

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 980 934**

51 Int. Cl.:

A61K 31/4709 (2006.01)

A61K 31/567 (2006.01)

A61K 31/573 (2006.01)

G01N 33/48 (2006.01)

A61P 17/02 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **22.01.2020** **PCT/EP2020/051457**

87 Fecha y número de publicación internacional: **30.07.2020** **WO20152193**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **22.01.2020** **E 20700923 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **01.05.2024** **EP 3914249**

54 Título: **Modificadores selectivos del receptor de glucocorticoides para tratar la cicatrización alterada de heridas en la piel**

30 Prioridad:

22.01.2019 EP 19153026

18.04.2019 EP 19170117

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
03.10.2024

73 Titular/es:

AKRIBES BIOMEDICAL GMBH (100.0%)

Dr.-Bohr-Gasse 7

1030 Wien, AT

72 Inventor/es:

WOLFF-WINISKI, BARBARA;

STÜTZ, ANTON;

SCHÖFMANN, NICOLE y

DÖRFLER, PETRA

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

ES 2 980 934 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

Modificadores selectivos del receptor de glucocorticoides para tratar la cicatrización alterada de heridas en la piel.

La presente invención se refiere a un activador selectivo del receptor de glucocorticoides (SEGRA), que es un agonista del receptor de glucocorticoides (GR), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, como se especifica en las reivindicaciones, para su uso en el tratamiento de la cicatrización alterada de heridas en la piel en un sujeto, y un método *in vitro* para identificar a un sujeto que padece cicatrización alterada de heridas en la piel que responde al tratamiento con el activador selectivo del receptor de glucocorticoides (SEGRA), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

Las heridas crónicas son un problema de salud importante en todo el mundo con 6,5 millones de pacientes afectados solo en los EE. UU. y un aumento esperado debido al envejecimiento de la población y la creciente incidencia de enfermedades metabólicas [Sen CK et al. (2009) *Wound Repair Regen* 17: 763-771; Gould L et al. (2015) *Wound Repair Regen* 23:1-13].

Las heridas crónicas tienen una etiología multifactorial y dependen de diferentes variables: a) enfermedad subyacente, p. ej., diabetes, insuficiencia arterial o venosa, b) presión, c) edad y estado nutricional y d) entorno microbiano [Gould L et al. (2015) *Wound Repair Regen* 23:1-13].

Por heridas crónicas se entienden generalmente aquellas heridas que no se han curado en el plazo de 2 meses. Son un problema sanitario importante en todo el mundo. En los países desarrollados, incluyendo los EE. UU. y la UE, se ha estimado que del 1 al 2% de la población total experimentará una herida crónica durante su vida [Gotttrup F (2004) *Am J Surg* 187:38S-43S].

Las principales indicaciones de heridas crónicas son úlceras venosas, úlceras por presión y úlceras de pie diabético. Las úlceras venosas son defectos en el tejido patológicamente alterado en la parte inferior de la pierna, basados en insuficiencia venosa crónica, acompañados a menudo por trombosis venosa profunda. Las úlceras por presión son los resultados de la hipoxemia tisular grave en pacientes inmovilizados. La ulceración del pie diabético puede afectar hasta al 25% de los pacientes con diabetes a lo largo de toda su vida y a menudo da como resultado la amputación de extremidades inferiores. El tratamiento de referencia para todas estas heridas, como recomienda la Sociedad Alemana de Dermatología [Dissemond J et al. (2014) *JDDG* 1610-0379/2014/1207:541-554] incluye apósitos para heridas, desbridamiento quirúrgico y biológico (Maggot), control de infecciones y terapia de presión negativa. Regranex® (PDGF: factor de crecimiento derivado de plaquetas) fue el único tratamiento farmacológico registrado durante mucho tiempo, pero su eficacia terapéutica es menor, al igual que el éxito de las terapias basadas en células. El EGF humano recombinante (rhEGF) está registrado como Hiberprot-P® en varios países para tratar ulceraciones en el síndrome de úlcera del pie diabético. Además, Trafermin (nombre comercial: Fiblast®), también conocido como factor de crecimiento de fibroblastos básico humano recombinante (rhbFGF), es una forma recombinante del factor de crecimiento de fibroblastos básico humano (bFGF) que se comercializa en Japón como una pulverización tópica para el tratamiento de úlceras cutáneas.

La recurrencia es un problema en un tercio de todas las heridas crónicas, independientemente de su tratamiento.

Aunque son antiinflamatorios en otras situaciones, los glucocorticoides tópicos no pueden usarse porque uno de sus efectos secundarios es de hecho la cicatrización de heridas retardada [Hengge UR (2006) *J Am Acad Dermatol* 54:1-15]. Por lo tanto, como dogma en la técnica anterior, se describe que los glucocorticoides tópicos alteran la cicatrización de heridas [Wicke C et al. (2000) *Arch Surg* 135:1265-1270; Anderson K et al. (2014) *J Am Coll Clin Wound Spec* 4:84-91]. Además, los fármacos antiinflamatorios no esteroideos, p. ej., ibuprofeno, solo son eficaces para mejorar el dolor de heridas [Dissemond J et al. (2014), véase antes].

El documento EP3 312608A1 describe un método *in vitro* para identificar una herida en la piel en un individuo como una herida en la piel que no cicatriza o herida en la piel que cicatriza.

