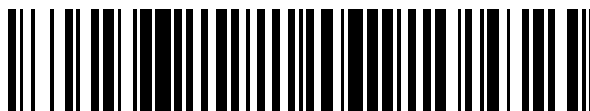


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 702 128**

51 Int. Cl.:

A61K 31/015	(2006.01) A61P 7/00	(2006.01)
A61K 31/167	(2006.01) A61P 17/14	(2006.01)
A61K 31/192	(2006.01) A61P 37/02	(2006.01)
A61K 31/202	(2006.01) A61P 43/00	(2006.01)
A61K 31/353	(2006.01)	
A61K 31/382	(2006.01)	
A61K 31/44	(2006.01)	
A61K 31/4436	(2006.01)	
A61K 31/47	(2006.01)	
A61P 7/06	(2006.01)	

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **16.05.2007 PCT/US2007/011730**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **29.11.2007 WO07136653**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **16.05.2007 E 07794936 (0)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **14.11.2018 EP 2026778**

54 Título: **Antagonista o agonista inverso de RAR para uso en el tratamiento de efectos secundarios de quimioterapia y/o terapia de radiación**

30 Prioridad:

16.05.2006 US 800773 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
27.02.2019

73 Titular/es:

**IO THERAPEUTICS, LLC (100.0%)
25241 Buckskin Drive
Laguna Hills, CA 92653, US**

72 Inventor/es:

**CHANDRARATNA, ROSHANTHA A. y
YUAN, YANG-DAR**

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 702 128 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

Antagonista o agonista inverso de RAR para uso en el tratamiento de efectos secundarios de quimioterapia y/o terapia de radiación

Antecedentes de la invención

5 1. Campo técnico

La presente invención se refiere generalmente a métodos para tratar los efectos secundarios de quimioterapia y terapia de radiación en mamíferos.

2. Descripción de la técnica relacionada.

10 Generalmente, las células normales en un mamífero crecen y se dividen de una manera ordenada y controlada. El cáncer es una enfermedad en la que las células se hacen anormales (células cancerosas) y comienzan a multiplicarse sin control hasta desarrollarse en una masa extra de tejido denominada tumor.

Estas células cancerosas pueden invadir el tejido cercano y extenderse a través de la corriente de sangre y el sistema linfático a otras partes del cuerpo.

15 En la actualidad, los cuatro tipos primarios de tratamientos del cáncer son inmunoterapia, cirugía, terapia de radiación y quimioterapia. Estos tratamientos del cáncer pueden ser aplicados solos o conjuntamente unos con otros. Consecuentemente, un paciente de cáncer puede experimentar uno o más tratamientos en un tiempo. Un tratamiento único podría extenderse un período de tiempo con terapias suministradas en diversos intervalos de tiempo. La inmunoterapia intenta estimular o restaurar la capacidad del sistema inmune para combatir la enfermedad. Puede ser usada también para rebajar los efectos secundarios relacionados con el sistema inmune que
20 pueden ser provocados por algunos tratamientos del cáncer. La cirugía busca suprimir directamente el tumor del cuerpo.

La terapia de radiación, también conocida como radioterapia, usa radiación de energía elevada a partir de rayos X, rayos gamma, neutrones y otras fuentes para destruir las células cancerosas y contraer tumores deteriorando el material genético de las células. Aunque que las células cancerosas son deterioradas permanentemente y
25 ocasionalmente mueren, las células normales que son deterioradas en la terapia de radiación son capaces de repararse por sí mismas. Los efectos secundarios que se pueden producir durante la terapia de radiación incluyen irritación de la piel y pérdida del cabello en la zona que está siendo tratada, así como un deterioro de la médula ósea.

La quimioterapia usa fármacos citotóxicos, solos o en combinación, para destruir las células cancerosas. Como en la
30 terapia de radiación, las células cancerígenas pueden ser deterioradas y ocasionalmente mueren, pero las células sanas afectadas en el procedimiento se pueden reparar por sí mismas después de la quimioterapia. Los fármacos citotóxicos funcionan interfiriendo con la capacidad de una célula en crecimiento para dividirse y reproducirse por sí misma. Por tanto, además de las células cancerosas, pueden ser afectadas también otras células en crecimiento que se dividen de forma rápida normal. Por ejemplo, puede haber un efecto en las células sanguíneas formadas en
35 la médula ósea, causando la supresión de médula ósea. Puede haber también un efecto sobre las células, por ejemplo, en el tracto digestivo, en el recubrimiento de la boca y en el sistema reproductor, provocando diarreas y molestias en la boca; puede haber también un efecto sobre los folículos pilosos, provocando pérdida del cabello.

La supresión de médula ósea es uno de los muchos efectos secundarios de la quimioterapia y la radioterapia. Da lugar a una producción reducida de células sanguíneas, incluidos glóbulos rojos, glóbulos blancos y plaquetas. Consecuentemente, un paciente puede experimentar cansancio a partir de anemia, hacerse más susceptible a infecciones, a partir de leucopenia y tener fácilmente hematomas y hemorragias al tener un corte, a partir de trombocitopenia. Normalmente son usados fármacos para contrarrestar el efecto secundario de supresión de médula ósea. Por ejemplo, ha sido usado Epogen® (epoyetina α) para contrarrestar el efecto secundario de la anemia en la quimioterapia de cáncer, y WinRho® SDF (inmunoglobulina Rh₀ (D)) para contrarrestar los efectos secundarios de la trombocitopenia.
45

La prevención o protección de los efectos secundarios de la quimioterapia y la terapia de radiación sería de gran beneficio para los pacientes de cáncer. Los muchos esfuerzos previos para reducir estos efectos secundarios han sido ampliamente insatisfactorios. Para efectos secundarios que amenazan la vida, los esfuerzos se han concentrado en alterar la dosis y los esquemas de los agentes quimioterapéuticos y radioterapéuticos para reducir
50 los efectos secundarios. Otras opciones se están haciendo disponibles, como el uso del factor estimulador de colonias de granulocitos (G-CSF), CSF granulocito-macrófagos (GM-CSF), factor de crecimiento epidérmico (EGF), interleucina 11 (il-11), eritropoyetina, trombopoyetina, desarrollo de megacariocitos y factor de crecimiento, piquinas, factor de células madre, ligando FLT, así como interleucinas 1, 3, 6 y 7, para aumentar el número de células normales en diversos tejidos antes del comienzo de la quimiorradioterapia. Los mecanismos de protección
55 mediante estos factores, aunque no son completamente comprendidos, están asociados lo más probablemente con un aumento en el número de células diana críticas normales antes del tratamiento con agentes citotóxicos o terapia

de radiación y no asociadas con la supervivencia aumentada de las células a continuación de la quimiorradioterapia.

Generalmente, los neutrófilos, también denominados leucocitos polimorfonucleares, son los más numerosos en las células sanguíneas conocidas como granulocitos. Los neutrófilos son la población celular más grande implicada en una respuesta inflamatoria aguda. Por tanto, son un componente importante en la inmunidad natural, respondiendo rápidamente a estímulos quimiotácticos. Los neutrófilos destruyen las partículas extrañas, como bacterias, envolviéndolas y digiriéndolas, un procedimiento denominado fagocitosis. Los neutrófilos pueden aumentar en respuesta a una infección bacteriana. Cuando se necesitan muchos neutrófilos, son liberados a partir de la médula ósea como células inmaduras, denominadas bandas o células punzantes. La neutropenia es un trastorno hematológico caracterizado por un número anormalmente bajo de granulocitos neutrófilos. Por lo tanto, los pacientes con neutropenia son más susceptibles a infecciones bacterianas y estos estados se pueden hacer peligrosos para la vida.

La neutropenia puede producir secundariamente otro estado, como cáncer o síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA). La neutropenia se puede producir también para un acontecimiento como una terapia de fármacos. Por tanto, la neutropenia puede resultar de trastornos fisiológicos que afectan directamente al sistema inmune. Por ejemplo, la producción disminuida de neutrófilos se producirá cuando la leucemia, mieloma, linfoma o tumor sólido metastático como, por ejemplo, cáncer de mamas o próstata, médula ósea se infiltren u sustituyan la médula ósea. La neutropenia transitoria está asociada a menudo con infecciones virales. La neutropenia crónica está asociada a menudo con una inmunodeficiencia que resulta de una infección viral, por ejemplo, SIDA que resulta del virus de inmunodeficiencia humano (VIH). La neutropenia autoinmune puede estar asociada con anticuerpos anti-neutrófilos en circulación. Una causa mucho más común de la neutropenia es en forma de un efecto secundario de una terapia de fármacos, particularmente quimioterapia y terapia de radiación para cáncer y trasplante de médula ósea asociado con la terapia del cáncer. La neutropenia secundaria para la terapia de fármacos se puede subdividir por tanto en dos grupos. El primero implica una neutropenia de mediación inmune que puede surgir a partir de fármacos que actúan como haptenos para estimular la formación de anticuerpos. Las reacciones de hipersensibilidad como las provocadas por difenil-hidantoína y fenobarbital pueden durar algunos días. Sin embargo, las reacciones de hipersensibilidad crónica pueden durar meses o años.

El segundo sector de neutropenia inducida por fármacos implica la neutropenia grave que se produce previsiblemente después de dosis elevadas de fármacos para cáncer citorreductor o terapia de radiación ionizante. Estas terapias citotóxicas inducen neutropenia debido a la naturaleza proliferadora de las células precursoras de neutrófilos y la velocidad de renovación elevada normal de neutrófilos en circulación. El riesgo de neutropenia secundaria a la quimioterapia de cáncer o radioterapia depende de factores como el tipo y la fase del cáncer y el tipo, la dosificación y el esquema de tratamiento del cáncer.

La terapia que existe actualmente para hacer surgir niveles de neutrófilos consiste principalmente en filgrastim (Neupogen®) y, más recientemente, pegfilgrastim (Neulasta®), un derivado de actuación más prolongada de filgrastim. El filgrastim es una versión recombinante de una proteína humana, G-CSF, que estimula selectivamente la producción de glóbulos blancos. El G-CSF es actualmente el fármaco de elección para la neutropenia. Como estos dos fármacos son proteínas recombinantes, no son activos por vía oral y deben ser administrados mediante inyección. Además, los medicamentos basados en proteínas están sometidos a menudo a un metabolismo rápido.

Los documentos WO 03/062369 y WO 03/078567 se refieren a métodos de expansión de células madre renovables usando agentes como retinoides, poblaciones expandidas de células madre renovables y sus usos en la hematopoyesis de restauración en el tratamiento que experimentan pacientes de cáncer.

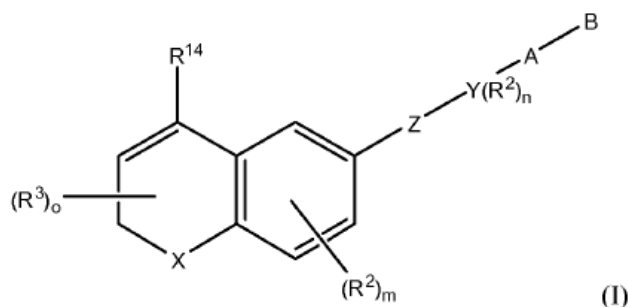
Los documentos US 2002/0156054 y US 2002/0173631 se refieren a compuestos que tienen actividad biológica de tipo retinoide o de tipo antagonista de retinoide.

Johnson *et al* (1999, Bioorganic & Medicinal Chemistry, 7: 1321-1338) se refieren a antagonistas de receptores de ácido retinoico.

A pesar de los avances en los campos de la quimioterapia y la terapia de radiación, los fármacos y métodos de la técnica anterior han demostrado ser de una utilidad limitada para minimizar los efectos secundarios que resultan de la quimioterapia y terapia de radiación, como alopecia inducida por quimioterapia, alopecia inducida por terapia de radiación, trombocitopenia inducida por quimioterapia, trombocitopenia inducida por terapia de radiación, leucopenia inducida por quimioterapia, leucopenia inducida por terapia de radiación, neutropenia inducida por quimioterapia y neutropenia inducida por terapia de radiación. Consecuentemente, sería deseable proporcionar un método mejorado para tratar estos efectos secundarios de la quimiorradioterapia en un mamífero.

Compendio de la invención

Consecuentemente, la presente invención proporciona un antagonista de receptor de ácido retinoico (RAR) o un agonista inverso de RAR que se une a receptores de los subtipos RAR α , RAR β y RAR γ , para ser usado en el tratamiento de efectos secundarios de quimioterapia y/o terapia de radiación en un mamífero que experimenta quimioterapia y/o terapia de radiación, en que el efecto secundario es neutropenia, leucopenia y trombocitopenia, en que el antagonista de RAR o agonista inverso de RAR tiene la estructura química según la fórmula (I):



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;

en que X es S, O, NR en que R es H o alquilo de 1 a 6 átomos de carbono, o

5 X es $[C(R^1)_2]_n$ en que R^1 es independientemente H o un alquilo de 1 a 6 átomos de carbono y n es un número entero entre 0 y 2, ambos incluidos;

R^2 son independientemente hidrógeno, un alquilo de 1 a 6 átomos de carbono, F, Cl, Br, I, CF_3 , alquilo fluorosustituido de 1 a 6 átomos de carbono, OH, SH, alcoxi de 1 a 6 átomos de carbono o alquiltio de 1 a 6 átomos de carbono;

R^3 son independientemente hidrógeno, alquilo de 1 a 6 átomos de carbono o F;

10 m es un indicador que tiene el valor de 0-3;

n es un número entero que tiene el valor de 0-4;

o es un número entero que tiene el valor de 0-3;

Z es $-CONR^1-$, $-CSNR^1-$, $-NR^1CO-$, $-NR^1CS-$, $-C\equiv C-$, $-C=C-$, $-N=N-$, $-N=CR^1-$, $-CR^1=N-$, $-COO-$, $-OCO-$, $-OSO-$, $-OCS-$ o $-(CR^1=CR^1)_{n'}$, en que n' es un número entero de 0 a 5;

15 Y es un grupo fenilo o naftilo, o un heteroarilo seleccionado entre un grupo que consiste en piridilo, tienilo, furilo, piridazinilo, pirimidinilo, pirazinilo, tiazolilo, oxazolilo, imidazolilo y pirazolilo, estando opcionalmente sustituidos los grupos fenilo y heteroarilo con uno o dos grupos R^2 , o cuando Z es $-(CR_1=CR_1)_{n'}$ y n' es 3, 4 o 5 entonces Y representa un enlace de valencia directo entre dicho grupo $(CR_2=CR_2)_{n'}$ y B;

20 A es $(CH_2)_q$ en que q es 0-5, un alquilo de cadena ramificada que tiene de 3 a 6 átomos de carbono, cicloalquilo que tiene de 3 a 6 átomos de carbono, alquénilo que tiene de 2 a 6 átomos de carbono y 1 o 2 enlaces dobles, alquínilo que tiene 2-6 átomos de carbono y 1 o 2 enlaces triples;

B es hidrógeno, COOH o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, $COOR^8$, $CONR^9R^{10}$, CH_2OH , CH_2OR^{11} , CH_2OCOR^{11} , CHO, $CH(OR^{12})_2$, $CHOR^{13}O$, $-COR^7$, $CR^7(OR^{12})_2$, $CR^7OR^{13}O$, o un tri-alquilsililo en que los grupos alquilo tienen de 1 a 6 átomos de carbono;

25 R^7 es un grupo alquilo, cicloalquilo o alquénilo que contiene de 1 a 5 átomos de carbono;

R^8 es un grupo alquilo de 1 a 10 átomos de carbono o timetilsililalquilo en el que el grupo alquilo tiene de 1 a 10 átomos de carbono, un grupo cicloalquilo de 3 a 10 átomos de carbono, fenilo o un alquilfenilo inferior;

30 R^9 y R^{10} son independientemente hidrógeno, un grupo alquilo de 1 a 10 átomos de carbono, un grupo cicloalquilo de 3 a 10 átomos de carbono, fenilo o un alquilfenilo inferior en el que el grupo alquilo tiene de 1 a 6 átomos de carbono; R^{11} es un alquilo de 1 a 6 átomos de carbono, fenilo o alquilfenilo en el que el grupo alquilo tiene de 1 a 6 átomos de carbono;

R^{12} es un alquilo de 1 a 6 átomos de carbono;

R^{13} es un radical alquilo divalente de 2 a 5 átomos de carbono;

35 R^{14} es $(R^{15})_r$ -fenilo, $(R^{15})_r$ -naftilo o $(R^{15})_r$ -heteroarilo en el que el grupo heteroarilo tiene de 1 a 3 heteroátomos seleccionados entre el grupo que consiste en O, S y N y r es un número entero que tiene los valores de 0-5; y

R^{15} es independientemente H, F, Cl, Br, I, NO_2 , $N(R^8)_2$, $N(R^8)COR^8$, $NR^8CON(R^8)_2$, OH, $OCOR^8$, OR^8 , CN, un grupo alquilo que tiene de 1 a 10 átomos de carbono, un grupo alquilo fluorosustituido que tiene de 1 a 10 átomos de carbono, un grupo alquénilo que tiene de 2 a 10 de átomos de carbono y de 1 a 3 enlaces dobles, un grupo alquínilo que tiene 2 a 10 átomos de carbono y de 1 a 3 enlaces triples o un grupo trialquilsililo o trialquilsililo en el que los

grupos alquilo tienen independientemente de 1 a 6 átomos de carbono.

Breve descripción de los dibujos

Las figuras 1A-1C son una representación gráfica de los efectos de VTP 194310 sobre los recuentos de leucocitos, neutrófilos y linfocitos en un modelo de ratón leucopénico inducido por ciclofosfamida.

