejemplo, acetato sódico, cloruro sódico, cloruro potásico, cloruro cálcico, lactato sódico y similares. La concentración de antagonista de receptor de glucocorticoides en estas formulaciones puede variar ampliamente, y se seleccionará principalmente basándose en volúmenes de fluido, viscosidades, peso corporal, y similares, de acuerdo con el modo particular de administración
- 35 farmacéuticamente aceptables, según se requiera, para aproximarse a las condiciones fisiológicas, tales como agentes de ajuste del pH y tampón, agentes de ajuste de toxicidad, por ejemplo, acetato sódico, cloruro sódico, cloruro potásico, cloruro cálcico, lactato sódico y similares. La concentración de antagonista de receptor de glucocorticoides en estas formulaciones puede variar ampliamente, y se seleccionará principalmente basándose en volúmenes de fluido, viscosidades, peso corporal, y similares, de acuerdo con el modo particular de administración
- 40 seleccionado y las necesidades del paciente. Para la administración IV, la formulación puede ser una preparación inyectable estéril, tal como una suspensión acuosa u oleaginosa inyectable estéril. Esta suspensión se puede formular según la técnica conocida usando agentes dispersantes o humectantes y agentes de suspensión. La preparación inyectable estéril también puede ser una solución o suspensión inyectable estéril en un diluyente o disolvente parenteralmente aceptable no tóxico, tal como una solución de 1,3-butanodiol.

45

En otra realización, las formulaciones de antagonista de receptor de glucocorticoides de la invención se pueden suministrar mediante el uso de liposomas que se fusionan con la membrana celular o son endocitados, es decir, mediante el empleo de ligandos unidos al liposoma, o unidos directamente al oligonucleótido, que se unen a los receptores de proteínas de membrana de superficie de la célula queda lugar a la endocitosis. Mediante el uso de liposomas, particularmente cuando la superficie del liposoma contiene ligandos específicos para células diana, o de otro modo son preferentemente dirigidos a un órgano específico, se puede enfocar el suministro del antagonista del receptor de glucocorticoides 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).

55 B. Determinación de regímenes de dosificación para antagonistas de receptor de glucocorticoides

Los procedimientos descritos son útiles para el tratamiento de pacientes que sufren de una distrofia muscular. La cantidad de antagonista de receptor de glucocorticoides adecuada para lograr esto se define como una "dosis terapéuticamente eficaz". El programa de dosificación y las cantidades eficaces para este uso, es decir, el "régimen de dosificación" dependerá de una variedad de factores, incluyendo el tipo de síntomas de la distrofia muscular que tiene un paciente, la gravedad y la duración de tales síntomas, el estado físico del paciente, la edad, y similares. En el cálculo del régimen de dosificación para un paciente, el modo de administración también se toma en consideración.

- 65 El régimen de dosificación también tiene en cuenta parámetros farmacocinéticos bien conocidos en la técnica, es decir, la velocidad de absorción de los antagonistas de receptor de glucocorticoides, la biodisponibilidad, el

metabolismo, la depuración, y similares (véase, por ejemplo, Hidalgo-Aragones, J. Steroid Biochem Mol Biol 58: 611-617, 1996; Groning, Pharmazie 51: 337-341, 1996; Fotherby, Contraception 54: 59-69, 1996; Johnson, J. Pharm Sci 84: 1144-1146, 1995; Rohatagi, Pharmazie 50: 610-613, 1995; Brophy, Eur J. Clin Pharmacol 24: 103-108, 1983; la última de Remington). Por ejemplo, en un estudio, menos del 0,5% de la dosis diaria de mifepristona se excretó en la
 5 orina; el fármaco se unió ampliamente a la albúmina circulante (véase Kawai, supra, 1989). El estado de la técnica permite al médico determinar el régimen de dosificación para cada paciente individual, el antagonista de receptor de glucocorticoides y enfermedad o afección tratada. Como un ejemplo ilustrativo, las directrices proporcionadas a continuación para la mifepristona pueden usarse como orientación para determinar el régimen de dosificación, es decir, programa de dosis y niveles de dosificación, de cualquier antagonista de receptor de glucocorticoides que se
 10 administra en la práctica de los procedimientos descritos.