El documento WO 2018/197461 A1 describe, se refiere al uso de un inhibidor de PARP en combinación con un glucocorticoide y/o ácido ascórbico y/o un factor de crecimiento proteico para el tratamiento de la cicatrización alterada de heridas.

Reuter K.C. et al. (2012; *PLOS ONE*; 7(1): e29756) describe que los agonistas selectivos del receptor de glucocorticoides no esteroideos atenúan la inflamación, pero no alteran la restitución de células epiteliales intestinales *in vitro*.

Reuter K.C. et al. (2008; *Gastroenterology*, 134 (4) página A-396, Resumen M1682) describe que el compuesto a (CpdA), un agonista selectivo del receptor de glucocorticoides (SEGRA), afecta positivamente a la cicatrización de heridas a la vez que reduce la actividad de NF-kappaB en células epiteliales intestinales.

Por lo tanto, existe una necesidad médica continua y fuerte de terapias fiables y eficaces para el

tratamiento de la cicatrización alterada de heridas en la piel en pacientes.

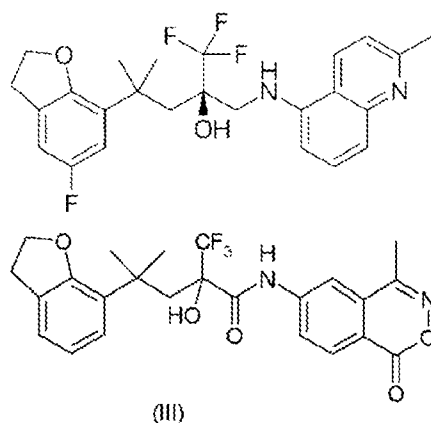
Sorprendentemente, se descubrió en la presente solicitud, como se muestra en los ejemplos y las figuras correspondientes, que los moduladores selectivos del receptor de glucocorticoides (SEGRM) presentan un excelente efecto potenciador de la proliferación de fibroblastos (2D) y potenciador de la formación de la matriz derivada de fibroblastos (3D), aumentan la expresión de colágeno-1 y 3 e inhiben la secreción de IL-1beta en un modelo de cicatrización de heridas *ex vivo* asociado a seres humanos usando exudados de heridas de pacientes con heridas crónicas. Por ejemplo, se estudió el efecto del mapracorat, como SEGRM de ejemplo, en la proliferación de fibroblastos en presencia de >80 exudados de heridas humanas, que condujo a aumentos de >120%.

Además, se encontró que mapracorat reducía la puntuación de la herida desde los días 6 a 12 en heridas tratadas con exudados de heridas de heridas humanas crónicas y/o el agonista de TLR 7/8 R848 (resiquimod) como inductores de la cicatrización retardada de heridas en un modelo de cerdo de cicatrización retardada de heridas (Figura 13).

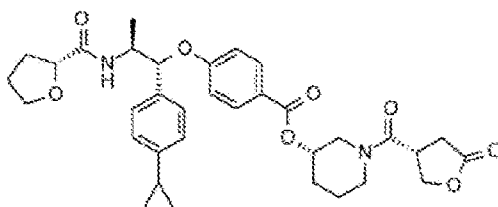
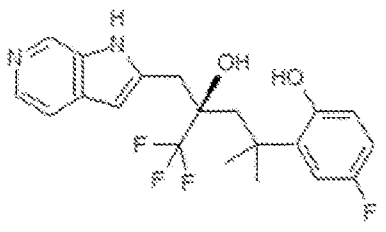
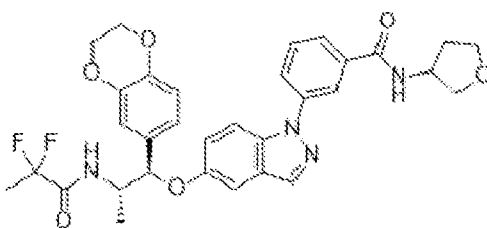
Además, se encontró en los ejemplos que BI-653048, pero no su análogo inactivo BI-3047, potenciaba de manera dependiente de la dosis la proliferación de fibroblastos en presencia de diferentes exudados de heridas agresivos (Figura 1) e inhibía la secreción de IL-1 β en estos cultivos (Figura 2). Los SEGRM químicamente diferentes mapracorat, ZK216348 e HY14234 tenían efectos similares en la proliferación y secreción de IL-1 β o expresión de ARNm en presencia de exudados de heridas (Figuras 5, 8 y 9-11). Aunque cualitativamente similares, la magnitud de los efectos difería dependiendo del compuesto SEGRM y el exudado de herida individual. Por lo tanto, puede realizarse un enfoque de medicina personalizado con el preanálisis *in vitro* de los exudados del paciente frente a diferentes compuestos usando los métodos de la invención descritos en el presente documento. La expresión de los ARNm del colágeno 1 y del colágeno 3 en el ensayo de proliferación de fibroblastos con exudado de herida, pero no medio, aumentó mediante BI-653048 y mapracorat (Figuras 3 y 6 - 8). El efecto fue invertido por el antagonista del receptor de glucocorticoides mifepristona (Figura 4).

Además, se observó un efecto positivo en el cultivo de fibroblastos 3D con exudado de herida de un paciente con una herida crónica que no cicatriza con una pluralidad de SEGRM estructuralmente diferentes, incluyendo BI-653048 (pero no su análogo inactivo BI-3047), mapracorat, ZK216348, AZD7594 y HY14234 (Figura 12). El ensayo de proliferación de fibroblastos (2D) así como el ensayo de formación de matriz derivada de fibroblastos (3D) son ensayos *ex vivo* asociados a seres humanos para la cicatrización de heridas.