- 5 Las figuras 2A-2D son una representación gráfica de los efectos bloqueantes del antagonista de pan-RAR VTP 194310 contra la diferenciación de neutrófilos accionada por ATRA de células HL60. Las células HL60 ajustadas a $2,5 \times 10^5$ células/ml se trataron durante 5 días con ATRA 100 nM o ATRA 100 nM junto con una concentración 100 nM de antagonista de pan-RAR VTP 194310. A muestra el número total de células viables enumeradas mediante microscopía de contraste de fases. La diferenciación se midió mediante la capacidad de las células para reducir
- 10 nitroazul de tetrazolio (B), expresión de CD11b, medida usando un anti-CD11b y FACS (C) y la actividad aumentada de enzima sulfatasa esteroide, medida en ultrasonidos celulares usando sulfato de [3H]-estrone seguido de extracción de [3H]-estrone.

- 15 Las figuras 3A y 3B son una representación gráfica del efecto de VTP 194310 y G-CSF, solos o en combinación, sobre la diferenciación de neutrófilos. Se purificaron en columna células progenitoras hematopoyéticas CD34⁺ve humanas (CD34-HPC) hasta homogeneidad y se cultivaron en factor de células madre (100 ng/ml) e IL3 (20 ng/ml) (●), y estas condiciones junto con una concentración 10 (□) y 100 nM (Δ) de antagonista de pan-RAR específico de VTP 194310. Se cultivaron CD34-HPC en factor de células madre (100 ng/ml), IL3 (5 ng/ml) y G-CSF (30 ng/ml) (▲) para favorecer la producción óptima de neutrófilos y monocitos. Los fenotipos celulares se determinaron a intervalos
- 20 mediante un ensayo FACS de multi-color. Los cultivos se establecieron por triplicado y los análisis de FACS multicolor en análisis de colores únicos para cada marcador se emprendieron por duplicado. Los neutrófilos se identifican como células CD11b+ve/CD65+ve y como células CD15+ve. Los monocitos se identifican como células CD11b+ve/CD14+ve. Los datos se muestran como media \pm SD.

Las figuras 4A-4C son una representación gráfica de los efectos de VTP 194310 sobre los recuentos de neutrófilos y otros parámetros en un modelo de ratón leucopénico inducido por ciclofosfamida.

- 25 La figura 5 es una representación gráfica del efecto de VTP 194310 sobre la supervivencia de ratones leucopénicos letalmente infectados con *Staphylococcus aureus*.

- 30 Las figuras 6A-6E son una representación gráfica de los cambios en cambios totales de leucocitos totales (WBC), neutrófilos, linfocitos, glóbulos rojos (RBC) y números de plaquetas en ratones que recibieron VTP 194310 y/o PEG-G-CSF. Se administró vehículo o VTP 194310 a 1 o 3 mg/kg/día por vía oral en los días -1 a 1, se proporcionaron 150 mg/kg de CPM por vía intraperitoneal el día 0 y se proporcionó PEG-G-CSF por vía subcutánea el día 2. Se recogieron muestras de sangre según lo programado y el recuento de células sanguíneas se midió mediante un dispositivo Abbott Cell-DYN 3700. Los datos representan la media \pm SE de 7-8 ratones. Las unidades son números de células o plaquetas por μ l.

- 35 La figura 7 es una representación gráfica del efecto de tratamiento de neutropenia con un régimen de VTP 194310 y PEG-G-CSF, en comparación con cada agente solo, que aumentó adicionalmente la velocidad de recuperación de neutrófilos en ratones neutropénicos. A ratones hechos neutropénicos con 150 mg/kg de CPM en el día 0 se les proporcionó una monoterapia con VTP 194310 (3 mg/kg/día en los días -1 a 1) o PEG-G-CSF (10 μ g/kg en el día 2) y un tratamiento de combinación con estas dosis. Los datos representan valores de media \pm SE de 7-8 ratones. Se indican los valores p para la relevancia estadística entre los grupos tratados. Las unidades son números de células o
- 40 plaquetas por μ l.

- 45 Las figuras 8A-8E son una representación gráfica de los cambios de leucocitos totales (WBC), neutrófilos, linfocitos, glóbulos rojos (RBC) y números de plaquetas en ratones que recibieron VTP 194310 y/o PEG-G-CSF en un modelo de neutropenia en ratón inducido por 5-FU. Se administraron por vía oral 3 mg/kg/día de vehículo o VTP 194310 en los días 2 a 4, se proporcionaron por vía intravenosa 150 mg/kg de 5-FU en el día 0 y se proporcionó por vía subcutánea PEG-G-CSF en los días 5, 6 o 7 como se indica. Se recogieron muestras de sangre según lo programado y el recuento de células sanguíneas se midió por medio de un dispositivo Abbott Cell-DYN 3700. Los datos representan la media \pm SE de 8 ratones. Las unidades son números de células o plaquetas por μ l.

- 50 La figura 9 es una representación gráfica de una comparación del efecto de una monoterapia con VTP 194310 o PEG-G-CSF y un tratamiento de combinación sobre la recuperación de neutrófilos en ratones neutropénicos inducidos por 5-FU. A ratones hechos neutropénicos con 150 mg/kg de 5-FU en el día 0 se les proporcionó una monoterapia con VTP 194310 (3 mg/kg/día en los días 2 a 4) o PEG-G-CSF (10 μ g/kg) en los días 5, 6, o 7 y un tratamiento de combinación con estas dosis y regímenes. Los datos representan la media \pm SE de 8 ratones.

Descripción detallada de la invención

- 55 La presente invención se dirige a un antagonista y/o un agonista inverso de receptores del ácido retinoico (RARs) como se define en las reivindicaciones que se une a los receptores de los subtipos RAR α , RAR β y RAR γ , es decir, el antagonista de RAR o el agonista inverso de RAR se une a todos los subtipos RAR α , RAR β y RAR γ para ser usado

en el tratamiento de efectos secundarios de quimioterapia y/o terapia de radiación (es decir, quimiorradioterapia) en un mamífero que experimenta quimioterapia y/o terapia de radiación. Estos efectos secundarios incluyen trombocitopenia inducida por quimioterapia, trombocitopenia inducida por radiación, leucopenia inducida por quimioterapia, leucopenia inducida por terapia de radiación, neutropenia inducida por quimioterapia o neutropenia inducida por terapia de radiación.

Puede ser usado un ensayo para determinar la actividad agonista en los subtipos de receptores de RAR α , RAR β y RAR γ como se describe por Feigner, PL y Holm, M., Focus, 11:2, 21+ (1989) y en las patentes de EE.UU. n^{os} 5.455.265 y 7.166.726.

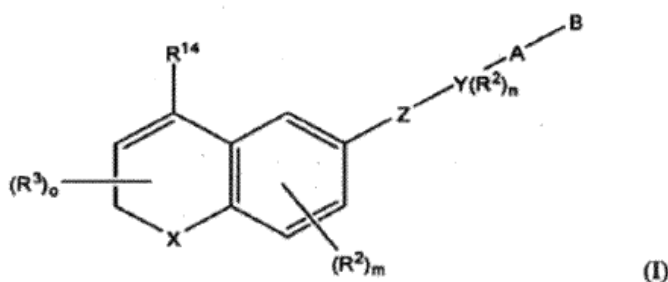
La actividad de agonistas inversos retinoides puede ser ensayada mediante el procedimiento de Klein *et al.*, J. BIOL. CHEM. 271, 22.692-22.696 (1996).

Los retinoides, en particular el ácido retinoico holo-trans (ATRA), son esenciales para el desarrollo normal de los mamíferos, ya que desempeñan funciones importantes en el control de la supervivencia, proliferación y diferenciación de una amplia gama de tipos de células. El ATRA y los retinoides sintéticos son capaces de unirse y activar dos familias intracelulares distintas de receptores, los RAR y los receptores de Retinoides X (RXRs), dando lugar a la regulación de la expresión génica. El primer receptor de ácido retinoico identificado, denominado RAR α , actúa para modular la transcripción de genes diana específicos en una manera que es dependiente de ligandos, como se ha mostrado que es el caso de muchos de los miembros de la superfamilia de receptores intracelulares de hormonas esteroides/tiroides. El ligando endógeno de bajo peso molecular del que depende la actividad de transcripción-modulación de RAR α es ATRA. Los cambios mediados por receptores de ácido retinoico en la expresión génica dan lugar a alteraciones características en el fenotipo celular, con consecuencias en muchos tejidos que manifiestan la respuesta biológica a ATRA. Dos genes adicionales estrechamente relacionados con RAR α se denominan RAR β y RAR γ . Como para los RAR, los RXR se conoce también que tienen al menos tres subtipos o isoformas, a saber, RAR α , RAR β y RAR γ , con modelos únicos correspondientes de expresión (Manglesdorf *et al.*, Gen es & Devel., 6: 329- 44 (1992)).

Se cree que la administración de una composición que comprende un antagonista de RAR y/o un agonista inverso de RAR que se une a receptores de los subtipos RAR α , RAR β y RAR γ para un mamífero puede mejorar la producción de neutrófilos y plaquetas sanguíneos como lugar así al tratamiento de efectos secundarios de quimioterapia, como la neutropenia y/o trombocitopenia inducidas por quimioterapia.

Ejemplos representativos de antagonistas y agonistas inversos de RAR que se unen a los receptores de los subtipos de RAR α , RAR β y RAR γ y procedimientos para su preparación son bien conocidos en la técnica, por ejemplo, en las patentes de EE. UU. n^{os} 5.776.699 y 5.958.954 y en la Publicación de Solicitud de Patente de EE.UU. n^o 2002/0193403. Muchos de los siguientes ejemplos están incluidos en una o más de estas solicitudes y/o patentes.

Una realización particular de la presente invención es una clase de compuestos que puede ser usada representada por la fórmula general I:



o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos;

en la que X es S, O, NR en que R es H o alquilo de 1 a 6 átomos de carbono, o

X es [C(R¹)₂]_n en que R¹ es independientemente H o un alquilo de 1 a 6 átomos de carbono y n es un número entero entre 0 y 2, ambos incluidos;

R² son independientemente hidrógeno, un alquilo de 1 a 6 átomos de carbono, F, Cl, Br, I, CF₃, alquilo sustituido con flúor de 1 a 6 átomos de carbono, OH, SH, alcoxi de 1 a 6 átomos de carbono o alquiltio de 1 a 6 átomos de carbono;

R³ son independientemente hidrógeno, alquilo de 1 a 6 átomos de carbono o F;

m es un número entero que tiene el valor de 0-3;

n es un número entero que tiene el valor de 0-4;

o es un número entero que tiene el valor de 0-3;

Z es $-\text{CONR}^1-$, $-\text{CSNR}^1-$, $-\text{NR}^1\text{CO}-$, $-\text{NR}^1\text{CS}-$, $-\text{C}=\text{C}-$, $-\text{C}=\text{C}-$, $-\text{N}=\text{N}-$, $-\text{N}=\text{CR}^1-$, $-\text{CR}^1=\text{N}-$, $-\text{COO}-$, $-\text{OCO}-$; $-\text{OSO}-$; $-\text{OCS}-$ o $-(\text{CR}^1=\text{CR}^1)_n$, en que n es un número entero de 0 a 5;

5 Y es un grupo fenilo o naftilo o un heteroarilo seleccionado entre un grupo que consiste en piridilo, tienilo, furilo, piridazinilo, pirimidinilo, pirazinilo, tiazolilo, oxazolilo, imidazolilo y pirrazolilo, estando opcionalmente sustituidos los grupos fenilo y heteroarilo con uno o dos grupos R^2 , o cuando en Z es $-(\text{CR}^2=\text{CR}^2)_n-$ y n' es 3, 4 o 5, entonces Y representa un enlace de valencia directa entre dicho grupo $(\text{CR}^2=\text{CR}^2)_n$ y B;

10 A es $(\text{CH}_2)_q$ en que q es 0-5, un alquilo de cadena ramificada inferior que tiene de 3 a 6 átomos de carbono, cicloalquilo que tiene de 3 a 6 átomos de carbono, alqueno que tiene de 2 a 6 átomos de carbono y 1 o 2 enlaces dobles o alquino que tiene 2-6 átomos de carbono y 1 o 2 enlaces triples;

B es hidrógeno, COOH o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, COOR^8 , $\text{CONR}^9\text{R}^{10}$, CH_2OH , $\text{CH}_2\text{OR}^{11}$, $\text{CH}_2\text{OCOR}^{11}$, CHO , $\text{CH}(\text{OR}^{12})_2$, CHOR^{13}O , $-\text{COR}^7$, $\text{CR}^7(\text{OR}^{12})_2$, $\text{CR}^7\text{OR}^{13}\text{O}$, o un trialkilsililo en el que los grupos alquilo tienen de 1 a 6 átomos de carbono;

15 R^7 es un grupo alquilo, cicloalquilo o alqueno que contiene de 1 a 5 átomos de carbono;

R^8 es un grupo alquilo de 1 a 10 átomos de carbono o trimetilsililalquilo en el que el grupo alquilo tiene de 1 a 10 átomos de carbono, un grupo cicloalquilo de 3 a 10 átomos de carbono, fenilo o alquilfenilo inferior en el que los grupos alquilo tienen de 1 a 6 átomos de carbono;

20 R^9 y R^{10} son independientemente hidrógeno, un grupo alquilo de 1 a 10 átomos de carbono, un grupo cicloalquilo de 3 a 10 átomos de carbono, fenilo o un alquilfenilo;

R^{11} es un alquilo de 1 a 6 átomos de carbono, fenilo o alquilfenilo en el que los grupos alquilo tienen de 1 a 6 átomos de carbono;

R^{12} es un alquilo de 1 a 6 átomos de carbono;

R^{13} es un radical alquilo divalente de 2 a 5 átomos de carbono;

25 R^{14} es $(\text{R}^{15})_r$ -fenilo, $(\text{R}^{15})_r$ -naftilo o $(\text{R}^{15})_r$ -heteroarilo en el que el grupo heteroarilo tiene de 1 a 3 heteroátomos seleccionados entre el grupo que consiste en de O, S y N, y r es un número entero que tiene los valores de 0-5; y

R^{15} es independientemente H, F, Cl, Br, I, NO_2 , $\text{N}(\text{R}^8)_2$, $\text{N}(\text{R}^8)\text{COR}^8$, $\text{NR}^8\text{CON}(\text{R}^8)_2$, OH, OCOR^8 , OR^8 , CN, un grupo alquilo que tiene de 1 a 10 átomos de carbono, un grupo alquilo sustituido con flúor que tiene de 1 a 10 átomos de carbono, un grupo alqueno que tiene de 2 a 10 átomos de carbono y de 1 a 3 enlaces dobles, un grupo alquino que tiene de 2 a 10 átomos de carbono y de 1 a 3 enlaces triples o un grupo trialkilsililo o trialkilsililoxi en el que los grupos alquilo tienen independientemente de 1 a 6 átomos de carbono.

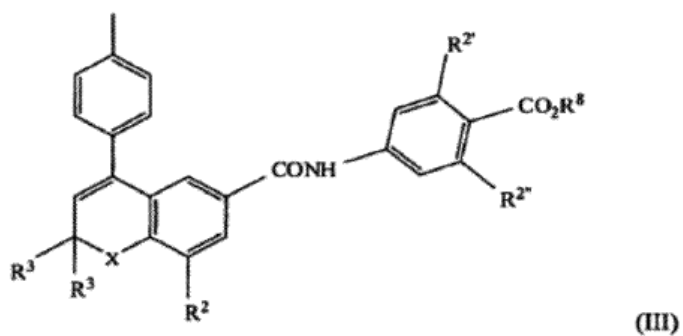
Otra realización particular de la presente invención es una clase de compuestos que pueden ser usados representados por la fórmula I, en la que Z es $-\text{CONR}^1-$, $-\text{CSNR}^1-$, $-\text{NR}^1\text{CO}-$ o $-\text{NR}^1\text{CS}-$; y en que todas las demás variables son como se definieron con anterioridad.

35 Otra realización particular de la presente invención es una clase de compuestos que pueden ser usados representados por la fórmula I, en la cual:

R^8 es un grupo alquilo de 1 a 10 átomos de carbono o trimetilsililalquilo en que el grupo alquilo tiene de 1 a 10 átomos de carbono, un grupo cicloalquilo de 5 a 10 átomos de carbono, fenilo o alquilfenilo inferior;

40 R^9 y R^{10} son independientemente hidrógeno, un grupo alquilo de 1 a 10 átomos de carbono, un grupo cicloalquilo de 5 a 10 átomos de carbono, fenilo o un alquilfenilo inferior; y en que todas las otras variables son como se definieron con anterioridad.

Otra realización particular de la presente invención es una clase de compuestos que pueden ser usados, representados por la fórmula general III:



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;

en el que X es $-\text{C}(\text{CH}_3)_2-$ o $-\text{O}-$;

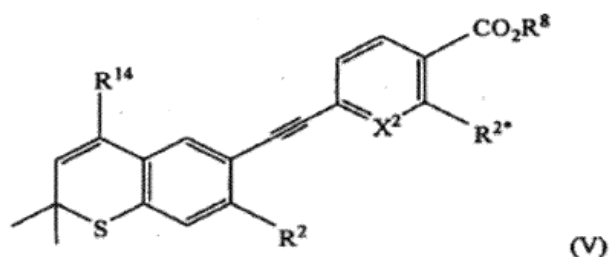
R^2 es $-\text{H}$ o $-\text{Br}$,

5 $\text{R}^{2'}$ y $\text{R}^{2''}$ son independientemente $-\text{H}$ o $-\text{F}$;

cada R^3 es independientemente $-\text{H}$ o $-\text{CH}_3$; y

R^8 es $-\text{H}$ o un alquilo $\text{C}_1\text{-C}_6$.