Las administraciones individuales o múltiples de formulaciones de antagonista de receptor de glucocorticoides se pueden administrar dependiendo de la dosificación y la frecuencia requeridas y toleradas por el paciente. Las formulaciones deben proporcionar una cantidad suficiente de agente activo, es decir, mifepristona, para mejorar
 15 eficazmente los síntomas de la distrofia muscular. Por ejemplo, una formulación farmacéutica preferida típica para la administración oral de mifepristona sería de aproximadamente 5 a 15 mg/kg de peso corporal por paciente por día, más preferiblemente entre aproximadamente 8 y aproximadamente 12 mg/kg de peso corporal por paciente por día, lo más preferiblemente 10 mg/kg de peso corporal por paciente por día, aunque las dosis de entre aproximadamente 0,5 y aproximadamente 25 mg/kg de peso corporal por día se pueden usar en la práctica de la invención. Pueden
 20 utilizarse dosis más bajas, particularmente cuando el fármaco se administra a un sitio anatómicamente aislado, tal como el espacio del líquido cefalorraquídeo (CSF), en contraste con la administración por vía oral, en el torrente sanguíneo, en una cavidad corporal o en un lumen de un órgano. Se pueden usar dosis sustancialmente más altas en la administración tópica. Los procedimientos reales para preparar formulaciones de antagonista de receptor de glucocorticoides administrables por vía parenteral serán conocidos o evidentes para los expertos en la técnica y se
 25 describen con más detalle en publicaciones como de Remington, supra. Ver también Nieman, en "Receptor mediated antisteroid action" Agarwal et al., Eds., De Gruyter, Nueva York, 1987.

Después de formular una composición farmacéutica que comprende un antagonista del receptor de glucocorticoides de la invención en un portador aceptable, se puede colocar en un recipiente apropiado y etiquetarse para el
 30 tratamiento de una afección indicada. Para la administración de antagonistas del receptor de glucocorticoides, dicho etiquetado incluiría, por ejemplo, instrucciones relativas a la cantidad, frecuencia y procedimiento de administración. La presente divulgación proporciona un kit para tratar una afección de distrofia muscular en un ser humano. El kit incluye al menos un antagonista de receptor de glucocorticoide y material de instrucciones que enseña las indicaciones, dosis y programa de administración del antagonista del receptor de glucocorticoides.

35 EJEMPLOS

Los siguientes ejemplos se proporcionan a modo de ilustración solamente y no a modo de limitación. Los expertos en la técnica reconocerán fácilmente una variedad de parámetros no críticos que podrían cambiarse o modificarse
 40 para producir esencialmente los mismos resultados o similares.

EJEMPLO 1: Selección de paciente y pruebas

Los individuos que han sido diagnosticados con una distrofia muscular, tal como distrofia miotónica tipo 1, son
 45 seleccionados para participar en los estudios en humanos descritos a continuación. El paciente tiene típicamente niveles normales de cortisol para su edad, aunque algunos/as con el nivel de cortisol en suero elevado pueden ser incluidos en los estudios en grupos separados.

Se usa el antagonista de receptor de glucocorticoides, mifepristona, en los estudios. Está típicamente en el intervalo
 50 de 50-500 mg para la administración diaria, por ejemplo, en dosis diarias de 50 mg, 100 mg, 200 mg, 300 mg. A los individuos se les administrará su dosis diaria de mifepristona durante un período de tiempo deseado, por ejemplo, seis meses, y se evaluaron como se describe a continuación. Las dosis se ajustarán si es necesario y se realizarán evaluaciones adicionales periódicamente durante todo el tratamiento.

55 Los comprimidos de mifepristona están disponibles de fuentes comerciales, tales como Shanghai Hualian Pharmaceuticals Co., Ltd., Shanghai, China.

Para medir los niveles de cortisol de los pacientes, se toman mediciones de prueba cortisol por la tarde y se utilizan como la medida de cortisol basal. Los niveles de cortisol se toman en el día 0, a las dos semanas después de recibir
 60 la medicación (día 14), y en cada visita durante un máximo de seis meses y periódicamente después.