Por lo tanto, en una realización, la presente invención se refiere a un agonista selectivo del receptor de glucocorticoides (SEGRA), que es un agonista del receptor de glucocorticoides (GR), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en el tratamiento de la cicatrización alterada de heridas en la piel en un sujeto, en donde el SEGRA que es un agonista del receptor de glucocorticoides (GR) se selecciona de los siguientes compuestos:



(R)-2-(4-((5-(Etilsulfonil)-1H-pirrol[2,3-c]piridin-2-il)metil)-5,5,5-trifluoro-4-hidroxi-2-metilpentan-2-il)-5-fluorobenzamida;



5 4-[(1R,2S)-1-(4-ciclopropilfenil)-2-[(2R)-tetrahidrofuran-2-carbonil]amino]propoxi]benzoato de [(3S)-1-[(3R)-5-oxotetrahidrofuran-3-carbonil]-3-piperidilo];

5-[(1S,2S)-1-(2-cloro-3-fluoro-4-metoxifenil)-3,3,3-trifluoro-2-hidroxi-2-(metoximetil)propil]amino]-7-fluoro-1H-quinolin-2-ona;

10 5-[(1S,2S)[1-(2-cloro-3-fluoro-4-metoxifenil)-3,3,3-trifluoro-2-hidroxi-2-(hidroximetil)propil]amino]-7-fluoro-1H-quinolin-2-ona, y

5-[(1S,2S)[1-(2-cloro-3-fluoro-4-metoxifenil)-3,3,3-trifluoro-2-hidroxi-2-(hidroximetil)propil]amino]-7-fluoro-1H-quinolin-2-ona,

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

15 El receptor de glucocorticoides humano, también denominado "GR", "GC" o "GCR", también se conoce como NR3C1 (subfamilia 3 de receptores nucleares, grupo C, miembro 1) y es el receptor al que se unen el cortisol y otros glucocorticoides. En una realización preferida, el receptor de glucocorticoides es receptor de glucocorticoides humano.

20 El GR se expresa en casi todas las células del cuerpo y regula los genes que controlan el desarrollo, metabolismo y respuesta inmunitaria. Debido a que el gen del receptor se expresa en varias formas, tiene muchos efectos diferentes (pleiotrópico) en diferentes partes del cuerpo.

25 Cuando el GR se une a glucocorticoides, su mecanismo de acción principal es la regulación de la transcripción génica. El receptor no unido reside en el citosol de la célula. Después de que el receptor se une al glucocorticoide, el complejo receptor-glucocorticoide puede tomar diferentes rutas. El complejo del GR activado regula por aumento la expresión de proteínas antiinflamatorias en el núcleo o reprime la expresión de proteínas proinflamatorias en el citosol (evitando la translocación de otros factores de transcripción desde el citosol al núcleo). Alternativamente, la represión puede conseguirse mediante la unión del receptor al ADN en el mismo sitio en donde se unirá otro factor de transcripción, anulando de este modo el efecto del otro factor de transcripción.

En seres humanos, la proteína GR está codificada por el gen NR3C1 que está localizado en el cromosoma 5 (5q31). Existen diversas isoformas cortadas y empalmadas alternativamente.

30 Los "moduladores selectivos del receptor de glucocorticoides" o "SEGRM" son una clase de compuestos bien conocida y establecida. Los moduladores selectivos del receptor de glucocorticoides son preferiblemente moduladores selectivos del receptor de glucocorticoides (SEGRM) no esteroideos. En documentos anteriores de la técnica anterior, los moduladores selectivos del receptor de glucocorticoides también se denominan "agonistas selectivos del receptor de glucocorticoides" o "SEGRA" o "agonistas disociados del receptor de glucocorticoides"

o "DIGRA". Los SEGRM también puede designarse en algunos documentos de la técnica anterior como "SGRM", "agonistas de GR" o "SEDIGRAM". Por consiguiente, los "activadores selectivos del receptor de glucocorticoides" o "SEGRA" son una clase de compuestos bien conocida y establecida. Los activadores selectivos del receptor de glucocorticoides son preferiblemente activadores selectivos del receptor de glucocorticoides no esteroideos (SEGRA). En la técnica anterior también pueden referirse a SEGRM o SEGRA como "Activadores y moduladores selectivos del receptor de glucocorticoides" o "SEGRAM". Por consiguiente, los términos "SEGRM" y "SEGRA" pueden ser sinónimos. El significado sinónimo puede reflejarse en alguna técnica anterior por el término "SEGRAM".

Se sabe que los glucocorticoides presentan propiedades antiinflamatorias. Sin embargo, como se ha mencionado anteriormente, los glucocorticoides también presentan efectos secundarios graves, p. ej., entre varios otros, atrofia de la piel. Como se ha mencionado anteriormente, los glucocorticoides tópicos no pueden usarse, p. ej., para úlceras diabéticas y otros tipos comunes de heridas en la piel con cicatrización retardada de la herida, porque uno de sus efectos secundarios es de hecho la cicatrización retardada de heridas.

Los SEGRM logran su selectividad activando solo un subconjunto de los mecanismos de acción del receptor de glucocorticoides. En particular, los SEGRM se unen específicamente a un receptor de glucocorticoides (GC), pero desencadenan solo un subconjunto de los mecanismos de acción de GC.