Otra realización particular de la presente invención es una clase de compuestos que puede ser usada representada por la fórmula general V:



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;

en el que X^2 es $-\text{CH}-$ o $-\text{N}-$;

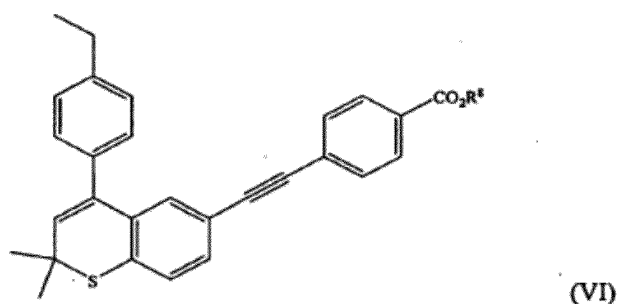
R^2 es $-\text{H}$, $-\text{F}$ o $-\text{OCH}_3$;

R^{2*} es $-\text{H}$ o $-\text{F}$;

15 R^8 es $-\text{H}$, o alquilo $\text{C}_1\text{-C}_6$; y

R^{14} se selecciona entre el grupo que consiste en: fenilo, 4-(alquilo)fenilo en que el grupo alquilo tiene de 1 a 6 átomos de carbono, 5-(alquilo)-2-tienilo en que el grupo alquilo tiene de 1 a 6 átomos de carbono y 6-(alquilo)-3-piridilo, en que el grupo alquilo tiene de 1 a 6 átomos de carbono.

20 Otra realización particular de la presente invención es una clase de compuestos que puede ser usada representada por la fórmula general VI:



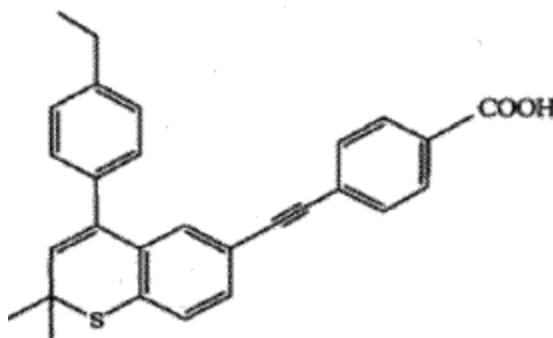
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;

en el que R⁸ es -H o un alquilo C₁-C₆.

5 Los compuestos son antagonistas o agonistas inversos de RAR que se unen a los receptores de los subtipos RAR α , RAR β y RAR γ incluyen los compuestos descritos y reivindicados en las patentes de EE.UU. n^{os} 5.728.846, 5.739.338, 5.763.635, 5.773.594, 5.877.207, 5.952.345, 5.958.954, 5.998.655, 6.008.204, 6.037.488, 6.043.381, 6.087.505, 6.090.810, 6.117.987, 6.211.385, 6.218.128, 6.225.494, 6.228.848, 6.235.923, 6.313.168, 6.521.624, 6.521.641, 6.538.149, 6.555.690, 6.653.483, 6.720.425, 6.818.775, 6.942.980, 7.105.566 y 7.166.726 y las publicaciones de patentes de EE.UU. n^{os} 2003-0219832, 2005-0171151, 2007-0054882 y 2007-0265449.

10 Una lista no exclusiva de compuestos que entran en la descripción y métodos para preparar esta clase de compuestos se describe en la patente de EE.UU. n^o 5.728.846. Además, estos compuestos se describen en la patente de EE.UU. n^o 5.919.970 de Song *et al.*, que comparte titularidad común con la presente solicitud.

Un compuesto preferido para ser usado en los métodos de la presente invención está representado por la siguiente estructura:



15 o sal farmacéuticamente aceptable del mismo. Este compuesto es denominado VTP 194310 (y anteriormente se denominaba AGN 194310).

Se describen los antagonistas o agonistas inversos de RAR adicionales en la patente de EE.UU. n^o 6.037.488 de Song *et al.*; y comparte titularidad común con la presente solicitud. También se describen antagonistas de RAR
20 relevantes para la presente invención en la publicación de la solicitud internacional n^o WO 94/14777 de Yoshimura *et al.*

El término "agonista", como se usa en la presente memoria descriptiva, está previsto que signifique un compuesto que se une a un receptor y lo activa, produciendo una respuesta farmacológica (por ejemplo, contracción, relajación, secreción, activación enzimática, etc.).

25 La expresión "agonista inverso", como se usa en la presente memoria descriptiva, está previsto que signifique un compuesto que produce un efecto opuesto al de un agonista, aunque sin embargo actúa en el mismo receptor.

La expresión "agonista inverso" es sinónima de la expresión "antagonista negativo".

El término "antagonista", como se usa en la presente memoria descriptiva, está previsto que signifique un compuesto que atenúa el efecto de un agonista uniéndose en el mismo sitio que el agonista sin activar el receptor.

30 El término "quimiorradioterapia", como se usa en la presente memoria descriptiva, está previsto que signifique quimioterapia, terapia de radiación o ambas cosas.

El término "tratar" o "tratamiento", como se usa en la presente memoria descriptiva, está previsto que signifique (1) prevenir, reducir la gravedad o retrasar la aparición de un síntoma clínico de una afección, enfermedad, trastorno, lesión o estado que se desarrolla en un mamífero, de forma parcial o completa, que puede estar afectado o
35 predispuesto a la afección, enfermedad, trastorno, lesión o estado, pero que todavía no experimenta o muestra los síntomas clínicos o subclínicos de la afección, enfermedad, trastorno, lesión o estado, (2) inhibir la afección, enfermedad, trastorno, lesión o estado de forma parcial o completa, es decir, detener o reducir el desarrollo de la afección, enfermedad, trastorno, lesión o estado de al menos un síntoma clínico o subclínico del mismo, o (3) aliviar e la afección, o reducir la gravedad de la enfermedad, trastorno, lesión o estado, de forma parcial o completa, es
40 decir, provocando una regresión de la afección, enfermedad, trastorno, lesión o estado de al menos un síntoma clínico o subclínico del mismo.

El término "suministrar", como se usa en la presente memoria descriptiva, está previsto que signifique proporcionar una cantidad terapéuticamente eficaz de un antagonista de RAR o un agonista inverso de RAR capaz de unirse a receptores del tipo RAR α , RAR β y RAR γ para una ubicación particular en un mamífero, provocando una concentración terapéuticamente eficaz del antagonista de RAR o agonista inverso de RAR que se une a los receptores de tipo RAR α , RAR β y RAR γ en la ubicación particular.

Los términos "sujeto" o "paciente" o "hospedante" o "mamífero", como se usan en la presente memoria descriptiva, se refieren a animales mamíferos, que incluyen seres humanos.

El término "alquilo", usado solo o como parte de un resto mayor, tal como "alcoxi", e "hidroxialquilo", significa un grupo alifático saturado que contiene de uno a diez átomos de carbono. Los grupos alquilo de cadena lineal saturados representativos incluyen metilo, etilo, n-propilo, n-butilo, n-pentilo y similares; mientras que los alquilos ramificados saturados incluyen isopropilo, sec-butilo, isobutilo, terc-butilo, isopentilo y similares. La expresión "alquilo inferior" describe un alquilo que contiene de uno a seis átomos de carbono. Los grupos alqueno y alquino son grupos alifáticos insaturados y contienen al menos un enlace doble o triple entre átomos de carbono contiguos. Los alquenos de cadena lineal y ramificada representativos incluyen etileno, propileno, 1-butenilo, 2-butenilo, isobuteno, 1-pentenilo, 2-pentenilo, 3-metil-1-butenilo, 2-metil-2-butenilo y similares; mientras que los alquinos de cadena lineal y ramificada representativos incluyen acetileno, propino, 1-butino, 2-butino, 1-pentino, 2-pentino, 3-metil-1-butino y similares.

El término "cicloalquilo" significa un resto hidrocarburo cíclico saturado e incluye ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo o ciclohexilo. Los cicloalquilos pueden incluir también sistemas de anillos carbocíclicos, como sistemas de anillos bi- y tricíclicos que tienen de 8 a 10 átomos de carbono, como un cicloalquilo (por ejemplo, ciclopentano o ciclohexano) condensado a uno o más anillos aromáticos (como fenilo) o no aromáticos (como ciclohexano).

Los términos "heteroarilo", "heteroaromático", "anillo heteroaromático" y "grupo heteroarilo" usados solos o como parte de un resto mayor, se refieren a los grupos de anillos heteroaromáticos que tienen normalmente de cinco a catorce miembros, que incluyen anillos heteroaromáticos monocíclicos y anillos aromáticos policíclicos en los que un anillo heteroaromático monocíclico está condensado a uno o más de otros anillos aromáticos carbocíclicos o heteroaromáticos. Los grupos heteroarilo tienen uno o más, normalmente 1, 2 o 3 heteroátomos en el anillo, como nitrógeno, oxígeno y azufre.

La "composición farmacéutica" de los compuestos descritos en la presente memoria descriptiva, y sus sales, solvatos e hidratos farmacéuticamente aceptables, pueden ser usados en preparaciones farmacéuticas en combinación con un vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable. Los vehículos farmacéuticamente aceptables adecuados incluyen materiales de carga sólidos inertes o diluyentes y soluciones acuosas u orgánicas esterilizadas. El compuesto SARM estará presente en estas composiciones farmacéuticas en cantidades suficientes para proporcionar de dosificación deseada en el intervalo descrito en la presente memoria descriptiva. Las técnicas para la formulación y administración de los compuestos de la presente invención se pueden encontrar en la publicación Remington: Science and Practice of Pharmacy, 19th edition, Mack Publishing Co., Easton, PA (1995).

Las sales farmacéuticamente aceptables están también incluidas como realizaciones de la presente invención.

"Sal farmacéuticamente aceptable" es una sal de un compuesto que contiene cualquier grupo funcional ácido o básico. Por ejemplo, una sal farmacéuticamente aceptable de una amina u otro grupo básico puede ser obtenida haciendo reaccionar el compuesto con un ácido orgánico o inorgánico, como cloruro de hidrógeno, bromuro de hidrógeno, ácido acético, ácido perclórico y similares. Otros ejemplos de estas sales incluyen hidroclouros, hidrobromuros, sulfatos, metanosulfonatos, nitratos, maleatos, acetatos, citratos, fumaratos, tartratos [por ejemplo, (+)-tartratos, (-)-tartratos o sus mezclas, incluyendo las mezclas racémicas], succinatos, benzoatos y sales con aminoácidos como ácido glutámico.

Las sales farmacéuticamente aceptables de compuestos que contienen un grupo funcional de ácido carboxílico u otro ácido se pueden preparar mediante reacción con una base adecuada. Esta sal farmacéuticamente aceptable se puede preparar con una base que proporcione un catión farmacéuticamente aceptable, que incluye sales de metales alcalinos (especialmente de sodio y potasio), sales de metales alcalinotérreos (especialmente de calcio y magnesio), sales de aluminio y sales de amonio. Así como sales preparadas a partir de bases orgánicas fisiológicamente aceptables como trimetilamina, trietilamina, morfina, piridina, piperidina, picolina, dicitlohexilamina, N,N'-dibenciletilenodiamina, 2-hidroxi-etilamina, bis-(2-hidroxi-etil)amina, tri-(2-hidroxi-etil)amina, procaína, dibencilpiperidina, N-benzil- β -fenetilamina, deshidoabietilamina, N,N'-bisdeshidoabietilamina, glucamina, N-metilglucamina, colidina, quinina, quinolina y aminoácidos básicos como lisina y arginina.

Los compuestos antagonistas de RAR y agonistas inversos de RAR se unen a receptores de los subtipos RAR α , RAR β y RAR γ para ser usados según la presente invención pueden ser incorporados en una composición farmacéutica. Están contemplados todos los modos de administración, por ejemplo, por vía oral, rectal, parenteral, tópica o mediante inyección intravenosa, intramuscular, intraestomal o subcutánea o en una forma adecuada mediante inhalación. Las formulaciones se pueden presentar convenientemente, cuando sea apropiado, en unidades de dosificación discretas y pueden ser preparadas mediante cualquiera de los métodos bien conocidos en la técnica

de farmacia. Los compuestos se formularán normalmente con uno o más ingredientes farmacéuticamente aceptables de acuerdo con la práctica conocida y establecida. Por lo tanto, la composición farmacéutica puede ser formulada como una solución líquida, en polvo, de elixir o inyectable, suspensión, supositorio, etc.

5 Las formulaciones para uso oral pueden ser proporcionadas como comprimidos o cápsulas duras en las que los compuestos se mezclan con un diluyente sólido inerte como carbonato de calcio, fosfato de calcio o caolín o como cápsulas de gelatina blanda en las que los ingredientes activos se mezclan con agua o disolventes miscibles como propilenglicol, PEGs y etanol, o un medio oleaginoso, por ejemplo, aceite de cacahuete, parafina líquida o aceite de oliva.

10 Para una administración tópica en la boca, las composiciones farmacéuticas pueden adoptar la forma de un comprimido bucal o sublingual, gotas o pastillas formuladas de manera convencional.

Para una administración tópica a la epidermis, los compuestos pueden ser formulados como cremas, geles, ungüentos o lociones o como parches transdérmicos. Estas composiciones se pueden formular, por ejemplo, con una base acuosa u aceitosa con la adición de agentes espesantes, gelificantes, emulsionantes, estabilizantes, dispersantes, suspensores y/o colorantes adecuados.

15 Los compuestos se pueden formular también como preparaciones de depósito. Estas formulaciones de actuación prolongada pueden ser administradas mediante implantación (por ejemplo, por vía subcutánea o intramuscular) o mediante inyección intramuscular. Por tanto, por ejemplo, los compuestos pueden ser formulados con materiales polímeros o hidrófobos adecuados (por ejemplo, como una emulsión en un aceite aceptable) o resinas de intercambio iónico, o como derivados escasamente solubles, por ejemplo, como una sal escasamente soluble.

20 Los compuestos pueden ser formulados para una administración parenteral mediante inyección, convenientemente inyección intravenosa, intramuscular o subcutánea, por ejemplo, mediante inyección de bolo o infusión intravenosa continua. Las formulaciones para inyección se pueden presentar en una dosificación unitaria a partir, por ejemplo, de ampollas o recipientes de dosis múltiples, con un conservante añadido. Las composiciones farmacéuticas pueden adoptar formas como suspensiones, soluciones o emulsiones en vehículos aceitosos o acuosos y pueden contener
25 agentes formuladores como agentes suspensores, estabilizantes y/o dispersantes. Alternativamente, los compuestos pueden estar en forma de polvo para su constitución con un vehículo adecuado, por ejemplo, agua exenta de pirógenos, antes del uso.

Los compuestos pueden ser formulados también en composiciones rectales como supositorios o enemas de retención que contienen, por ejemplo, bases para supositorios convencionales como manteca de cacao u otro glicérido.
30

Para una administración intranasal, los compuestos pueden ser usados, por ejemplo, como una pulverización líquida, como un polvo o en la forma de gotas.

35 Para una administración mediante inhalación, los compuestos pueden ser convenientemente suministrados en la forma de una presentación de pulverización en aerosol a partir de envases presurizados o un nebulizador, con el uso de un propelente adecuado, por ejemplo, diclorodifluorometano, triclorofluorometano, diclorotetrafluoroetano, tetrafluoroetano, heptafluoropropano, dióxido de carbono u otro gas adecuado. En el caso de un aerosol presurizado, la unidad de dosificación puede ser determinada para proporcionar una válvula para el suministro de una cantidad medida. La cápsulas y cartuchos de, por ejemplo, gelatina para un uso en un inhalador o aislador
40 pueden ser formulados para que contengan una mezcla en polvo del compuesto retinoide y una base de polvo adecuada, como lactosa o almidón.

Las suspensiones acuosas pueden incluir excipientes farmacéuticamente aceptables como agentes suspensores, por ejemplo, carboximetil-celulosa de sodio, metilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, alginato de sodio, polivinilpirrolidona, goma de tragacanto y goma arábiga; agentes dispersantes o humectantes como fosfátidos que se producen de forma natural, por ejemplo, lecitina, o productos de condensación de un óxido de alquileño con
45 ácidos grasos, por ejemplo, poli(estearato de oxietileno) o productos de condensación de óxido de etileno con alcoholes alifáticos de cadena larga, por ejemplo, heptadecaetileno-oxicetanol o productos de condensación de óxido de etileno con ésteres parciales derivados de ácidos grasos y hexitol, por ejemplo, polioxietileno-monooleato de sorbitol o productos de condensación de óxido de etileno con ésteres parciales derivados de ácidos grasos y anhídridos de hexitol, por ejemplo, polioxietileno-monooleato de sorbitán. Las suspensiones acuosas pueden contener
50 también uno o más conservantes, por ejemplo, p-hidroxibenzoato de etilo o n-propilo, uno o más agentes colorantes, uno o más agentes para dar sabor y uno o más agentes edulcorantes, como sacarosa, sacarina o ciclamato de sodio o calcio.

Además los compuestos antagonistas de RAR y agonistas inversos de RAR que se unen a receptores de los subtipos RAR α , RAR β y RAR γ , al menos otra sustancia farmacológicamente activa, por ejemplo, un analgésico no
55 narcótico como tramadol, acetaminofeno, aspirina, diclofenaco, diflusinal, etodolaco, fenbufeno, fenoprofeno, flufenisal, flurbiprofeno, ibuprofeno, indometacina, cetoprofeno, ceterolaco, ácido meclofenámico, ácido mefenámico, nabumetona, naproxeno, oxaprozina, fenilbutazona, piroxicam, sulindaco, tolmetina, zomepiraco y similares y sus combinaciones o un analgésico narcótico como codeína, oxicodona, dihidrocodeína, hidrocodona, levorfanol, morfina

y similares y sus combinaciones, u otros agentes como, por ejemplo, G-CSF, GM-CSF, EGF, interleucina 11, eritropoyetina, trombopoyetina, factor de desarrollo de megacariocitos y de crecimiento, pixiquinas, factor de células madre, ligando FLT así como interleucinas 1, 3, 6 y 7 y similares y sus combinaciones, pueden ser administrados con los compuestos antagonistas RAR y agonistas inversos de RAR que se unen a receptores de los subtipos RAR α , RAR β y RAR γ .