El "kit de cortisol de doble anticuerpo" (Diagnostic Products Corporation, Los Angeles, CA) se utiliza para medir los niveles de cortisol en sangre. Esta prueba es un radioinmunoensayo competitivo en el que el cortisol marcado con ¹²⁵I compite con cortisol de una muestra clínica por los sitios del anticuerpo, y se lleva a cabo esencialmente de
 65 acuerdo con las instrucciones del fabricante usando reactivos suministrados por el fabricante. Brevemente, se recoge sangre por punción venosa y el suero se separa de las células. Las muestras se almacenan de 2 a 8 °C

durante hasta siete días, o hasta dos meses congeladas a -20 °C. Antes del ensayo, se deja que las muestras lleguen a temperatura ambiente (15-28 °C) mediante agitación suave o inversión. Se preparan dieciséis tubos por duplicado a 25 microlitros de suero por tubo. Las concentraciones de cortisol se calculan a partir de los tubos de calibración preparados. Recuento neto igual a CPM promedio menos CPM no específico promedio. Las concentraciones de cortisol para los desconocidos se calculan por interpolación de la curva de calibración (Dudley et al, Clin Chem 31: 1264-1271, 1985).

EJEMPLO 2: Estudios en ratones de la distrofia muscular Duchene (DMD)

10 La mifepristona se prueba en el modelo de ratón *mdx* de distrofia muscular Duchene (Grounds et al, 2008, Neurobiol Dis. 31: 1-19) por su capacidad para mejorar la fuerza muscular, tal como se determina mediante el examen de la contractilidad del músculo en los ratones distróficos con el tiempo y en conjunción con lesión excéntrica. Los ratones *mdx* son ratones C57BL/10ScSn-Dmd^{mdx}/J con una mutación de pérdida de función en el gen de la distrofina. Se les administra mifepristona (1-100 mg por kg de peso corporal, a menudo en el intervalo de 5-50 mg por kg de peso corporal, por ejemplo, 5, 10, 20, 30, 40, o 50 mg por kg de peso corporal) o placebo en su alimentación a partir de las 4 semanas de edad, conteniendo cada uno de grupo de prueba (mifepristona) y grupo control (placebo) aproximadamente 10-25 animales. Después de ocho semanas de tratamiento, el efecto de la mifepristona se examinará probando la fuerza específica del músculo extensor digitorum longus, así como otros parámetros de la contractilidad. Los ratones *mdx* también serán examinados por el efecto de la mifepristona en el aspecto histológico del músculo debido a un aumento o disminución del número de fibras nucleadas centralmente. También se examinará la pérdida de fuerza durante las contracciones excéntricas y la recuperación de la lesión. La descripción de los procedimientos experimentales se pueden encontrar en, por ejemplo, Baltgalvis et al., Muscle Nerve. 2009 Sep; 40 (3): 443-54.

25 EJEMPLO 3: Estudios en humanos de DMD

Los pacientes ambulatorios con DMD de 5 a 8 años están incluidos en un ensayo clínico de la mifepristona. El grupo de control de pacientes recibirán placebo, mientras que los grupos de prueba recibirán la mifepristona en dosis variables. Los pacientes se pueden colocar en grupos separados, dependiendo de si su nivel de cortisol en suero es elevado. Cada grupo incluye típicamente 5-10 pacientes. Los pacientes se excluyeron si habían usado esteroides dentro de 2 meses antes del inicio del ensayo. El estudio recibió la aprobación del comité de ética local y todos los padres dieron su consentimiento informado por escrito. En todos los casos, los médicos de atención primaria están de acuerdo con la participación de los pacientes. El estudio es un diseño cruzado, doble ciego, aleatorizado controlado con placebo donde todos los pacientes recibieron mifepristona o placebo durante 6 meses. Después de un periodo de lavado posterior de 2 meses, los pacientes recibieron otro régimen durante 6 meses adicionales durante los primeros 10 días de cada mes. Durante los 20 días restantes, no se administra mifepristona o placebo.