Tanto los glucocorticoides no selectivos como los SEGRM presentan su efecto al unirse a y activar el receptor de glucocorticoides (GR). A diferencia de los glucocorticoides, que activan el GR para trabajar a través de al menos dos rutas de transducción de señales comúnmente denominadas "transactivación" y "transrepresión" los SEGRM activan el GR de tal manera que solo o principalmente operan a través de una de estas dos rutas principales posibles, preferiblemente por transrepresión.

En ausencia de glucocorticoides, el GR reside en el citosol en un estado inactivo complejoado con proteínas de choque térmico (HSP) e inmunofilinas. La unión de glucocorticoides al GR activa el receptor causando un cambio conformacional en el GR y, por lo tanto, una disociación de las HSP unidas. El GR activado puede regular entonces la expresión génica a través de una de las dos rutas de "transactivación" y "transrepresión"

Transactivación: La ruta directa se denomina transactivación, por la que el GR activado se dimeriza, se transloca al núcleo y se une a secuencias específicas de ADN denominadas elementos de respuesta a glucocorticoides (GRE). El complejo GR/ADN recluta otras proteínas que transcriben posteriormente ADN en ARNm y finalmente proteína. Los ejemplos de genes sensibles a glucocorticoides incluyen aquellos que codifican tirosina aminotransferasa (TAT), anexina A1, T22D3, enzima convertidora de angiotensina, endopeptidasa neutra, fosfatasa de especificidad dual 1, factor regulador de interferón 1 y otras proteínas antiinflamatorias.

Transrepresión: La segunda ruta indirecta se denomina transrepresión, en la que el GR monomérico activado se une a otros factores de transcripción tales como NF- κ B y AP-1 y evita que estos regulen por aumento la expresión de sus genes diana. Estos genes diana codifican proteínas tales como ciclooxigenasa, NO sintasa, fosfolipasa A2, factor de necrosis tumoral, factor de crecimiento transformante beta, ICAM-1, y varias otras proteínas proinflamatorias.

Por lo tanto, los efectos antiinflamatorios de los glucocorticoides resultan tanto de la transactivación como de la transrepresión.

Por consiguiente, un SEGRM es un compuesto que transreprime de forma más fuerte que transactiva.

Los ensayos para determinar la transrepresión se conocen en la técnica e incluyen determinar la secreción inducida por LPS de las citoquinas IL-12 o TNF α de células PBMC, como se describe en detalle en Schäcke et al. (2004; *PNAS*, 101: 227-232) o inhibición de la actividad del promotor de collagenasa, inhibición de la secreción de citoquinas, tales como IL-12 o IFN γ , en células primarias humanas estimuladas, o inhibición de la proliferación de linfocitos en reacción mixta de linfocitos, como se describe todo en detalle en Schäcke et al. (2009; *Br. J. Pharmacol.*, 158: 1088-1103).

Los ensayos para determinar la transactivación se conocen en la técnica e incluyen determinar la inducción de la actividad de tirosina aminotransferasa (TAT) en hepatocitos, como describen en detalle, p. ej., Schäcke et al. (2004; *PNAS*, 101: 227-232) o la inducción de la actividad del promotor de MMTV o la inducción de la actividad de TAT, como se describe en detalle en Schäcke et al. (2009; *Br. J. Pharmacol.*, 158: 1088-1103).

Preferiblemente, los ensayos para determinar la transactivación y transrepresión se pueden realizar como sigue como se describe en Schäcke et al. (2009):

Preferiblemente, la inhibición de la actividad del promotor de collagenasa se puede determinar como sigue como se describe en Schäcke et al. (2009): células HeLa transfectadas establemente con un gen indicador de luciferasa unido al promotor de collagenasa se cultivan durante 24 h en medio Eagle modificado por Dulbecco complementado con suero de ternero fetal (FCS) absorbido en carbón al 3%, penicilina 50 unidades·ml⁻¹ y estreptomycin 50 mg·ml⁻¹, L-glutamina 4 mmol·l⁻¹ y geneticina 300 μ g·ml⁻¹. Las células se siembran luego en placas de 96 pocillos (1 x 10⁴ células por pocillo). Después de 24 h, las células se incuban con estímulo inflamatorio

[13-acetato de 12-o-tetradecanoilforbol (TPA) 10 ng·ml⁻¹] con o sin concentraciones crecientes (1 pmol·l⁻¹ a 1 mmol·l⁻¹) de compuestos de referencia o de ensayo. Como control negativo (células no estimuladas) se incuban células con dimetilsulfóxido (DMSO) al 0,1% y como control positivo se incuban células (células estimuladas) con TPA 10 mg· ml⁻¹ más DMSO al 0,1%. Después de 18 h se lleva a cabo el ensayo de luciferasa.

Preferiblemente, la inhibición de la secreción de las citoquinas IFN-γ e IL-12p40 en células primarias humanas estimuladas puede determinarse de la siguiente manera como se describe en Schäcke et al. (2009): Los efectos de los compuestos en la secreción monocítica de IL-12p40 se determinan después de la estimulación de células mononucleares de sangre periférica (PBMC) de donantes sanos con lipopolisacárido 10 ng·ml⁻¹ (serotipo 0127:B8 de *Escherichia coli*; Sigma). Los efectos en la secreción de interferón (IFN)-γ se determinan después de la estimulación de PBMC con 10 μg·ml⁻¹ de la lectina mitogénica, fitohemaglutinina. Después de 24 h de incubación (37°C, CO₂ al 5% las concentraciones de citoquinas en los líquidos sobrenadantes de las células tratadas se determinan usando kits de ELISA específicos: ELISA para IFN-γ e IL-12p40 (R&D Systems).