Concentración terapéutica será la concentración que es eficaz para tratar, por ejemplo, los efectos secundarios de quimiorradioterapia en un mamífero, preferentemente un ser humano. Estas cantidades pueden ser determinadas por un experto en la técnica.

Lo que sigue son ejemplos no limitativos de la presente invención. Los ejemplos no se deben considerar como una limitación del alcance de la invención como se define en las reivindicaciones.

Cada uno de los siguientes ejemplos usa ácido 4-2-[6-(2,2-dimetil-(1H)-4-(4-etilfenil)-1-benzotipiran)]etnil]benzoico (VTP 194310 y anteriormente denominado AGN 194310) sintetizado por la empresa Allergan Inc. (Irvine, CA) y es un antagonista de pan-RAR específico. La estructura de VTP 194310 se muestra con anterioridad. La K_i de VTP 194310 para unirse a RAR α , β y γ es de 3, 2 y 5 nM, respectivamente. El VTP 194310 no muestra actividad en ensayos de transactivación, pero en lugar de ello bloquea la actividad transcripcional génica inducida por ATRA y otros agonistas de RAR. El VTP 194310 y el ATRA se almacenaron como soluciones madre 10 mM en 50% de etanol/50% de dimetilsulfóxido (DMSO) a -20 °C.

Ejemplo 1

Recuperación de neutrófilos y linfocitos en un modelo leucopenia de ratón inducida por ciclofosfamida

Ratones

Ratones adquiridos de los laboratorios Charles River (Wilmington, MA) se alojaron en jaulas microaisladoras individualmente en un ciclo de 12 horas de luz/oscuridad. Fueron alojados bajo condiciones exentas de patógenos y recibieron una dieta estándar normal y agua *ad libitum*. Fueron aclimatados durante una semana en la instalación de animales acreditada de la entidad Association for Assessment and Accreditation of Laboratory Animal Care (AAALAC) (Allergan Inc., Irvine, CA) antes de los experimentos. Los diseños del estudio fueron aprobados por la entidad Institutional Animal Care and Use Committee. Los pesos corporales fueron verificados durante cada estudio. El peso de los ratones estuvo en el intervalo de 22-27 g en el día de inicio del tratamiento. Los ratones estaban sanos y no utilizados previamente en otros procedimientos experimentales.

Modelo leucopenia *in vivo*

Se indujo leucopenia en ratones BDF1 machos (C57B1 x DBA2, 7,5-12 semanas) mediante una inyección intraperitoneal (i.p.) de 200 mg/kg de ciclofosfamida (CPM, Sigma-Aldrich, Saint Louis, MO) en 0,2 ml de solución salina. El efecto de VTP 194310 sobre la recuperación de leucocitos se evaluó mediante sonda por vía oral de animales con 1 mg/kg de VTP 194310 como se indica en la sección de resultados. Se diluyó VTP 194310 (disuelto en DMSO) a través de aceite de cacahuete como vehículo (dosificado a 5 ml/kg). A los ratones testigo se les proporcionó DMSO y vehículo solo. Como testigo positivo se estimuló una granulocitopoyesis en ratones tratados con CPM mediante una inyección subcutánea única de 10 μ g/kg de estimulador de colonias de granulocitos humanos de metionilo recombinantes pegilados (PEG-r-metHuG-CSF) (Neulasta, Pegfilgrastim; Amgen, Thousand Oaks, CA) en el día 2. Se realizaron tres experimentos separados.

Se recogió sangre periférica (60 μ l) bajo anestesia a partir del seno retroorbital de los ratones con tubos de capilaridad heparinizados y se transfirió a tubos microtainer revestidos con EDTA (Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ). Se obtuvieron recuentos de glóbulos blancos, neutrófilos y linfocitos para al menos tres ratones por grupo diluyendo la sangre 1:4 con PBS que contenía albúmina de suero bovino al 5% (Fraction V; Sigma, Saint Louis, MO), y usando un sistema de hematología Advia 120 (Bayer HealthCare Diagnostics Division, Tarrytown, NY).

Se identificaron neutrófilos inmaduros (Gr-1^{bajo}/CD11b^{+ve}) y maduros (Gr-1^{+ve}/CD11b^{+ve}) en suspensiones de células únicas preparadas a partir de aspirados bazo y médula ósea (fémur) mediante inmunotinción doble usando anticuerpos monoclonales conjugados PE y FITC (Pharmingen, San Diego, CA). Las células se analizaron en un dispositivo FACS Calibur en interfase con un programa de ordenador CellQuest Pro (Becton Dickinson, San Jose, CA).

Resultados

Como muestran los resultados, el uso de VTP 194310 mejoró la recuperación de leucocitos en un modelo de leucopenia de ratón inducida con ciclofosfamida. El tratamiento de ratones con una dosis única de CPM a 200 mg/kg dio lugar a una leucopenia y neutropenia profundas en el día 4. Los recuentos de leucocitos y neutrófilos en la sangre del grupo de ratones tratados con CPM fueron de $0,69 \pm 0,09$ (SEM) $\times 10^3/\mu$ l y $0,09 \pm 0,02 \times 10^3/\mu$ l, respectivamente, en comparación con valores de $8,98 \pm 0,33 \times 10^3/\mu$ l y $1,34 \pm 0,09 \times 10^3/\mu$ l para ratones normales (los datos del grupo testigo normal no se muestran). Como se muestra en la figura 1, los recuentos de leucocitos,

neutrófilos y linfocitos se elevaron estacionariamente en ratones tratados con CPM hasta alcanzar valores de plataforma en el día 8.

La administración de VTP 194310 en los días -4 a -1 y en los días 0 a 3 a ratones tratados con CPM (en el día 0) mejoró la recuperación de leucocitos de dos formas. Los recuentos de leucocitos y neutrófilos se elevaron rápidamente en los ratones tratados con VTP 194310 en comparación con el grupo de control de ratones leucopénicos. Se observaron diferencias significativas de recuperación tempranas en el día 5 posterior a CPM. En el día 8, los recuentos de leucocitos y neutrófilos en la sangre de ratones neutropénicos tratados con VTP 194310 fueron ~ 3 veces mayores en los ratones tratados con CPM solamente (véase la fig. 1). La administración de VTP 194310 a ratones leucopénicos en los días 4 a 7 mejoró los números de leucocitos y neutrófilos generados, pero no hasta un alcance que fuera considerablemente mejor que el que proporcionó VTP 194310 anteriormente. El tratamiento de ratones leucopénicos con Peg-r-metHuG-CSF (en el día 2) condujo a una elevación brusca del número de neutrófilos sanguíneos. Los niveles de estas células alcanzaron un valor pico en el día 7 y disminuyeron en el día 8 hasta números que se observaron en el grupo testigo de ratones leucopénicos (véase la fig. 1).

Los ratones leucopénicos a los que se proporcionó VTP 194310, en los días -4 a -1 y los días 0 a 3 mostraron un número aumentado de linfocitos en su sangre en comparación con los ratones leucopénicos testigo y estos ratones que recibieron Peg-r-metHuG-CSF. En el día 8, los recuentos de leucocitos para los ratones tratados con VTP 194310 fueron de $4,53 \pm 0,39 \times 10^3/\mu\text{l}$ (VTP 194310, días -4 a -1) y $4,49 \pm 0,52 \times 10^3/\mu\text{l}$ (VTP 194310, días 0 a 3) en comparación con $2,38 \pm 0,26 \times 10^3/\mu\text{l}$ (valores de $p < 0,01$) para ratones testigo en recuperación.

Ejemplo 2

Recuperación de neutrófilos en cultivos de células progenitoras CD34⁺ humanas

Crecimiento de células HL60 y valoración de la diferenciación

Se sembraron cultivos de la línea celular promieloide HL60 a $2,5 \times 10^5$ células/ml en 4 ml de medio RPMI1640 (Invitrogen, Paisley, Reino Unido) que contenían suero bovino fetal al 10% (FBS, Invitrogen, Paisley, Reino Unido), penicilina (100 U/ml) y estreptomycin (100 µg/ml). La diferenciación se midió mediante la capacidad de las células para reducir nitroazul de tetrazolio, expresión adquirida del marcador de maduración temprano CD11b y actividad aumentada de sulfatasa esteroide (un marcador de maduración mielóide).

Aislamiento y cultivo de células progenitoras hematopoyéticas CD34⁺ humanas

Células de leucoforesis de sangre con aprobación de comités éticos de un adulto con células madre movilizadas fueron proporcionadas después de un consentimiento informado por el laboratorio National Blood Service Stem Cell Laboratory, Birmingham. Se purificaron células CD34⁺ mediante el uso de un anticuerpo monoclonal anti-CD34 con gránulos inmunomagnéticos en un separador magnético ClineMACS.

Las células se dispusieron en placas en una placa de microtitulación de 96 pocillos a 5×10^5 células/ml en 200 µl de medio RPMI 1640 que contenía FBS al 10%, antibióticos (100 U/ml de penicilina y 100 µg/ml de estreptomycin) y cantidades de factor de células madre humanas recombinantes (SCF), interleucina 3 humana recombinante (IL3), factor estimulador de colonias de granulocitos humanos recombinantes (G-CSF) y el VTP 194310 antagonista de pan-RAR como se indica en los resultados. El SCF, IL3 y G-CSF se obtuvieron de la entidad R and D Systems, Abingdon, Reino Unido. Se establecieron cultivos por triplicado para cada estado. Los cultivos se alimentaron y se dividieron en primer lugar en pocillos de microtitulación y seguidamente como cultivos de 2 ml en pocillos Costar, con el fin de mantener la densidad celular entre $2,5$ y 10×10^5 células/ml. Las células se hicieron crecer a 37 °C en un incubador humidificado y una atmósfera de 5% de CO₂.

Una concentración 100 nM del VTP 194310 antagonista de pan-RAR bloqueó completamente la capacidad de ATRA 100 nM para inducir la diferenciación de neutrófilos de células HL60. El tratamiento de las células HL60 durante 5 días con ATRA 100 nM condujo a una detención del crecimiento, adquisición de la capacidad para reducir nitroazul de tetrazolio, expresión de CD11b y actividad de la sulfatasa esteroide aumentada. Todos estos valores fueron anulados cuando se administró conjuntamente VTP 194310 100 nM con ATRA (véase la fig. 2).

La figura 3 muestra los efectos de VTP 194310 10 y 100 nM sobre el crecimiento y la diferenciación espontánea de células progenitoras hematopoyéticas CD34⁺ purificadas (> 99%). Las células CD34⁺ se cultivaron en cantidades de SCF (100 ng/ml) e IL3 (20 ng/ml) que aseguraron la supervivencia. Se usaron también condiciones que son rutinariamente en el laboratorio para generar números óptimos de neutrófilos y monocitos a partir de células progenitoras mieloides en cultivos en suspensión líquida. Estos son 100 ng/ml de SCF, 5 ng/ml de IL3 y 30 ng/ml de G-CSF.

Para determinar si VTP 194310 bloqueó los RAR y cualesquiera efectos de retinoides del suero, se tiñeron células para la expresión de glucoproteína de membrana CD38. La CD38 es inducida por retinoides, bajo el control directo de RARα y aumenta durante la diferenciación mielóide, aunque en la diferenciación de células CD34⁺ y la inducción de CD38 no están funcionalmente relacionadas. Prus *et al.* han demostrado que el VTP 194310 inhibe la expresión de CD38 mediante células hematopoyéticas humanas *in vitro*. Prus, *et al.*, Retinoic Acid Receptor

Anatgonist Inhibits CD38 Antigen Expression on Human Hematopoeitic Cells In Vitro, LEUKAEMIA & LYMPHOMA, 45, 1025-1035 (2004). En el día 6, un $35 \pm 2\%$ ($n = 4$) de células expresaron CD38 en cultivos crecidos en SCF/IL3 (a 20 ng/ml) en comparación con $39 \pm 4\%$ ($n = 4$) cuando las células se hicieron crecer en estas condiciones más VTP 194310 (10 y 100 nM). En ausencia de VTP 194310, la expresión de CD38 aumentó hasta $50 \pm 2\%$ ($n = 3$) en el día 15 y hasta $72 \pm 1\%$ ($n = 4$) en el día 27. En presencia de VTP 194310 (10 y 100 nM), la expresión de CD38 cayó hasta $15 \pm 3\%$ ($n = 4$) en el día 15 y al $6 \pm 1\%$ ($n = 4$) en el día 27.

El VTP 194310 (10 y 100 nM) y el G-CSF aumentaron sustancialmente el periodo de vida de los cultivos así como el número de células producidas. Mientras que los cultivos tratados con SCF/IL3 habían casi expirado en el día 33 (densidad celular $0,6 \times 10^5$ /ml), los cultivos que fueron tratados con VTP 194310 (10 y 100 nM)/SCF/IL3 o G-CSF/SCF/IL3 producían todavía grandes números de células (Fig. 2A, recuadro superior). Las densidades celulares estaban en niveles bajos ($0,5$ a $1,5 \times 10^5$ células/ml) en estos cultivos en el día 55. Los cultivos complementados con VTP 194310 100 nM generaron células a una velocidad ligeramente inferior a la de otros cultivos (véase la fig. 3A), y en el día 33 habían producido ligeramente menos células en total ($2,9 \times 10^7 \pm 0,2$, $n = 4$) que los cultivos complementados con VTP 194310 10 nM ($4,0 \times 10^7 \pm 0,2$, $n = 4$) o G-CSF ($3,8 \times 10^7 \pm 0,5$, $n = 4$).

Las células generadas en cada una de las condiciones de cultivo y durante todo el experimento fueron predominantemente mieloides (fig. 3B, recuadros inferiores). El compartimento eritroide (glucoforina⁺/CD45⁺) era pequeño (de 9 a 14% en el día 6) y desapareció gradualmente en ausencia de factores de crecimiento y supervivencia apropiados, como eritropoyetina (fig. 3B). El VTP 194310 no tuvo un efecto significativo sobre la frecuencia de células eritroides. No se observaron células progenitoras linfoides y linfocitos maduros para ningún alcance significativo en los cultivos.

Las células CD34⁺ cultivadas en SCF/IL3 maduraron completamente el día 22, de las que un $49 \pm 4\%$ de células eran neutrófilos (CD65⁺/CD11b⁺ y como CD15⁺) y un $53 \pm 8\%$ de células eran monocitos (CD14⁺/CD11b⁺). Las células mieloides inmaduras, identificadas como CD33⁺/CD15⁻/CD14⁻ estaban ausentes de los cultivos en el día 19. Cuando las células se cultivaron en G-CSF/SCF/IL3 se generaron números iguales de neutrófilos y monocitos, pero en cantidades mucho mayores que cuando se usaron SCF/IL3 (fig. 3A). En el día 22, los cultivos de G-CSF/SCF/IL3 contenían ampliamente neutrófilos y monocitos maduros (en comparación el número de células y números de neutrófilos y monocitos en la fig. 3A).

El efecto de añadir VTP 194310 10 nM y 100 nM al uso de SCF/IL3 para el cultivo de células CD34⁺ fue aumentar el número de neutrófilos generados (compárense los dos recuadros inferiores en la fig. 3A). A este respecto, el VTP 194310 10 nM fue más eficaz que VTP 194310 100 nM. El número acumulado de monocitos no se vio significativamente afectado por la presencia de VTP 194310 (fig. 3A). Una inspección visual de los cultivos tratados con VTP 194310 entre los días 20 y 30 puso de manifiesto que las células blásticas eran predominantes en los cultivos y unos análisis de marcadores mostraron que una proporción sustancial de las células no habían madurado a neutrófilos o monocitos. Entre los días 19 y 29, los neutrófilos estaban presentes a niveles de $33\% \pm 2$ (VTP 194310 10 nM) y $30\% \pm 5$ (VTP 194310 100 nM) y monocitos a niveles de $32\% \pm 4$ (VTP 194310 10 nM) y $21\% \pm 5$ (VTP 194310 100 nM). Un examen de todos los análisis de FACS dobles y triples hizo posible identificar dos poblaciones de células que habían persistido en los cultivos tratados con VTP 194310. Estas eran células que expresaban el receptor para SCF y que eran CD34⁻, y células mieloides inmaduras identificadas como CD33⁺/CD15⁻/CD14⁻ (fig. 3B). Estas poblaciones celulares estaban presentes hasta un alcance mayor en los cultivos tratados con VTP 194310 100 nM en comparación con cultivos tratados con VTP 194310 10 nM. El VTP 194310 no afectó al número y la persistencia de células CD34⁺ en cultivo (fig. 3B). Estos análisis de marcadores son acordes con la noción de que la producción aumentada de neutrófilos en cultivos tratados con VTP 194310 se relaciona con una expansión de poblaciones precursoras mieloides y una ralentización de la diferenciación de neutrófilos.

Los granulocitos maduros a partir de ratones tratados con VTP 194310 y testigo experimentan apoptosis a velocidades similares ex vivo. Análogamente, se observó que los neutrófilos experimentaron apoptosis a velocidades iniciales cuando se cultivaron leucocitos de sangre periférica humana (preparada por sedimentación en dextrano) en medio RPMI 1640 complementado con FBS al 10% y este medio que contenía VTP 194310 10 nM y 100 nM. En cada una de estas condiciones y en el día 1, un 65% a 70% de los neutrófilos eran apoptóticos, según se observó mediante tinción con naranja de acridina de material nuclear y mediante microscopía de fluorescencia. La totalidad los neutrófilos habían muerto en el día 2.

Ejemplo 3

Recuperación de neutrófilos y linfocitos periféricos y sistémicos en un modelo de leucopenia de ratón inducida por ciclofosfamida

Se examinó si la recuperación de neutrófilos accionada por VTP 194310 en ratones leucopénicos era sistémica observando los niveles de neutrófilos (células Gr1⁺/CD11b⁺) en el bazo y médula ósea. Estos ratones fueron sondados con VTP 194310 en los días -1 a 2 en relación con el tratamiento de CPM.