La medida de resultado primaria es un cambio en la función muscular evaluado mediante pruebas funcionales temporizada (correr 9 m con los pies descalzos lo más rápido posible, subir 4 escaleras de tamaño estándar, y levantarse de una posición supina a una posición de pie en el suelo). Las medidas de resultado secundarias son cambios en la fuerza muscular cuantificada, el peso, la presión arterial, el estado funcional y calidad de vida (CdV). Los cambios en la fuerza muscular se miden mediante dinamometría de mano. Para determinar los patrones de debilidad muscular, los músculos individuales se agrupan para calcular los cambios en las puntuaciones sumadas clínicamente relevantes. La fuerza muscular total (todas las puntuaciones musculares añadidas) se distingue de fuerza muscular proximal (abductores de hombro, flexores y extensores del codo, flexores y abductores de la cadera, flexores y extensores de la rodilla), fuerza muscular distal (extensores de la muñeca y agarre de 3 puntos), fuerza muscular del brazo (todos los grupos musculares del brazo), y la fuerza muscular de la pierna (todos los grupos musculares de la pierna).

El grado funcional de ambas extremidades superiores e inferiores se mide utilizando el sistema de clasificación por Brooke et al. (Muscle Nerve 1981; 4: 186-197). Todas las mediciones se realizan cada mes en los días 1, 10 y 30. La evaluación de calidad de vida se midió al inicio y al final de ambos periodos de prueba de 6 meses con el DUX-25 por Connolly y Johnson (Pharmacoeconomics 1999; 16: 605-625), un cuestionario de calidad de vida que cubre 4 dominios: físico, emocional, social y funcionamiento en casa.

Se utiliza un análisis de regresión lineal para mostrar cambios en las medidas de resultado primaria y secundaria con el tiempo. Para todas las pruebas funcionales con el tiempo, se suman las puntuaciones de la fuerza muscular, el peso, y la presión arterial (sistólica), se calcula el coeficiente de regresión para ambos periodos. Los datos se analizan de acuerdo con la secuencia en la que se administró el medicamento. La descripción de los procedimientos experimentales se puede encontrar en, por ejemplo, Beenakker et al., Arch Neurol. 2005; 62: 128-132.

EJEMPLO 4: Estudio con ratones de la distrofia miotónica tipo 1 (DM1)

Se usa el modelo de ratón con DM1 específico de corazón inducible por tamoxifeno (Wang et al, J. Clin Invest 117: 2802-2811, 2007) para probar la eficacia y seguridad de la mifepristona para reducir o prevenir el daño de músculo

cardíaco relacionado con DM1. En este modelo, se induce ARN de EpA960 en los ratones EpA960/MCM bitransgénicos (progenie F1) mediante 5 inyecciones intraperitoneales diarias consecutivas de tamoxifeno (20 mg/kg/d) que conduce a una alta mortalidad, alteraciones de la conducción, y disfunción sistólica y diastólica. La mifepristona se prueba mediante la administración por vía intraperitoneal en solución salina comenzando 2 horas después de la primera inyección con tamoxifeno. Los ratones de control o ratones tratados de forma simulada son inyectados con solución salina solo. Cada uno de los grupos de control y de prueba incluye típicamente 10-20 ratones. A los animales se les administra la mifepristona en el intervalo de 1-100 mg por kg de peso corporal, a menudo en el intervalo de 5-50 mg por kg de peso corporal por, por ejemplo, 5, 10, 20, 30, 40, o 50 mg por kg peso corporal.

10

Típicamente, el ochenta por ciento de los ratones tratados de forma simulada murieron dentro de las 3 semanas de inducción del ARN debido a arritmias y/o la disfunción contráctil. La administración de mifepristona reducirá la mortalidad de los ratones bitransgénicos al menos un 10%. La descripción de los procedimientos experimentales se puede encontrar en, por ejemplo, Wang et al., J Clin Invest. 2009; 119 (12): 3797-806.