Preferiblemente, la inducción de la actividad del promotor de MMTV se puede determinar como sigue como se describe en Schäcke et al. (2009): El promotor de MMTV se une a un gen indicador de luciferasa y las células HeLa se transfectan de manera estable con esta construcción. Las células se cultivan en medio Eagle modificado por Dulbecco complementado con 50 unidades de penicilina y geneticina 300 μg·ml⁻¹. Para estudiar la actividad de transactivación de los ligandos de GR, las células se cultivan durante 24 h en medio complementado con FCS absorbido en carbón al 3%. Las células se siembran luego en placas de 96 pocillos con 1 x 10⁴ células por pocillo. Después de 24 h, las células se incuban con concentraciones crecientes de compuestos de referencia (dexametasona) o de ensayo. Como control negativo (células no estimuladas) las células se tratan con DMSO al 0,1%. Las células se incuban durante 18 h con compuestos, y después se determina la actividad de luciferasa como una medida de la actividad de GR.

Preferiblemente, la inducción de la actividad de TAT puede determinarse como sigue como se describe en Schäcke et al. (2009): La inducción de TAT por los compuestos de ensayo se determina *in vitro* usando la línea celular de hepatoma humano, HepG2. Se cultivan células HepG2 en medio esencial mínimo que contiene glutamax 2 mmol·l⁻¹, FCS inactivado por calor al 10% y aminoácidos no esenciales al 1%. Para ensayar la inducción de TAT por los compuestos de ensayo, se siembran células en placas de 96 pocillos con 1 x 10⁵ células por pocillo. Después de 24 h, las células se incuban con medio de ensayo que contiene concentraciones crecientes de compuestos de ensayo y de referencia. Después de 24 h, las células se lisan y la actividad de TAT se mide como absorción del p-hidroxibenzaldehído aromático a 340 nm tras la conversión de p-hidroxifenilpiruvato.

Por lo tanto, el modulador selectivo del receptor de glucocorticoides (SEGRM), o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, puede ser un modulador selectivo del receptor de glucocorticoides (SEGRM) no esteroideo. Un modulador selectivo del receptor de glucocorticoides se une a un receptor de glucocorticoides (GC). En una realización más preferida, los SEGRM logran su selectividad activando solo un subconjunto de los mecanismos de acción con una afinidad (KD) menor de 100 nM, 70 nM, 60 nM, 50 nM, 40 nM, 30 nM, 20 nM o 10 nM. La afinidad (KD) puede determinarse por métodos conocidos en la técnica, por ejemplo, usando medición de resonancia de plasmón superficial (SPR), p. ej., usando un dispositivo Biacore. Preferiblemente, la afinidad se determina a aproximadamente 20°C o 25°C.

El modulador selectivo del receptor de glucocorticoides (SEGRM) no esteroideo puede desencadenar la transrepresión tras la unión a un receptor de glucocorticoides (GC) en una célula y presenta menos transactivación tras la unión a un receptor de glucocorticoides (GC) en una célula en comparación con la dexametasona.

El valor de IC₅₀ para la actividad de transrepresión de un SEGRM para el uso de la invención puede ser como máximo 100 veces, 50 veces, 30 veces, como máximo 10 veces, como máximo 5 veces o como máximo 2 veces mayor que el valor IC₅₀ para la actividad de transrepresión de la dexametasona. El valor de IC₅₀ para la actividad de transrepresión de un SEGRM puede ser similar al valor de IC₅₀ para la actividad de transrepresión de la dexametasona, como se encuentra, p. ej., para mapracorat. Por ejemplo, el valor de IC₅₀ para la actividad de transrepresión de la dexametasona también puede ser menor, tal como 2 veces o 5 veces menor, que el valor de IC₅₀ para la actividad de transrepresión de la dexametasona. Los valores pueden determinarse en uno de los ensayos de transrepresión descritos anteriormente.

La eficacia de la actividad de transrepresión de un SEGRM para el uso de la invención puede ser al menos 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80% o 90% de la eficacia de la actividad de transrepresión de la dexametasona. Los valores se determinan preferiblemente en uno de los ensayos de transrepresión descritos anteriormente.

El valor de EC₅₀ para la actividad de transactivación de un SEGRM para el uso de la invención puede ser al menos 20 veces, 40 veces, 50 veces o 100 veces mayor que el valor de EC₅₀ para la actividad de transactivación de la dexametasona. Los valores se determinan preferiblemente en uno de los ensayos de transactivación descritos anteriormente.

Como se ha explicado anteriormente, los SEGRM presentan su efecto uniéndose a y activando el receptor de glucocorticoides (GR).

Por consiguiente, un SEGRM para el uso según la presente invención es un activador del receptor de

glucocorticoides (GR).

Por consiguiente, un SEGRM para el uso según la presente invención es un agonista del receptor de glucocorticoides (GR).

Preferiblemente, un activador del receptor de glucocorticoides (GR), o un agonista del receptor de glucocorticoides (GR), se entiende como un compuesto que activa el GR a través de transactivación y/o transrepresión del GR. La transactivación y transrepresión se pueden determinar usando los ensayos anteriores.