Resultados

Como muestran los datos, los recuentos de neutrófilos y linfocitos se elevaron significativamente en ratones tratados con VTP 194310 en los días 6 a 8, en comparación con los ratones de recuperación testigo (véase la figura 4A). El peso del bazo estaba aumentado en los días 7 y 8 en los ratones tratados con VTP 194310 en comparación con los testigos. El número absoluto de células Gr-1⁺ve /CD11b⁺ve estaba significativamente aumentado en el bazo de ratones tratados con VTP 194310 en los días 6 y 7 (véase la figura 4B). Adicionalmente, los granulocitos inmaduros, identificados como Gr-1^{bajo}/CD 11b⁺ve estaban elevados en el bazo de ratones tratados con VTP 194310 en los días 6 y 7. El número absoluto de estas células en el día 7 fue de $0,93 \pm 0,02 \times 10^7$ en ratones tratados con VTP 194310 en comparación con $0,46 \pm 0,13 \times 10^7$ en ratones testigo ($p = 0,02$). Hubo también un predominio aumentado de células Gr-1⁺ve/CD11b⁺ve en la médula ósea de ratones tratados con VTP 194310 (véase la figura 4C). Por tanto, la recuperación de neutrófilos que fue provocada por VTP 194310 es sistémica.

Ejemplo 4

Medición del efecto protector de VTP 194310 frente a infección de *S. aureus* en ratones leucopénicos

Se usó *S. aureus* 29213 obtenido de la entidad American Type Culture Collection (ATCC) (Rockville, Md.) para inducir infecciones en ratones BDF1 hembras leucopénicos (20-22 g). Se cultivaron *S. aureus* a 37 °C en caldo de soja triptico hasta la fase logarítmica media de crecimiento (densidad óptica a 600 nm = 0,3), se recolectaron y se lavaron con PBS. El número de bacterias se enumeró mediante dilución en serie con PBS, se colocó en placas sobre agar con sangre y se hizo un recuento de unidades formadoras de colonias (CFU) 48 horas después de la incubación a 37 °C. La suspensión se ajustó a 10⁶ CFU/ml.

Los ratones se hicieron leucopénicos mediante inyección i.p. de CPM a 200 mg/kg. Se determinó una dosis letal (LD) de *S. aureus* mediante inyecciones intravenosas de 1×10^3 hasta 1×10^8 UFC a grupos de 10 ratones 4 días después del tratamiento con CPM. Se contaron los supervivientes de 10 días y se calculó la LD₉₅ de *S. aureus* mediante análisis de probabilidades. Se comenzó un tratamiento con VTP 194310 (a 1 mg/kg) un día antes del CPM y se continuó durante 3 días más. Cuatro días después del CPM, los animales se infectaron por vía intravenosa con $4,1$ y $2,5 \times 10^6$ UFC de *S. aureus* en 200 µl de PBS. Se registraron los animales supervivientes diariamente durante 14 días después de la prueba. Había 12 ratones por estado y el carácter significativo del efecto protector de VTP 194310 se determinó mediante el ensayo de Logrank (GraphPad Prism versión 3.0, GraphPad Software, Inc., San Diego, California). Todos los experimentos se realizaron de conformidad con la legislación relevante y las normas institucionales y fueron aprobados por la entidad Animal Care and Use Committee.

Resultados

En este ejemplo, se investigó si la recuperación de neutrófilos mejorada en los ratones leucopénicos tratados con VTP 194310 era capaz de protegerlos de la infección proporcionando una dosis letal de *S. aureus* (véase la figura 5). El VTP 194310 se proporcionó el día antes del CPM, al mismo tiempo que el CPM y dos días después del CPM, y el *S. aureus* se inyectó el día 4 después del CPM. Los ratones que se les proporcionó CPM y $4,1 \times 10^6$ CFU de *S. aureus* murieron todos en el día 10. Solamente un 10% de los ratones que recibieron la dosis inferior de *S. aureus* sobrevivió y estos ratones murieron todos en el día 11. En el día 10, sobrevivió un 83% de los ratones que recibieron VTP 194310 y cada una de las dosis de *S. aureus*. El experimento se terminó en el día 14 y un 67% de los ratones que recibieron VTP 194310 y $2,5 \times 10^6$ CFU sobrevivió, mientras que un 42% de los ratones que recibieron VTP 194310 y la dosis inferior de bacterias sobrevivió. Consecuentemente, el tratamiento con VTP 194310 en comparación con los testigos tenía un efecto protector muy significativo contra la infección de *S. aureus* (valor de $p = 0,0031$ para ratones infectados con $4,1 \times 10^6$ CFU de *S. aureus*; valor de $p < 0,0001$ para ratones infectados con $2,5 \times 10^6$ CFU de *S. aureus*).

La supervivencia de los ratones tratados con VTP 194310 a los que se proporcionó *S. aureus* no fue debida a la actividad de VTP 194310 contra *S. aureus*. El compuesto se analizó a una concentración apropiada en varios ensayos para determinar la actividad contra *S. aureus* EMRSA-16 252 y *S. aureus* MSSA 476. El crecimiento de bacterias sobre agar no fue inhibido por la presencia de VTP 194310 2 µM incorporado en el agar o cuando se añadieron 50 µl de VTP 194310 2 µM a un ensayo de difusión en pocillos en agar. Además, ninguna cepa mostró alteración alguna en la velocidad de crecimiento durante el crecimiento en cultivo líquido en presencia de VTP 194310 2 µM.

Ejemplo 5

Comparación de los efectos de una monoterapia y terapia de combinación de VTP 194310 y G-CSF pegilado sobre la recuperación de neutrófilos en ratones neutropénicos inducidos por CPM

El factor estimulador de colonias de granulocitos (G-CSF) es un factor clave que activa la recuperación de neutrófilos en la neutropenia y es usado clínicamente para el tratamiento de neutropenia grave inducida por quimioterapia. Por lo tanto, es importante comparar los efectos de una monoterapia de VTP 194310, una monoterapia de G-CSF y el uso combinado de VTP 194310 con G-CSF. La monoterapia con VTP 194310 (3 mg/kg, días -1 hasta 1) y G-CSF pegilado (10 µg/kg, día 2) mejoró la recuperación de neutrófilos con relación al testigo en ratones neutropénicos (150 mg/kg de CPM). El tratamiento de combinación con estas dosis y regímenes de VTP 194310 y G-CSF pegilado mejoró adicionalmente la velocidad de recuperación de neutrófilos. El efecto combinado de VTP 194310 y G-CSF

pegilado en la provocación de una elevación de neutrófilos en sangre fue significativamente mayor que la aditiva. Además, el VTP 194310 junto con G-CSF proporcionó una elevación de neutrófilos que fue sostenida durante más tiempo que cuando se usó G-CSF solo. Estos descubrimientos son acordes con la propuesta de que VTP 194310 está actuando con G-CSF durante la fase de recuperación.

5 Formulaciones

Se preparó solución madre en DMSO de VTP 194310 pesando VTP 194310 y disolviendo en DMSO (25 mg/1,33 ml de DMSO). Esta solución madre se mezcló con vehículo (39,2 ml de aceite de maíz + 0,8 ml de DMSO).

La solución de 3,0 mg/kg de VTP 194310 se preparó mezclando 39,2 ml de aceite de maíz + 0,8 ml de solución madre en DMSO de VTP 194310.

- 10 La solución de 1,0 mg/kg de VTP 194310 se preparó diluyendo la solución madre en DMSO de VTP 194310 con DMSO 1:3 (por ejemplo, 1 ml de DMSO + 0,5 ml de solución madre 4310) y combinando seguidamente 39,2 ml de aceite de maíz + 0,8 ml de la solución madre de VTP 194310 diluida.

Preparación de soluciones CPM:

- 15 La solución de 150 mg/kg de CPM se preparó pesando 187,5 mg de 5-FU y mezclando con 10 g de solución salina. Las soluciones de 1 y 10 µg/kg de PEG-G-CSF se preparando diluyendo solución madre de 6 mg/ml con PBS.

Ratones:

Se usaron ratones BDF1 machos (C57B1 x DBA2), de 7-8 semanas de edad (fecha de nacimiento: 01 de junio de 2006) en este experimento.

Muestras de sangre:

- 20 Se recogieron 35 µl de sangre (a través de la vena submandibular) según los valores de tiempo programados o hasta la recuperación completa de células sanguíneas y plaquetas. Las muestras de sangre se analizaron después de la dilución 1:5 con PBS-solución salina que contenía 2% de BSA (Fracción V) y EDTA 0,2 mM en el analizador hematológico Cell-DYN 3700 (Abbott Diagnostics).

Resultados

- 25 Cada grupo de ratones se trató con vehículo, VTP 194310 a 3 mg/kg, PEG-G-CSF a 1 o 10 µg/kg y CPM a 150 mg/kg. Los números medios de glóbulos blancos totales (WBC), neutrófilos, linfocitos, glóbulos rojos (RBC) y plaquetas y el error estándar (SE) para los datos obtenidos para cada grupo tratado se muestran en la figura 6.

- 30 Como se muestra en la figura 6B y la figura 7, la monoterapia con VTP 194310 a 1 o 3 mg/kg/día en los días -1 a 1 y PEG-G-CSF a 1 o 10 µg/kg en el día 2 mejoró la recuperación de neutrófilos relativa al testigo en ratones neutropénicos (inducidos mediante 150 mg/kg de CPM en el día 0). Los tratamientos de combinación con estas dosis y regímenes de VTP 194310 y PEG-G-CSF aumentaron adicionalmente la velocidad de recuperación de neutrófilos en comparación con la monoterapia con VTP 194310 o PEG-G-CSF. El efecto combinado de VTP 194310 y PEG-G-CSF para provocar una elevación de neutrófilos en sangre se mostraba aditivo o mayor. Además, el VTP 194310 junto con el PEG-G-CSF proporcionó una elevación de neutrófilos que fue sostenida durante más tiempo que cuando se usó solamente PEG-G-CSF. En conclusión, el VTP 194310 parece ser análogamente efectivo al PEG-G-CSF a 10 µg/kg para mejorar la recuperación de neutrófilos en el modelo de neutropenia de ratón inducida por CPM. El tratamiento de combinación con VTP 194310 y PEG-G-CSF aumentó adicionalmente la recuperación.

Ejemplo 6

- 40 Comparación de los efectos de monoterapia y terapia de combinación de VTP 194310 y G-CSF pegilado sobre la recuperación de neutrófilos en ratones neutropénicos inducidos por 5-FU

- 45 El factor estimulador de colonias de granulocitos (G-CSF) es un factor clave que activa la recuperación de neutrófilos en neutropenia y, por lo tanto, es usado para tratar neutropenia grave inducida por quimioterapia en pacientes. Es importante comparar el efecto de monoterapia de VTP 194310, monoterapia de G-CSF y los efectos combinados de VTP 194310 con G-CSF. En este caso se llevó a cabo un experimento usando un modelo de neutropenia de ratón diferente, a saber, inducido mediante de la administración de 150 mg/kg de 5-FU. El objetivo era investigar el efecto de VTP 194310 y PEG-G-CSF en el modelo de ratón de 5-FU. Una monoterapia con VTP 194310 (3mg/kg, días 2 hasta 4) mejoró la recuperación de neutrófilos como se observó previamente. La monoterapia con PEG-G-CSF a 10 µg/kg administrada en un día diferente (días 5, 6 o 7) tuvo poco efecto en la mejora de la recuperación de neutrófilos. Sin embargo, el tratamiento de combinación con las mismas dosis y regímenes de VTP 194310 y PEG-G-CSF aumentó significativamente la velocidad de recuperación de neutrófilos.

Formulaciones:

Se preparó una solución madre en DMSO de VTP 194310 pesando VTP 194310 y disolviéndolo en DMSO (25 mg/1,33 ml de DMSO).

La solución de vehículo se preparó mezclando 39,2 ml de aceite de maíz + 0,8 ml de DMSO.

5 La solución de 3,0 mg/kg de VTP 194310 se preparó mezclando 39,2 ml de aceite de maíz + 0,8 ml de solución madre en DMSO de VTP 194310.

La solución de 150 mg/kg de 5-FU se preparó pesando 187,5 mg de 5-FU y mezclándolos con 10 g de solución salina.

La solución de 10 µg/kg de PEG-G-CSF se preparó diluyendo solución madre de 6 mg/ml con PBS.

Ratones:

10 Se usaron en este experimento ratones machos BDF1 (C57B1 x DBA2), de 9 semanas de edad (fecha de nacimiento: 26 de junio de 2006).

Resultados

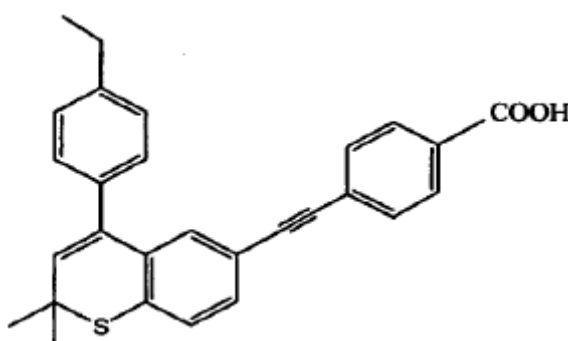
15 Cada grupo de ratones fue tratado con 150 mg/kg de 5-FU por vía intravenosa en el día 0, vehículo o VTP 194310 por vía oral mediante sonda a 3 mg/kg/día en los días 2 a 4 y/o por vía subcutánea con PEG-G CSF a 10 µg/kg en los días 5, 6 o 7 según los regímenes recogidos en la tabla. Los números medios de glóbulos blancos totales (WBC), neutrófilos, linfocitos, glóbulos rojos (RBC) y plaquetas y el error estándar (SE) de los datos obtenidos para cada grupo tratado se muestran en la figura 8. La administración de VTP 194310 a 3 mg/kg/día durante tres días en los días 2 a 4 es más eficaz que el PEG-G-CSF a 10 µg/kg proporcionado en los días 5, 6 o 7 para mejorar la recuperación de neutrófilos en el modelo de neutropenia de ratón inducido por 5-FU. El tratamiento de combinación con VTP 194310 y PEG-G-CSF parece que es más eficaz que cualquier monoterapia con VTP 194310 o con PEG-G-CSF para provocar la recuperación de neutrófilos en este modelo de neutropenia inducida por 5-FU.

25 Como se muestra en la figura 8B y en la figura 9, la monoterapia con VTP 194310 a 3 mg/kg/día en los días 2 a 4 mejoró la recuperación de neutrófilos, lo que es congruente con los resultados previamente obtenidos (RT-06-34). La monoterapia con PEG-G-CSF a 10 µg/kg en el día 5, 6 o 7 mostró poco efecto para mejorar la recuperación de neutrófilos con relación al testigo en ratones neutropénicos de 5-FU. Los tratamientos de combinación con las mismas dosis y regímenes de VTP 194310 y PEG-G-CSF aumentaron adicionalmente la velocidad de recuperación de neutrófilos en comparación con la monoterapia con VTP 194310.

Ejemplo 7

Síntesis de VTP 194310 (anteriormente denominado AGN 194310)

30 El VTP 194310 tiene la siguiente estructura química:



El compuesto ácido 4-[[4-(4-etilfenil)-2,2-dimetil-(2H)-tiocromen-6-il]-etnil]-benzoico puede ser sintetizado usando medios sintéticos orgánicos convencionales. El siguiente esquema de reacción es un método actualmente preferido para preparar este compuesto.

35 Etapa 1: En un tubo con tapa roscada de paredes gruesas se introdujo ácido 3-metil-2-butenicoico (13,86 g, 138,4 mmol), 4-metoxi-tiofenol (20,0 g, 138,4 mmol) y piperidina (3,45 g, 41,6 mmol). Esta mezcla se calentó a 10 °C durante 32 horas, se enfrió a temperatura ambiente y se disolvió en EtOAc (700 ml). La solución resultante se lavó con HCl acuoso 1 M, H₂O y NaCl acuoso saturado antes de ser secada sobre Na₂SO₄. La concentración de la solución seca bajo presión reducida proporcionó un aceite que, tras permanecer en reposo en el congelador, proporcionó un sólido cristalino. Se aisló ácido 3 (4-metoxi-fenilsulfanil)-3-metil-butírico en forma de cristales amarillos pálidos lavando el sólido cristalino con pentano. (27,33 g, 82%). ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) δ: 7,48 (2H, d,

40

J = 9,0 Hz), 6,89 (2H, d, J = 8,9 Hz), 3,83 (3H, s), 2,54 (2H, s), 1,40 (6H, s).

Etapa 2: A una solución de ácido 3-(4-metoxi-fenilsulfanil)-3-metil-butírico (20,0 g, 83,2 mmol) en 250 ml de benceno a temperatura ambiente se añadió una solución de cloruro de oxalilo (15,84 g, 124,8 mmol) en 10 ml de benceno durante 30 minutos. Después de 4 horas, la solución se lavó con NaOH acuoso al 5% enfriado en hielo (precaución: se libera un gran volumen de gas durante este procedimiento), seguido de H₂O enfriado con hielo y finalmente NaCl acuoso saturado. La solución se secó (Na₂SO₄) y se concentró bajo presión reducida para proporcionar un aceite amarillo transparente. Este material se usó sin purificación adicional en la siguiente etapa. ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) δ: 7,45 (2H, d, J = 8,8 Hz), 6,90 (2H, d, J = 8,8 Hz), 3,84 (3H, s), 3,12 (2H, s), 1,41 (6H, s).