15

EJEMPLO 5: Estudios en humanos de DM1

Se llevó a cabo un estudio prospectivo, multicéntrico, aleatorizado, doble ciego, controlado con placebo para investigar la eficacia y seguridad del antagonista de receptor de glucocorticoides mifepristona en pacientes con distrofia miotónica tipo 1. Cada uno de los grupos de control y de prueba incluye típicamente 5-10 pacientes. Los adultos ambulatorios con distrofia miotónica tipo 1 se asignaron al azar para recibir al día durante 12 semanas, la mifepristona (por ejemplo, a 100 mg/día) o placebo, mediante administración oral. El criterio de valoración principal es el cambio relativo en la puntuación de la prueba muscular manual (MMT) desde el inicio hasta la semana 12. Entre las medidas de resultado secundarias se incluyeron cambios desde el inicio hasta la semana 12 en la prueba muscular cuantitativa y pruebas funcionales con el tiempo, la función respiratoria y cardíaca, y la calidad de vida. La descripción de los procedimientos experimentales se puede encontrar en, por ejemplo, Penisson-Besnier et al, Neurology 5 agosto 2008; 71 (6): 407-12.

REIVINDICACIONES

1. Composición farmacéutica que comprende una cantidad eficaz de un antagonista de receptor de glucocorticoides para utilizar en un procedimiento para tratar un paciente humano que padece una distrofia muscular, en el que el paciente de otro modo no está en necesidad de tratamiento con un antagonista de receptor de glucocorticoides.
5
2. Composición farmacéutica para utilizar en un procedimiento de la reivindicación 1, en la que al paciente se le administra una composición que consiste esencialmente en un antagonista de receptor de glucocorticoides en una cantidad eficaz para mejorar los síntomas de la distrofia muscular.
10
3. Composición farmacéutica para utilizar en un procedimiento de la reivindicación 1, en la que el paciente padece distrofia miotónica.
15
4. Composición farmacéutica para utilizar en un procedimiento de la reivindicación 3, en la que el paciente padece de distrofia miotónica de tipo 1.
20
5. Composición farmacéutica para utilizar en un procedimiento de la reivindicación 1, en la que el antagonista de receptor de glucocorticoide comprende un esqueleto esteroideo con al menos un resto que contiene fenilo en la posición 11-β del esqueleto esteroideo.
25
6. Composición farmacéutica para utilizar en un procedimiento de la reivindicación 5, en la que el resto que contiene fenilo en la posición 11-β del esqueleto esteroideo es un resto dimetilaminofenilo.
30
7. Composición farmacéutica para utilizar en un procedimiento de la reivindicación 6, en la que el antagonista de receptor de glucocorticoides es mifepristona.
35
8. Composición farmacéutica para utilizar en un procedimiento de la reivindicación 6, en la que el antagonista de receptor de glucocorticoides se selecciona del grupo que consiste en 11β-(4-dimetilaminoetoxifenil)-17α-propinil-17β-hidroxi-4,9 estradien-3-ona y 17β-hidroxi-17α-19-(4-metilfenil)androsta-4,9(11)-dien-3-ona.
40
9. Composición farmacéutica para utilizar en un procedimiento de la reivindicación 1, en la que el antagonista de receptor de glucocorticoides se selecciona del grupo que consiste en 4α(S)-bencil-2(R)prop-1-inil-1,2,3,4,4α,9,10,10α(R)-octahidro-fenantreno-2,7-diol y 4α(S)-bencil-2(R)-cloroetil-1,2,3,4,4α,9,10,10α(R)-octahidro-fenantreno-2,7-diol.
45
10. Composición farmacéutica para utilizar en un procedimiento de la reivindicación 1, en la que el antagonista de receptor de glucocorticoides es (11β, 17β)-11-(1,3-benzodioxol-5-il)-17-hidroxi-17-(1-propinil) estra-4,9-dien-3-ona.
11. Composición farmacéutica para utilizar en un procedimiento de la reivindicación 1, en la que el antagonista de receptor de glucocorticoides se administra una vez por día.
12. Composición farmacéutica para utilizar en un procedimiento de la reivindicación 1, en la que el antagonista del receptor de glucocorticoides se administra por vía oral.
13. Composición farmacéutica para utilizar en un procedimiento de la reivindicación 1, en la que el antagonista del receptor de glucocorticoides se administra mediante aplicación transdérmica, mediante una suspensión nebulizada o mediante un pulverizador de aerosol.