Como se ha explicado anteriormente, un SEGRM para usar en el presente documento es un compuesto que transreprime más fuertemente de lo que transactiva. Por consiguiente, un SEGRM para usar en el presente documento activa el GR a través de transrepresión y opcionalmente transactivación del GR. Un SEGRM para usar en el presente documento puede activar el GR a través de transrepresión y transactivación del GR, en donde el SEGRM transreprime fuertemente de lo que transactiva. Los ensayos para determinar la transactivación y transrepresión y para determinar si el SEGRM transreprime más fuertemente de lo que transactiva se han descrito anteriormente.

Un SEGRM que es un activador del receptor de glucocorticoides (GR), o un agonista del receptor de glucocorticoides (GR), puede ensayarse positivamente en un ensayo de translocación *in vitro* como se describe en el Ejemplo 1.10. El ensayo representa un ensayo positivo adicional para un SEGRM que es un activador del receptor de glucocorticoides (GR) o un agonista del receptor de glucocorticoides (GR). En particular, el ensayo no permite distinguir entre un glucocorticoide activo y un SEGRM activo, ya que también los glucocorticoides producen la translocación del receptor de glucocorticoides desde el citoplasma al núcleo en fibroblastos humanos primarios en un cultivo *in vitro* en una concentración de 10 nM a 37°C para el ensayo en el Ejemplo 1.10.

Un SEGRM que es un activador del receptor de glucocorticoides (GR), o un agonista del receptor de glucocorticoides (GR), para el uso de la invención puede efectuar la translocación del receptor de glucocorticoides desde el citoplasma al núcleo en fibroblastos humanos primarios en un cultivo *in vitro* en una concentración de SEGRM de 10 nM o 100 nM a 37°C. El ensayo se describe en detalle en el Ejemplo 1.10. En particular, las células cultivadas se privan de nutrientes durante la noche, se incuban con compuesto durante 45 minutos a 37°C y se fijan con paraformaldehído al 4% durante 10 minutos a temperatura ambiente, seguido de permeabilización con Triton X100 al 0,5% en PBS en BSA al 1 %, durante 10 minutos a temperatura ambiente. Posteriormente, las células se tiñen con un anticuerpo monoclonal de ratón anti-receptor de glucocorticoides. La detección puede realizarse mediante microscopía de inmunofluorescencia usando un anticuerpo secundario marcado con un marcador fluorescente.

El modulador selectivo del receptor de glucocorticoides (SEGRM) no esteroideo puede unirse específicamente a un receptor de glucocorticoides (GC) con una afinidad (KD) inferior a 100 nM.

El modulador selectivo del receptor de glucocorticoides (SEGRM) no esteroideo puede unirse específicamente a un receptor de glucocorticoides (GC). Se entiende que un SEGRM se une específicamente a un receptor de glucocorticoides (GC) en caso de que el factor de competición por un SEGRM, definido como la IC₅₀ del compuesto de ensayo SEGRM/IC₅₀ del compuesto de referencia, para el receptor de glucocorticoides (GC) es inferior a 20, 10, 5, 4 o 2 y el factor de competición para el receptor de progesterona (PR), el receptor de andrógenos (AR) y el receptor de mineralocorticoides (MR) es al menos 5, 10, 15, 20, 30, 40 o 50. El factor de competición puede determinarse como se describe en Schäcke et al. (2009; *Br. J. Pharmacol.*, 158: 1088-1103). Como se describe en Schäcke et al., un compuesto de referencia adecuado para el GC es la dexametasona, un compuesto de referencia adecuado para el PR es la progesterona, un compuesto de referencia adecuado para el AR es la metribolona y un compuesto de referencia adecuado para el MR es la aldosterona.

Preferiblemente, el factor de competición se puede determinar como sigue como se describe en Schäcke et al. (2009):

Los valores de IC₅₀ para determinar la unión al receptor pueden determinarse de la siguiente manera como se describe en Schäcke et al. (2009): se usan extractos de células Sf9, infectadas con baculovirus recombinante que codifica el GR, receptor de progesterona (PR), receptor de andrógenos (AR) o receptor de mineralocorticoides (MR) humanos para los ensayos de unión al receptor, como ya se describe en Schäcke et al. (2004). Toda la nomenclatura de receptores sigue la "Guide to receptors and channels" (Alexander et al., 2008). Para los ensayos de unión para GR, PR, AR y MR se mezclan [1,2,4,6,7-3H]dexametasona (aproximadamente 3,18 GBq·mmol⁻¹) (~20 nmol·l⁻¹), [1,2,6,7-3H(N)]progesterona (aproximadamente 3,7 GBq·mmol⁻¹), [17a-metil-3H]metiltriienolona (aproximadamente 3,18 GBq·mmol⁻¹) o D[1,2,6,7-3H(N)]aldosterona (aproximadamente 2,81 GBq·mmol⁻¹), respectivamente, citosol de Sf9 (100-500 µg de proteína), compuestos de ensayo y tampón de unión (Tris/HCl 10 mmol·l⁻¹ a pH 7,4, EDTA 1,5 mmol·l⁻¹, glicerol al 10%) en un volumen total de 50 µl y se incuban durante 1 h a temperatura ambiente. Después de la incubación, se añaden 50 µl de suspensión de carbón fría durante 5 min y las mezclas se transfieren a placas de filtración de microvaloración. Las mezclas se filtran en picoplasmas (Canberra Packard) y se mezclan con 200 µl de Microszint-40 (Canberra Packard). La radiactividad unida se determina con un lector de placas Packard Top Count. La unión específica se define como la diferencia entre la unión de [1,2,4,6,7-3H]dexametasona, [1,2,6,7-3H(N)]progesterona, [17a-metil-3H]metiltriienolona y D[1,2,6,7-3H(N)]aldosterona en la ausencia y presencia de dexametasona, progesterona, metribolona o