Etapa 3: A una solución de producto de cloruro de acilo de la etapa 2 (21,5 g, 83,2 mmol) en 250 ml de CH₂Cl₂ a 0 °C se agregó gota a gota una solución de SnCl₄ (21,7 g, 83,2 mmol) en 30 ml de CH₂Cl₂. Después de 2 horas, la reacción se inactivó mediante la adición lenta de 150 ml de H₂O. La capa orgánica se lavó con HCl acuoso 1 M, NaOH acuoso al 5%, H₂O y finalmente NaCl acuoso saturado antes de ser secada sobre MgSO₄. Una concentración a presión reducida y destilación a vacío del aceite residual (matraz a matraz, 125-135 °C, 5 mm/Hg) proporcionó 14,48 g (78%) de 6-metoxi-2,2-dimetil-tiocroman-4-ona en forma de un aceite amarillo pálido. ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃): 7,62 (1H, d, J = 2,9 Hz), 7,14 (1H, d, J = 8,6 Hz), 7,03 (1H, dd, J = 2,8, 8,3 Hz), 3,83 (3H, s), 2,87 (2H, s), 1,46 (6H, s).

Etapa 4: A una solución de 6-metoxi-2,2-dimetil-tiocroman-4-ona (6,0 g, 27 mmol) en 50 ml de CH₂Cl₂ enfriado a -23 °C se añadió BBr₃ (20,0 g, 80,0 mmol; 80,0 ml de una solución 1M en CH₂Cl₂) durante un período de 20 minutos. Después de agitar durante 5 horas a -23 °C, la solución se enfrió a -78 °C y se inactivó mediante la adición lenta de 50 ml de H₂O. Tras calentar a temperatura ambiente, la capa acuosa se extrajo con CH₂Cl₂ y las capas orgánicas combinadas se lavaron con NaHCO₃ acuoso saturado, H₂O y NaCl acuoso saturado antes de ser secadas sobre MgSO₄. La separación de los disolventes bajo presión reducida proporcionó un sólido verde-marrón que una cristalización (Et₂O/hexanos), proporcionó 2,25 g (40%) de 6-hidroxi-2,2-dimetiltiocroman-4-ona en forma de un sólido marrón claro. ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃): 7,63 (1H, d, J = 2,8 Hz), 7,15 (1H, d, J = 8,5 Hz), 7,01 (1H, dd, J = 2,8, 8,5 Hz), 2,87 (2H, s), 1,46 (6H, s).

Etapa 5: A una solución de 6-hidroxi-2,2-dimetiltiocroman-4-ona (165,0 mg, 0,79 mmol) en 5,0 ml de piridina anhidra a 0 °C se añadió anhídrido trifluorometanosulfónico (245,0 mg, 0,87 mmol). Después de 4 horas a 0 °C, la solución se concentró y el aceite residual se disolvió en Et₂O, se lavó con H₂O seguido de NaCl acuoso saturado y se secó sobre MgSO₄. La separación de los disolventes bajo presión reducida y cromatografía en columna (5% de EtOAc/hexanos) produjo 126,0 mg (47%) de trifluorometanosulfonato de 2,2-dimetil-4-oxo-tiocroman-6-ilo en forma de un sólido incoloro. ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃): 7,97 (1H, s), 7,32 (2H, s), 2,90 (2H, s), 1,49 (6H, s).

Etapa 6: Una solución de trifluorometanosulfonato de 2,2-dimetil-4-oxo-tiocroman-6-ilo (2,88 g, 8,50 mmol) en 10 ml de Et₃N y 20,0 ml de DMF se purgó con argón durante 10 minutos. A esta solución se añadió trimetilsililacetileno (4,15 g, 42,0 mmol) y cloruro de bis(trifenilfosfina)-paladio (II) (298,0 mg, 0,425 mmol). La solución se calentó a 95 °C durante 5 horas, se enfrió a temperatura ambiente y se diluyó con H₂O. La extracción con EtOAc estuvo seguida de lavado de las capas orgánicas combinadas con H₂O y NaCl acuoso saturado y secado sobre MgSO₄. La concentración de la solución seca bajo presión reducida y el aislamiento del producto mediante cromatografía de columna (3% de EtOAc/hexanos) proporcionó 2,23 g (91%) de la 2,2-dimetil-6-trimetilsilaniletinitiocroman-4-ona en forma de un aceite color naranja. ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) δ: 8,18 (1H, d, J = 1,9 Hz), 7,34 (1H, dd, J = 1,9, 8,1 Hz), 7,15 (1H, d, J = 8,1 Hz), 2,85 (2H, s), 1,45 (6H, s), 0,23 (9H, s).

Etapa 7: Una solución de 2,2-dimetil-6-trimetilsilaniletinitiocroman-4-ona (110,0 mg, 0,38 mmol) y K₂CO₃ (40,0 mg, 0,29 mmol) en 10,0 ml de MeOH se agitó durante una noche a temperatura ambiente. La solución se diluyó con H₂O y se extrajo con Et₂O. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con H₂O y NaCl acuoso saturado y se secaron sobre MgSO₄. La separación del disolvente bajo presión reducida proporcionó 81 mg (99%) de la 6-etinil-2,2-dimetiltiocroman-4-ona en forma de un aceite color naranja. ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃): 8,20 (1H, d, J = 1,9 Hz), 7,46 (1H, dd, J = 1,9, 8,1 Hz), 7,18 (1H, d, J = 8,1 Hz), 3,08 (1H, s), 2,86 (2H, s), 1,46 (6H, s).

Etapa 8: Una solución de 6-etinil-2,2-dimetiltiocroman-4-ona (82,0 mg, 0,38 mmol) y 4-yodobenzoato de etilo (104,9 mg, 0,38 mmol) en 5,0 ml de Et₃N se purgó con argón para 10 minutos. A esta solución se añadieron cloruro de bis(trifenilfosfina)-paladio (II) (88,0 mg, 0,12 mmol) y yoduro de cobre (I) (22,9 mg, 0,12 mmol). Después de purgar durante 5 minutos adicionales con argón, la solución se agitó durante una noche a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se filtró a través de un cartucho de Celite usando un líquido de lavado de Et₂O. La concentración del filtrado bajo presión reducida, seguida de cromatografía de columna del sólido residual, proporcionó 100 mg (72%) de 4-[(2,2-dimetil-4-oxo-tiocroman-6-il)etinitil]-benzoato de etilo en forma de un sólido amarillo. ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) δ: 8,25 (1H, d, J = 1,8 Hz), 8,00 (2H, d, J = 8,4 Hz), 7,55 (2H, d, J = 8,4 Hz), 7,53 (1H, dd, J = 1,8, 8,2 Hz), 7,21 (1H, d, J = 8,2 Hz), 4,37 (2H, q, J = 7,1 Hz), 2,88 (2H, s), 1,47 (6H, s), 1,39 (3H, t, J = 7,1 Hz).

Etapa 9: Una solución de bis(trimetilsilil)amida de sodio (1,12 g, 6,13 mmol) en 16,2 ml de THF se enfrió a -78 °C y se añadió lentamente una solución de 4-(2,2-dimetil-4-oxo-tiocroman-6-iletinil)-benzoato de etilo (1,86 g, 5,10 mmol) en 15,0 ml. Después de 30 minutos, se añadió una solución de 2-[N,N-bis(trifluorometanosulfonil)amino]-5-piridina (2,40 g, 6,13 mmol) en 10 ml de THF. Después de 5 minutos, la solución se calentó a temperatura ambiente

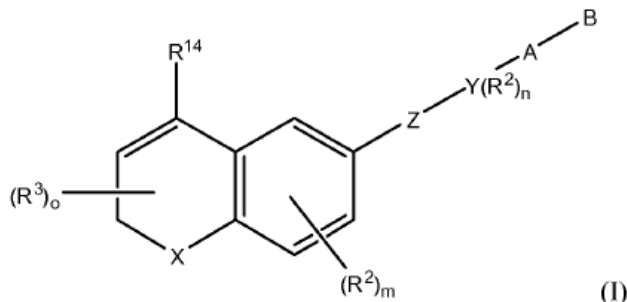
y se agitó durante una noche. La reacción se inactivó mediante la adición de NH_4Cl acuoso saturado y se extrajo con EtOAc. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con NaOH acuoso al 5% y H_2O antes de ser secadas (MgSO_4) y se concentraron bajo presión reducida. Se aisló 4-((2,2-dimetil-4-trifluorometanosulfoniloxi-(2H)-tiocromen-6-il)etinitil)-benzoato de etilo, 1,53 g (61%), mediante cromatografía de columna (2% de EtOAc/hexanos) en forma de un sólido amarillo. ^1H RMN (300 MHz, CDCl_3): 8,03 (2H, d, $J = 8,4$ Hz), 7,61 (1H, d, $J = 1,8$ Hz), 7,59 (2H, d, $J = 8,4$ Hz), 7,41 (1H, dd, $J = 1,8, 8,1$ Hz), 7,29 (1H, d, $J = 8,1$ Hz), 5,91 (1H, s), 4,39 (2H, q, $J = 7,1$ Hz), 1,53 (6H, s), 1,41 (3H, t, $J = 7,1$ Hz).

Etapa 10: Una solución de 4-etilbromobenceno (670,9 mg, 3,63 mmol) en 4,0 ml de THF se enfrió a -78°C y se añadió terc-butil-litio (464,5 mg, 7,25 mmol, 4,26 ml de una solución 1,7 M en pentano) para proporcionar una solución amarilla. Después de 30 minutos, se añadió lentamente una solución de ZnCl_2 (658,7 mg, 4,83 mmol) en 8,0 ml de THF a través de una cánula. La solución resultante se calentó a temperatura ambiente y se transfirió a través de una cánula a una solución de 4-(2,2-dimetil-4-trifluorometanosulfoniloxi-(2H)-tio-cromen-6-iletinitil)-benzoato de etilo (1,20 g, 2,42 mmol) y tetrakis(trifenilfosfina)paladio (0) (111,7 mg, 0,097 mmol) en 8,0 ml de THF. Esta solución se calentó a 50°C durante 1 hora, se enfrió a temperatura ambiente y la reacción se inactivó mediante la adición de NH_4Cl acuoso saturado. La solución se extrajo con EtOAc y las capas orgánicas combinadas se lavaron con H_2O y NaCl acuoso saturado antes de ser secadas (MgSO_4) y se concentraron bajo presión reducida. Se aisló 4-[[4-(4-etilfenil)-2,2-metil-(2H)-tiocromen-6-il]etinitil]-benzoato de etilo mediante cromatografía de columna (5% de EtOAc/hexanos) en forma de un aceite incoloro. ^1H RMN (300 MHz, CDCl_3): 7,99 (2H, d, $J = 8,2$ Hz), 7,52 (2H, d, $J = 8,4$ Hz), 7,40 (5H, m), 7,35 (2H, m), 5,85 (1H, s), 4,38 (2H, q, $J = 7,1$ Hz), 2,72 (2H, q, $J = 7,6$ Hz), 1,48 (6H, s), 1,40 (3H, t, $J = 7,1$ Hz), 1,30 (3H, t, $J = 7,6$ Hz).

Etapa 11: A una solución de 4-[[4-(4-etilfenil)-2,2-dimetil-(2H)-tiocromen-6-il]etinitil]-benzoato de etilo (940,0 mg, 2,08 mmol) en 10,0 ml de THF y 5,0 ml de EtOH se añadió NaOH (416,0 mg, 10,4 mmol, 5,2 ml de una solución acuosa 2M). La solución resultante se agitó durante una noche a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se acidificó con HCl acuoso al 10% y se extrajo con EtOAc. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con H_2O , NaCl acuoso saturado y se secaron (Na_2SO_4) antes de separar el disolvente bajo presión reducida. El sólido residual se recrystalizó en CH_3CN para proporcionar 786,0 mg (89%) de ácido 4-[[4-(4-etilfenil)-2,2-dimetil-(2H)-tiocromen-6-il]etinitil]-benzoico en forma de un sólido incoloro. ^1H RMN (300 MHz, d_6 -acetona) δ : 8,01 (2H, d, $J = 8,3$ Hz), 7,60 (2H, d, $J = 8,5$ Hz), 7,42 (2H, m), 7,29 (2H, m), 7,22 (3H, m), 5,94 (1H, s), 2,69 (2H, q, $J = 7,7$ Hz), 1,47 (6H, s), 1,25 (3H, t, $J = 7,7$ Hz). Este compuesto, el producto final deseado, se denominó VTP 194310.

REIVINDICACIONES

1. Un antagonista del receptor de ácido retinoico (RAR) o un agonista inverso de RAR que se une a receptores de los subtipos RAR α , RAR β y RAR γ , para ser usado en el tratamiento de efectos secundarios de quimioterapia y/o terapia de radiación en un mamífero que experimenta quimioterapia y/o terapia de radiación, en que los efectos secundarios son neutropenia, leucopenia o trombocitopenia, en que el antagonista de RAR o agonista inverso de RAR tiene la estructura química según la fórmula (I):



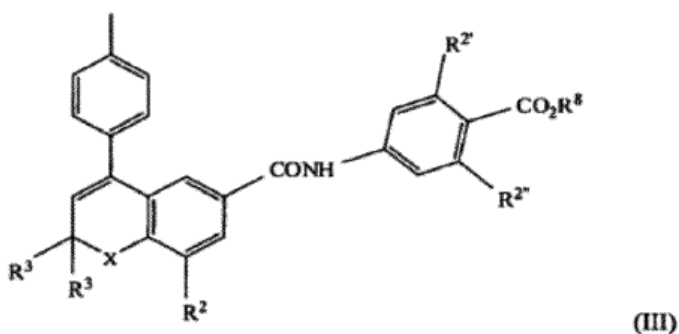
- o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;
- en que X es S, O, NR en que R es H o alquilo de 1 a 6 átomos de carbono, o
- 10 X es $[C(R^1)_2]_n$ en que R^1 es independientemente H o un alquilo de 1 a 6 átomos de carbono y n es un número entero entre 0 y 2, ambos incluidos;
- R^2 son independientemente hidrógeno, un alquilo de 1 a 6 átomos de carbono, F, Cl, Br, I, CF_3 , alquilo fluorosustituido de 1 a 6 átomos de carbono, OH, SH, alcoxi de 1 a 6 átomos de carbono o alquiltio de 1 a 6 átomos de carbono;
- 15 R^3 son independientemente hidrógeno, alquilo de 1 a 6 átomos de carbono o F;
- m es un indicador que tiene el valor de 0-3;
- n es un número entero que tiene el valor de 0-4;
- o es un número entero que tiene el valor de 0-3;
- 20 Z es $-CONR^1-$, $-CSNR^1-$, $-NR^1CO-$, $-NR^1CS-$, $-C\equiv C-$, $-C=C-$, $-N=N-$, $-N=CR^1-$, $-CR^1=N-$, $-COO-$, $-OCO-$, $-OSO-$, $-OCS-$ o $-(CR^1=CR^1)_{n'}$, en que n' es un número entero de 0 a 5;
- Y es un grupo fenilo o naftilo, o un heteroarilo seleccionado entre un grupo que consiste en piridilo, tienilo, furilo, piridazinilo, pirimidinilo, pirazinilo, tiazolilo, oxazolilo, imidazolilo y pirazolilo, estando opcionalmente sustituidos los grupos fenilo y heteroarilo con uno o dos grupos R^2 , o cuando Z es $-(CR_1=CR_1)_{n'}$ y n' es 3, 4 o 5, entonces Y representa un enlace de valencia directo entre dicho grupo $(CR_2=CR_2)_{n'}$ y B;
- 25 A es $(CH_2)_q$ en que q es 0-5, un alquilo de cadena ramificada que tiene de 3 a 6 átomos de carbono, cicloalquilo que tiene de 3 a 6 átomos de carbono, alquenilo que tiene de 2 a 6 átomos de carbono y 1 o 2 enlaces dobles, alquinilo que tiene 2-6 átomos de carbono y 1 o 2 enlaces triples;
- B es hidrógeno, $COOH$ o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, $COOR^8$, $CONR^9R^{10}$, CH_2OH , CH_2OR^{11} , CH_2OCOR^{11} , CHO , $CH(OR^{12})_2$, $CHOR^{13}O$, $-COR^7$, $CR^7(OR^{12})_2$, $CR^7OR^{13}O$, o un tri-alquilsililo en que los grupos alquilo tienen de 1 a 6 átomos de carbono;
- 30 R^7 es un grupo alquilo, cicloalquilo o alquenilo que contiene de 1 a 5 átomos de carbono;
- R^8 es un grupo alquilo de 1 a 10 átomos de carbono o timetilsililalquilo en el que el grupo alquilo tiene de 1 a 10 átomos de carbono, un grupo cicloalquilo de 3 a 10 átomos de carbono, fenilo o un alquilfenilo inferior; en que el grupo alquilo tiene de 1 a 6 átomos de carbono;
- 35 R^9 y R^{10} son independientemente hidrógeno, un grupo alquilo de 1 a 10 átomos de carbono, un grupo cicloalquilo de 3 a 10 átomos de carbono, fenilo o un alquilfenilo inferior en el que el grupo alquilo tiene de 1 a 6 átomos de carbono; R^{11} es un alquilo de 1 a 6 átomos de carbono, fenilo o alquilfenilo en el que el grupo alquilo tiene de 1 a 6 átomos de carbono;
- R^{12} es un alquilo de 1 a 6 átomos de carbono;

R¹³ es un radical alquilo divalente de 2 a 5 átomos de carbono;

R¹⁴ es (R¹⁵)_r-fenilo, (R¹⁵)_r-naftilo o (R¹⁵)_r-heteroarilo en el que el grupo heteroarilo tiene de 1 a 3 heteroátomos seleccionados entre el grupo que consiste en O, S y N y r es un número entero que tiene los valores de 0-5; y

5 R¹⁵ es independientemente H, F, Cl, Br, I, NO₂, N(R⁸)₂, N(R⁸)COR⁸, NR⁸CON(R⁸)₂, OH, OCOR⁸, OR⁸, CN, un grupo alquilo que tiene de 1 a 10 átomos de carbono, un grupo alquilo fluorosustituido que tiene de 1 a 10 átomos de carbono, un grupo alquenilo que tiene de 2 a 10 de átomos de carbono y de 1 a 3 enlaces dobles, un grupo alquinilo que tiene 2 a 10 átomos de carbono y de 1 a 3 enlaces triples o un grupo trialquilsililo o trialquilsililoxi en el que los grupos alquilo tienen independientemente de 1 a 6 átomos de carbono.