aldosterona no marcadas $10 \mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ respectivamente. La concentración del compuesto de ensayo que da 50% de inhibición de la unión específica (IC50) se determina a partir del análisis de Hill de las curvas de unión. El factor de competición (CF) se define como IC50 del compuesto de ensayo/IC50 del compuesto de referencia, y puede determinarse en consecuencia. Por definición, CF es 1,0 para los compuestos de referencia. El compuesto de referencia para el GC es preferiblemente dexametasona, un compuesto de referencia adecuado para el PR es progesterona, un compuesto de referencia adecuado para el AR es metribolona, y un compuesto de referencia adecuado para el MR es aldosterona.

El modulador selectivo del receptor de glucocorticoides (SEGRM), o sal farmacéuticamente aceptable del mismo para usar en el presente documento es un modulador selectivo del receptor de glucocorticoides (SEGRM) que se caracteriza de la siguiente manera:

- el SEGRM se une específicamente a un receptor de glucocorticoides (GC) con una afinidad (KD) inferior a 100 nM, y/o

- el factor de competición para el SEGRM i) es inferior a 20 para el receptor de glucocorticoides (GC) y ii) es al menos 5 para el receptor de progesterona (PR), receptor de andrógenos (AR) y receptor de mineralocorticoides (MR), en donde el factor de competición se define como el valor de IC50 del SEGRM/IC50 de un compuesto de referencia, y en donde el compuesto de referencia para el GC es la dexametasona, el compuesto de referencia para el PR es la progesterona, el compuesto de referencia para el AR es la metribolona, y el compuesto de referencia para el MR es la aldosterona, y/o

- el valor de EC50 para la actividad de transactivación del SEGRM tras la unión a un receptor de glucocorticoides (GC) en una célula es al menos 20 veces mayor que el valor de EC50 para la actividad de transactivación de la dexametasona y/o el valor de IC50 para la actividad de transrepresión del SEGRM tras la unión a un receptor de glucocorticoides (GC) en una célula es como máximo 100 veces mayor que el valor de IC50 para la actividad de transrepresión de la dexametasona.

Por lo tanto, el modulador selectivo del receptor de glucocorticoides (SEGRM), o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para usar en el presente documento puede ser un modulador selectivo del receptor de glucocorticoides (SEGRM) no esteroideo,

y:

- el SEGRM se une específicamente a un receptor de glucocorticoides (GC) con una afinidad (KD) inferior a 100 nM, y/o

- el factor de competición para el SEGRM i) es inferior a 20 para el receptor de glucocorticoides (GC) y ii) es al menos 5 para el receptor de progesterona (PR), receptor de andrógenos (AR) y receptor de mineralocorticoides (MR), en donde el factor de competición se define como el valor de IC50 del SEGRM/IC50 de un compuesto de referencia, y en donde el compuesto de referencia para el GC es la dexametasona, el compuesto de referencia para el PR es la progesterona, el compuesto de referencia para el AR es la metribolona, y el compuesto de referencia para el MR es la aldosterona, y/o

- el valor de EC50 para la actividad de transactivación del SEGRM tras la unión a un receptor de glucocorticoides (GC) en una célula es al menos 20 veces mayor que el valor de EC50 para la actividad de transactivación de la dexametasona y/o el valor de IC50 para la actividad de transrepresión del SEGRM tras la unión a un receptor de glucocorticoides (GC) en una célula es como máximo 100 veces mayor que el valor de IC50 para la actividad de transrepresión de la dexametasona.

El modulador selectivo del receptor de glucocorticoides (SEGRM), o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, puede unirse específicamente a un receptor de glucocorticoides (GC) con una afinidad (KD) de menos de 100 nM, y/o es un SEGRM no esteroideo.

Para un SEGRM que transreprime más fuertemente de lo que transactiva como se definió anteriormente, la actividad del SEGRM además se puede ensayar positivamente en un ensayo *in vitro* como se describe en el Ejemplo 1.10, 1.11 y/o 1.12. Los ensayos representan ensayos positivos adicionales para un SEGRM que transreprime más fuertemente de lo que transactiva y cuyos ensayos pueden usarse para diferenciar entre estereoisómeros activos e inactivos de la misma estructura, tal como BI-3047. En particular, los ensayos no permiten distinguir entre un glucocorticoide activo y un SEGRM activo, ya que también los glucocorticoides efectúan translocación del receptor de glucocorticoides desde el citoplasma al núcleo en fibroblastos humanos primarios en un cultivo *in vitro* en una concentración de 10 nM a 37°C en el caso del ensayo de translocación en el Ejemplo 1.10.

Por consiguiente, un SEGRM para usar en el presente documento puede efectuar la translocación del receptor de glucocorticoides desde el citoplasma al núcleo en fibroblastos humanos primarios en un cultivo *in vitro* en una concentración del SEGRM de 10 nM o 100 nM a 37°C. El ensayo se describe en detalle en el Ejemplo 1.10. En particular, las células cultivadas se privan de nutrientes durante la noche, se incuban con compuesto durante 45 minutos a 37°C y se fijan con paraformaldehído al 4% durante 10 minutos a temperatura ambiente,

seguido de permeabilización con Triton X100 al 0,5% en PBS en BSA al 1%, durante 10 minutos a temperatura ambiente. Posteriormente, las células se tiñen con un anticuerpo monoclonal de ratón anti-receptor de glucocorticoides. La detección puede realizarse mediante microscopía de inmunofluorescencia usando un anticuerpo secundario marcado con un marcador fluorescente.