10 2. El antagonista de RAR o un agonista inverso de RAR que se une a los receptores de los subtipos RAR α , RAR β y RAR γ para ser usado según la reivindicación 1, en que el antagonista de RAR o agonista inverso de RAR tiene la estructura química según la fórmula (III):



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;

en el que X es -C(CH₃)₂- o -O-;

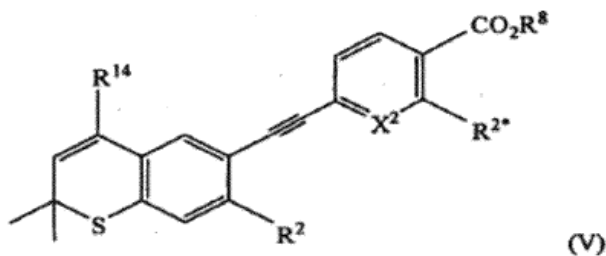
15 R² es -H o -Br,

R^{2'} y R^{2''} son independientemente -H o -F;

cada R³ es independientemente -H o -CH₃; y

R⁸ es un alquilo C₁-C₆.

20 3. El antagonista de RAR o un agonista inverso de RAR que se une a receptores de los subtipos RAR α , RAR β y RAR γ para ser usado según la reivindicación 1, en que en el antagonista de RAR o el agonista inverso de RAR tiene la estructura química según la fórmula (V):



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;

en la que X² es -CH- o -N-;

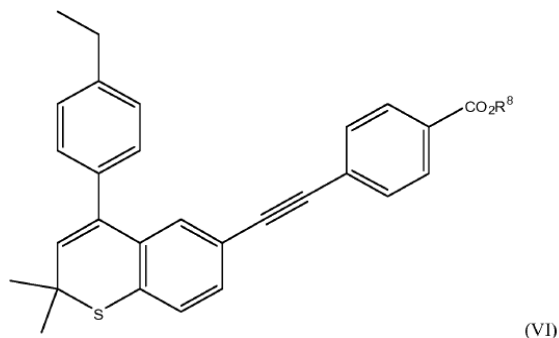
25 R² es -H, -F o -OCH₃;

R^{2*} es -H o -F;

R⁸ es -H, o alquilo C₁-C₆; y

30 R¹⁴ se selecciona entre el grupo que consiste en: fenilo, 4-(alquil)fenilo en que el grupo alquilo tiene de 1 a 6 átomos de carbono, 5-(alquil)-2-tienilo en que el grupo alquilo tiene de 1 a 6 átomos de carbono y 6-(alquil)-3-piridilo, en que el grupo alquilo tiene de 1 a 6 átomos de carbono.

4. El antagonista de RAR o agonista inverso de RAR que se une a receptores de los subtipos RAR α , RAR β y RAR γ para ser usado según la reivindicación 1 o 3, en que el antagonista de RAR o agonista inverso de RAR tiene la estructura química según formula (VI):



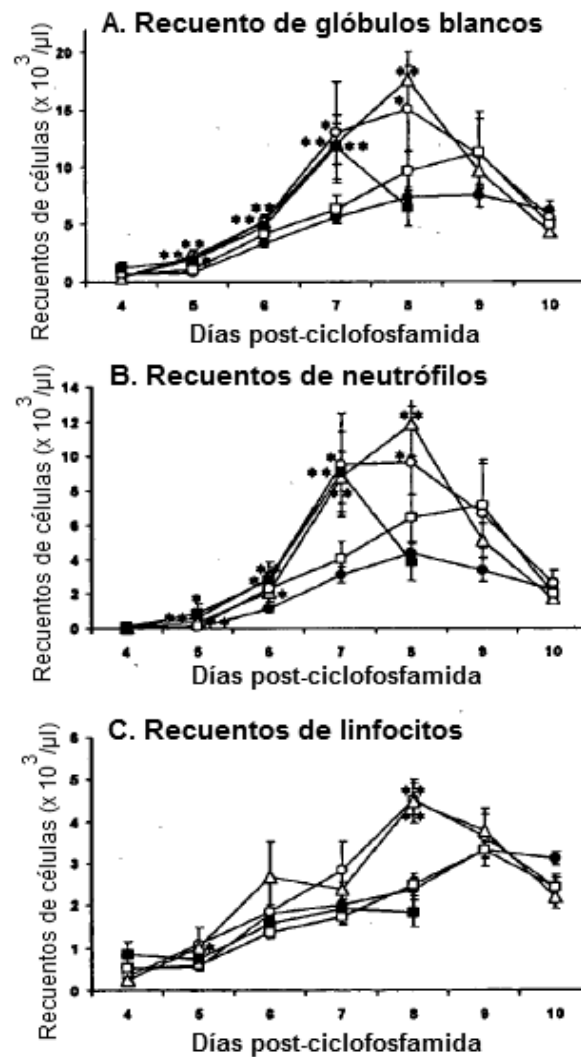
5 o sus sales farmacéuticamente aceptables;
en la que R⁸ es -H, o un alquilo C₁-C₆.

5. El antagonista de RAR o un agonista inverso de RAR que se une a los receptores de los subtipos RAR α , RAR β y RAR γ para ser usado según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en que el antagonista de RAR o agonista inverso de RAR es eficaz para aumentar la producción de neutrófilos en el mamífero.

10 6. El antagonista de RAR o un agonista inverso de RAR que se une a los receptores de los subtipos RAR α , RAR β y RAR γ para ser usado según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en que el efecto secundario es trombocitopenia.

7. El antagonista de RAR o un agonista inverso de RAR que se une a los receptores de los subtipos RAR α , RAR β y RAR γ para ser usado según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en que en el efecto secundario es neutropenia.

15 8. El antagonista de RAR o un agonista inverso de RAR que se une a los receptores de los subtipos RAR α , RAR β y RAR γ para ser usado según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que el efecto secundario es leucopenia.



FIGURAS 1A-1C

- : Ciclofosfamida (200 mg/kg; día 0);
- : Ciclofosfamida (200 mg/kg; día 0) + VTP 194310 (1 mg/kg; días -4 a -1);
- △: Ciclofosfamida (200 mg/kg; día 0) + VTP 194310 (1 mg/kg; días 0 a 3);
- : Ciclofosfamida (200 mg/kg; día 0) + VTP 194310 (1 mg/kg; días 4 a 7);
- : Ciclofosfamida (200 mg/kg; día 0) + Peg-G-CSF (10 $\mu\text{g/kg}$; día 2);
- * indica vapores de $p < 0,05$ (estadísticamente significativos)
- ** indica valores de $p < 0,01$ (estadísticamente muy significativos)

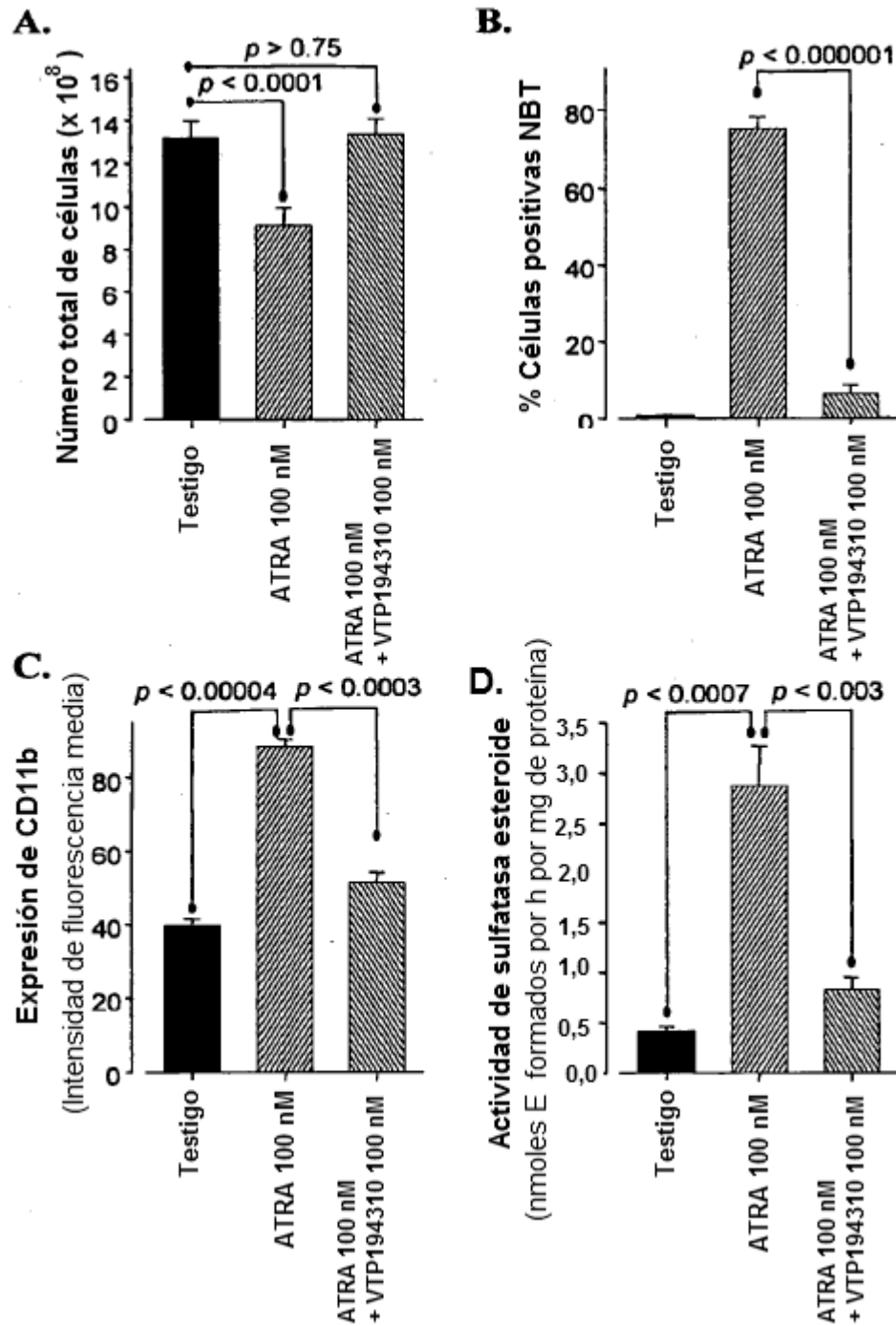
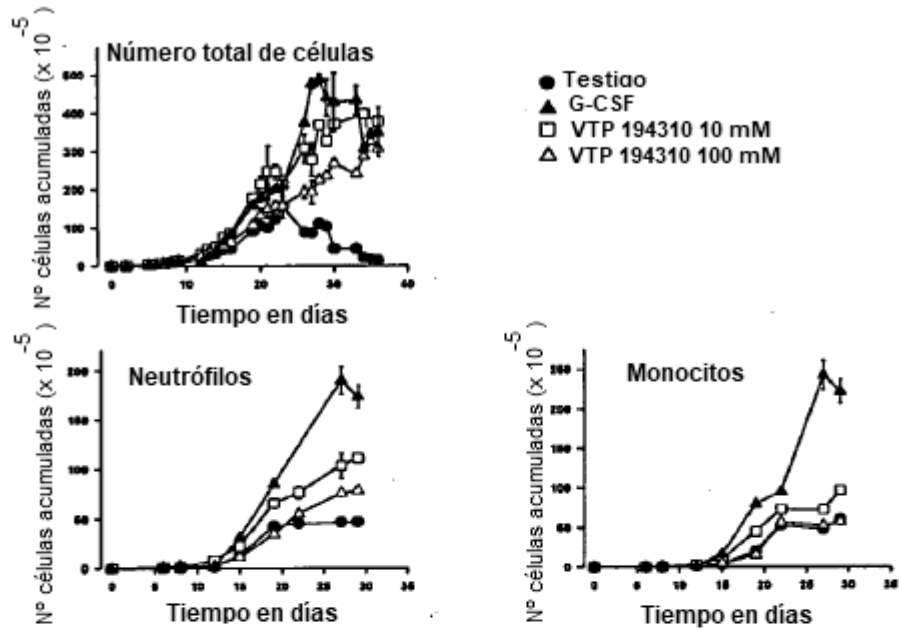


FIGURA 2

A. Número de células acumuladas



B. Poblaciones precursoras

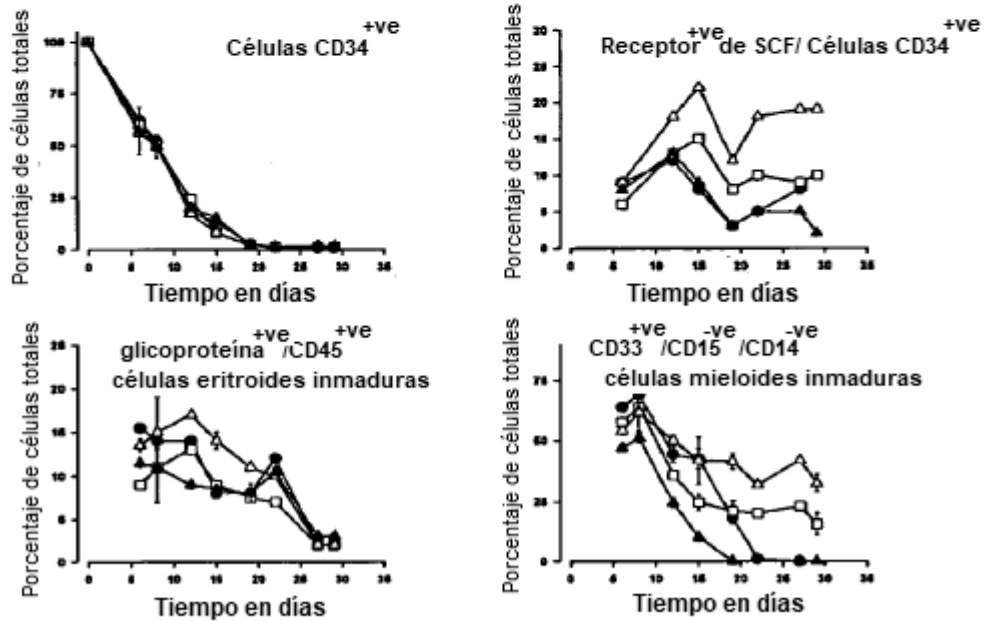
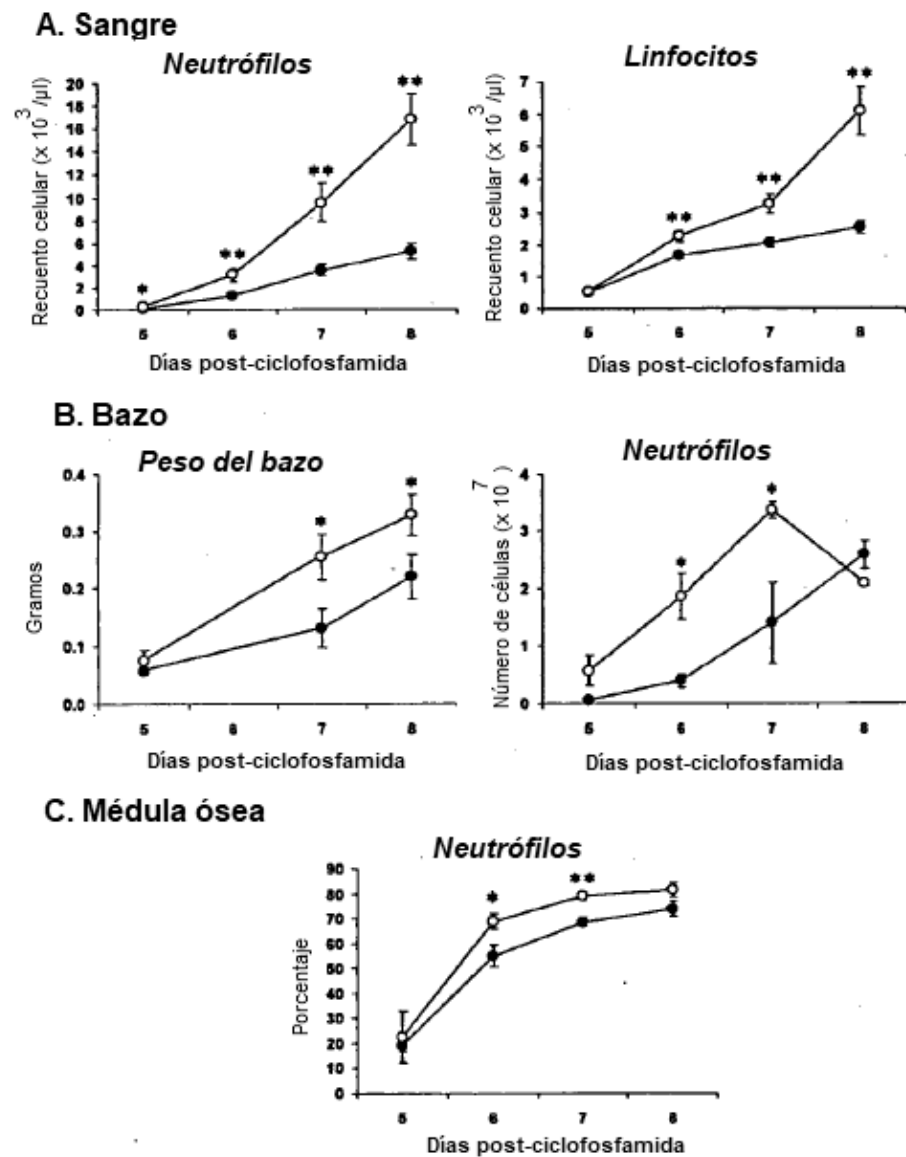


FIGURA 3



FIGURAS 4A-4C

- : Ciclofosfamida (200 mg/kg; día 0);
- : Ciclofosfamida (200 mg/kg; día 0) + VTP 194310 (1 mg/kg; días - 1 a 2);
- * indica valores de $p < 0,05$ (estadísticamente significativos);
- ** indica valores de $p < 0,01$ (estadísticamente muy significativos)

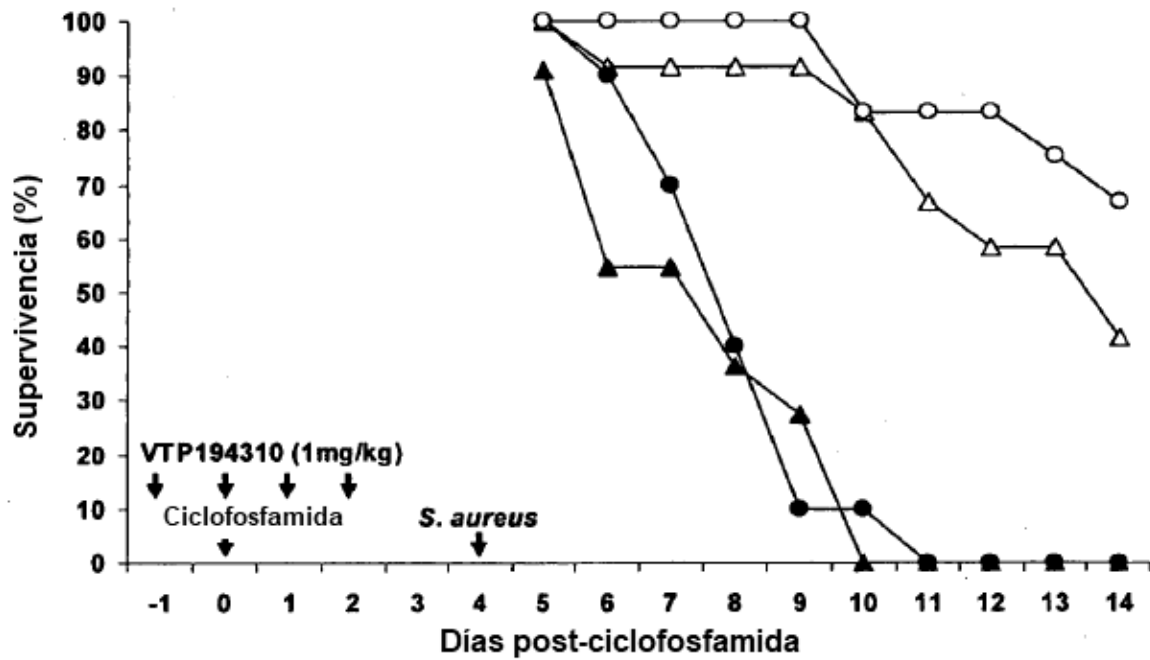


FIGURA 5

- : Ratones testigos infectados con 2.5×10^6 CFU de *S. aureus*
- ▲: Ratones testigos infectados con 4.1×10^6 CFU de *S. aureus*
- : Ratones tratados con VTP 194310 infectados con 2.5×10^6 CF de *S. aureus*
- △: Ratones tratados con VTP 194310 infectados con 4.1×10^6 CFU de *S. aureus*

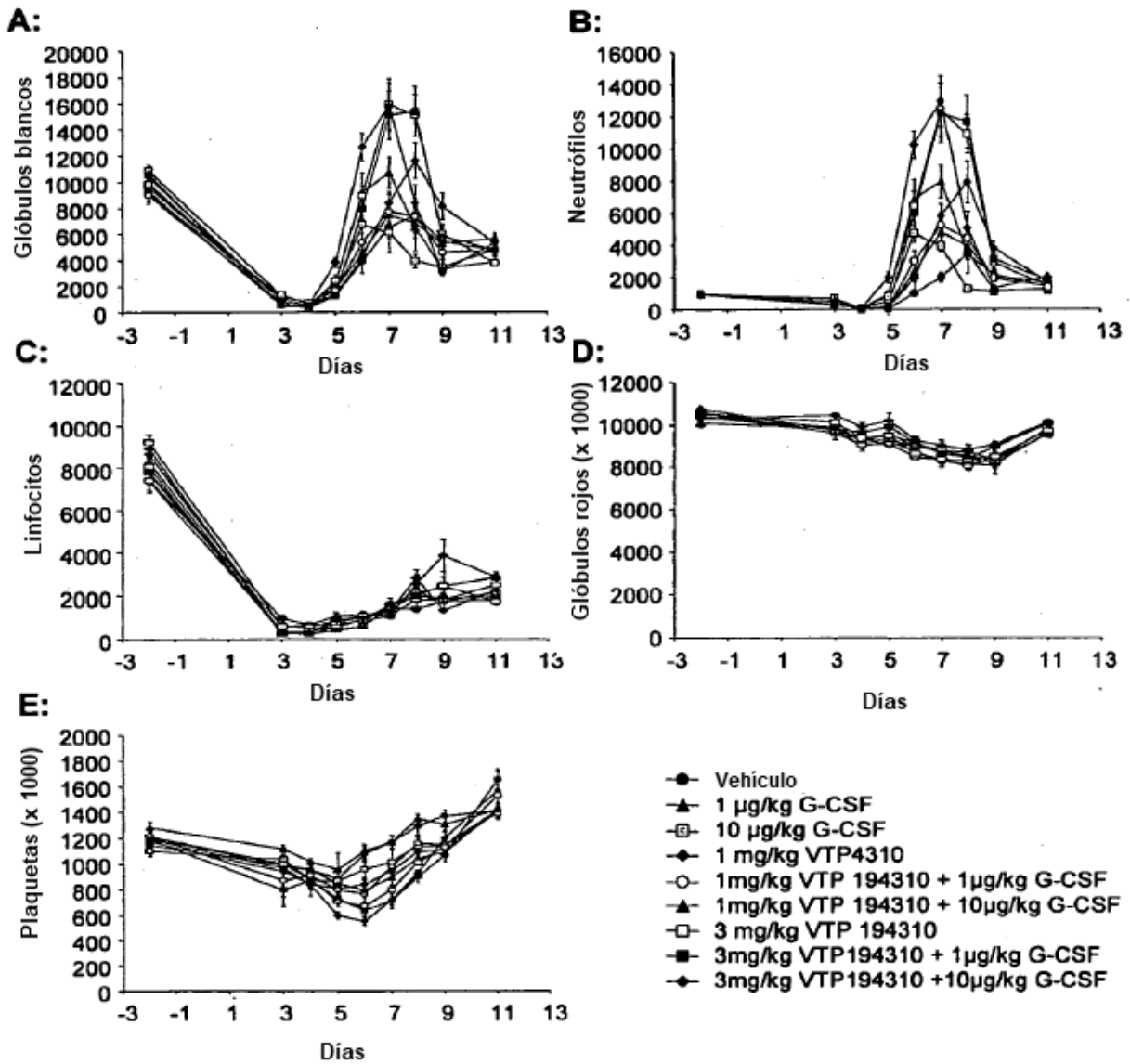


FIGURA 6

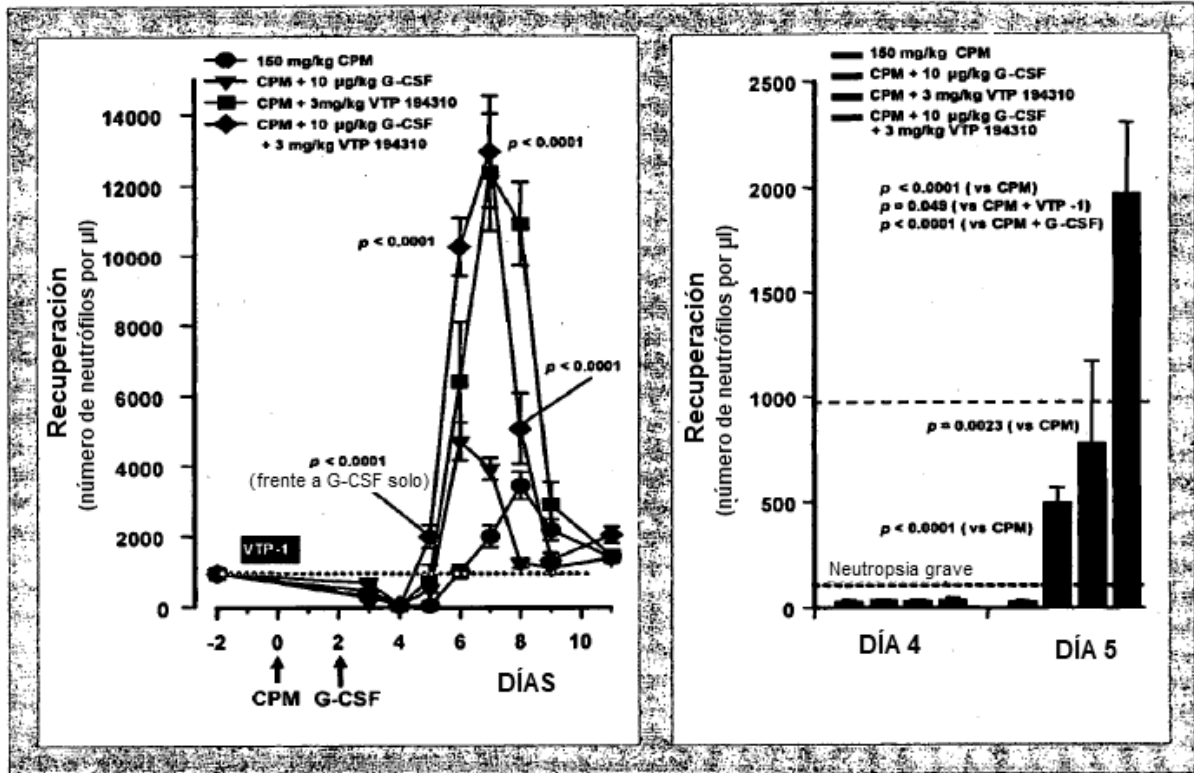


FIGURA 7

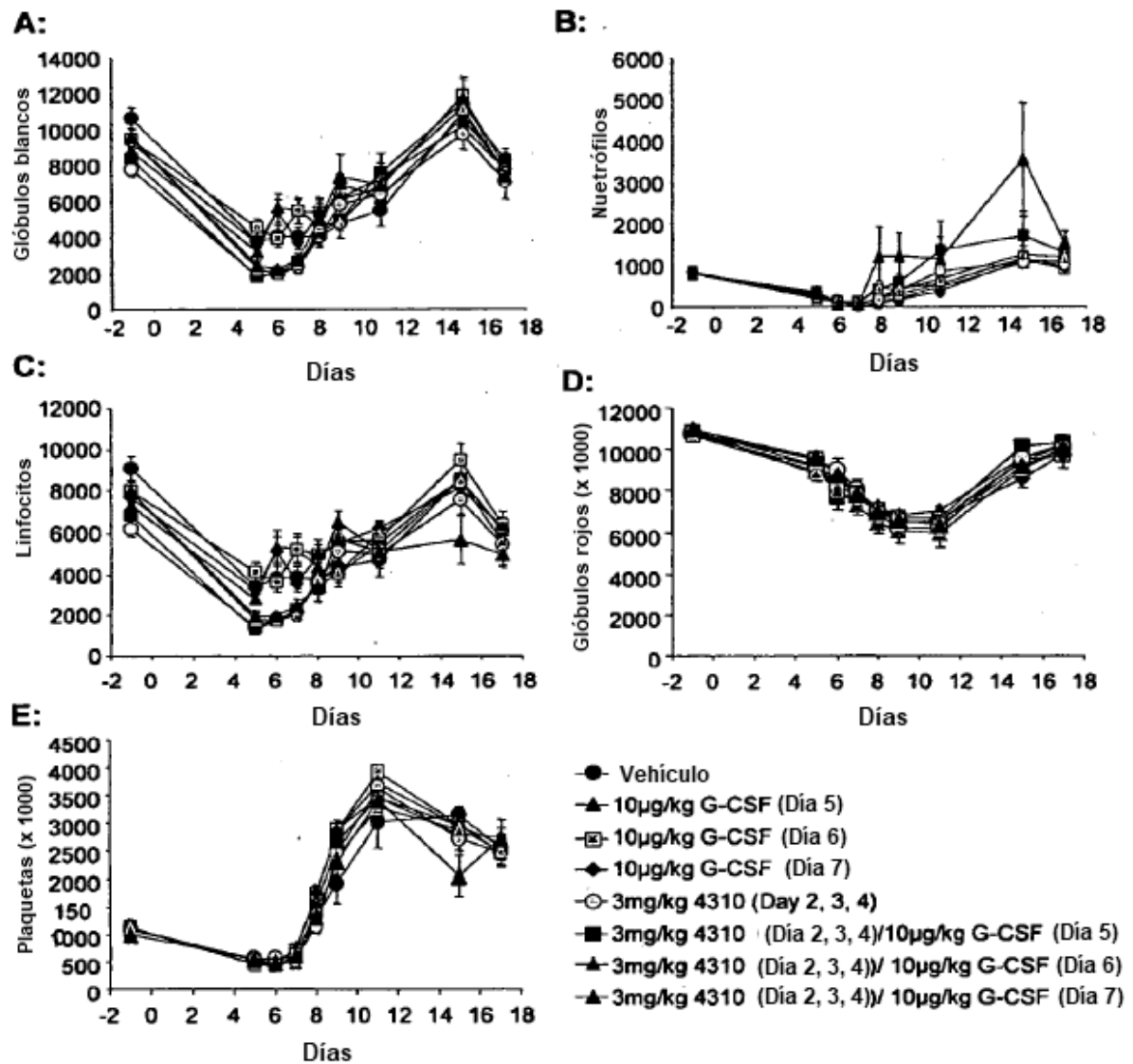


FIGURA 8

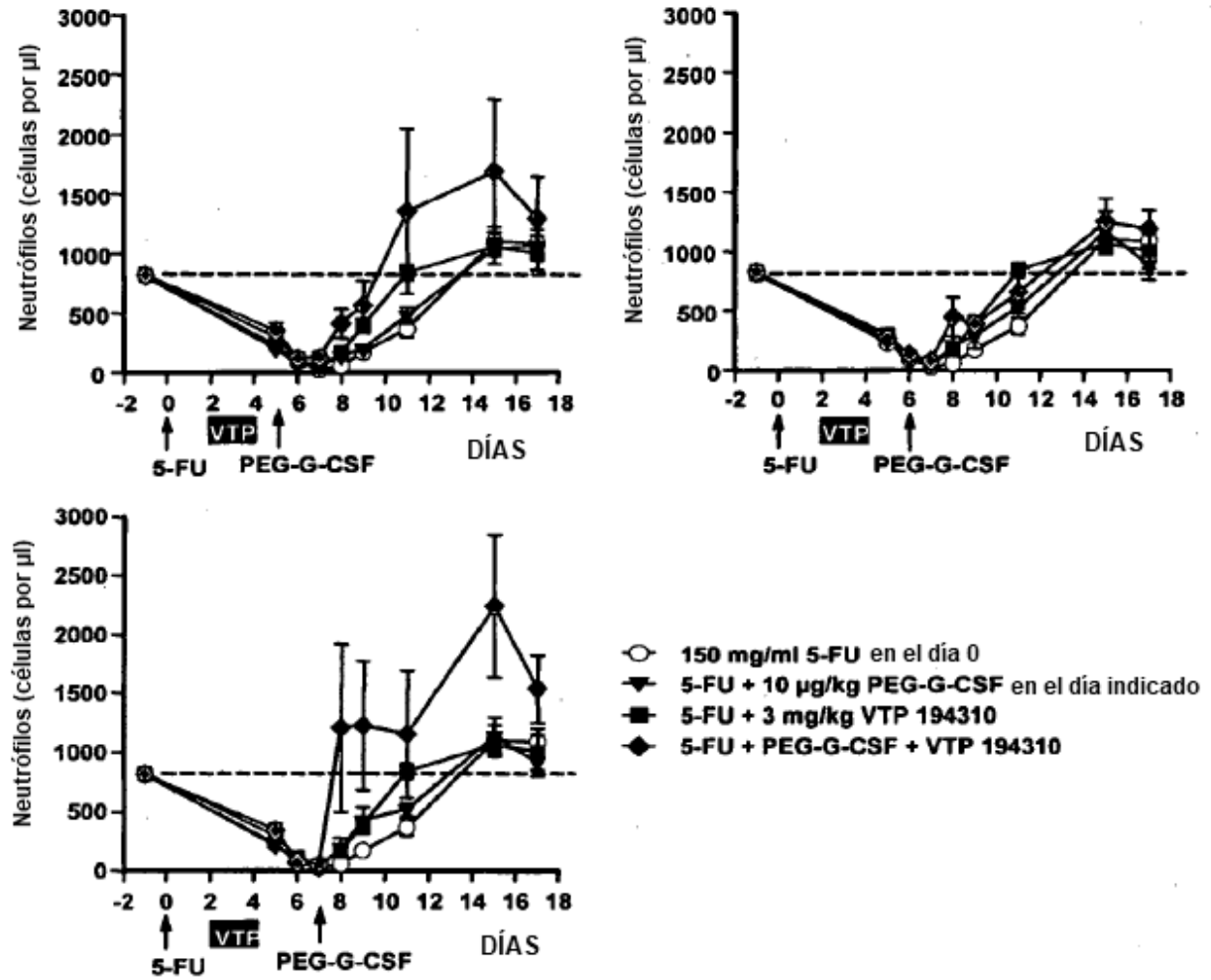


FIGURA 9