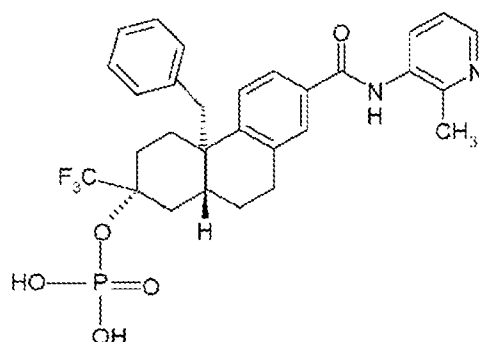
Por consiguiente, un SEGRM para usar en el presente documento puede reducir la secreción espontánea de IL-8 de monocitos humanos *in vitro* a una concentración de 100 nM a 37°C en al menos 20%, 30% o 50% en comparación con las células de control incubadas sin compuesto SEGRM. El ensayo se describe en detalle en el Ejemplo 1.11.

Por consiguiente, un SEGRM para usar en el presente documento puede reducir la secreción de IL-8 de células U937 estimuladas con LPS *in vitro* a una concentración de 100 nM a 37°C en al menos 20%, 30% o 50% en comparación con las células de control incubadas sin compuesto SEGRM. El ensayo se describe en detalle en el Ejemplo 1.12.

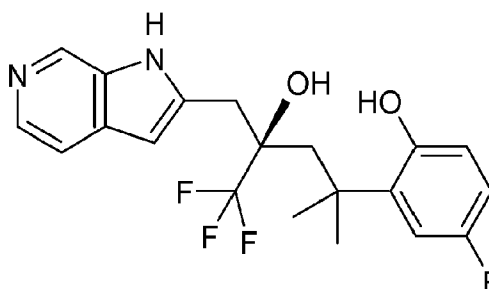
Los SEGRA para usar según la invención son los incluidos en las reivindicaciones adjuntas. Los siguientes ejemplos de SEGRM no son parte de la invención y se describen en el presente documento solo para información.

Se describe, pero no forma parte de la invención, que se conocen en la técnica SEGRM adecuados para su uso e incluyen mapracorat (también conocido como ZK-245186) y compuestos derivados de quinolona e isoquinolina sustituidos en 5 relacionados, 5-[[[(1S,2S)-1-(2-cloro-3-fluoro-4-metoxifenil)-3,3,3-trifluoro-2-hidroxi-2-(metoximetil)propil]amino]-7-fluoro-1H-quinolin-2-ona, 5-[(1S,2S)[1-(2-cloro-3-fluoro-4-metoxifenil)-3,3,3-trifluoro-2-hidroxi-2-(hidroximetil)propil]amino]-7-fluoro-1H-quinolin-2-ona, BI653048, HY14234, LGD-5552, MK-5932, Org 214007-0, Compuesto A, AL-438, ZK-216348, PF-802, Fosdagrocorat y Compuesto 10. Otros SEGRM que son conocidos y descritos en la técnica incluyen 4-[(1R,2S)-1-(4-ciclopropilfenil)-2-[[[(2R)-tetrahidrofuran-2-carbonil]amino]propoxil]benzoato de [(3S)-1-[(3R)-5-oxotetrahidrofuran-3-carbonil]-3-piperidilo], 5-[(1S,2R)[1-(2-cloro-3-fluoro-4-metoxifenil)-3,3,3-trifluoro-2-hidroxi-2-[(metilsulfanil]metil)propil]amino]-1H-quinolin-2-ona, AZD-7594, AZD-5423, AZD-2906, JPT-117968 y compuestos SEGRM descritos en el documento WO 2008/076048 A1, SEGRM descrito en los documentos WO 2018/236749 A2, WO 2018/049255 A1 y WO 2018/183947 A1, BI-54903, BI-607812, GW8700086X, PF-00251802, BOL-303242-X, que es un sinónimo de mapracorat, y otros compuestos DIGRA y formulaciones de los mismos descritos en los documentos WO 2017/046096, WO 2009/023471 A2, WO 2008/027796 A2, WO 2008/033655 A2, WO 2008/005686 A2, WO 2008/021728 A2, WO 2008/021729 A2, WO 2008/154129 A1, WO 2009/042377 A1, WO 2010/123769 A1, WO 2012/170175 A1, los compuestos DIGRA donadores de NO descritos en el documento WO 2013/126156 A1, Cortivazol, Fluorocortivazol, análogos espirocíclicos de fluorocortivazol descritos en Badarau E. et al. (*European Journal of Medicinal Chemistry*, 2019, 161: 354-363), compuestos SEGRM descritos en los documentos WO 2003/086294 A2, WO 2004/026248 A2, WO 2004/066920 A2, WO 2004/075840 A2, WO 2004/093805 A2, WO 2009/108525 A2, WO 2009/111214 A1, WO 2010/138421 A1, WO 2010/141247 A1, WO 2011/031574 A1, WO 2011/053567 A1, compuestos descritos en WO 2005/082909 A1, WO 2006/019716 A1 y WO 2009/103007 A2, WO 00/66522 A1 y RU24858.

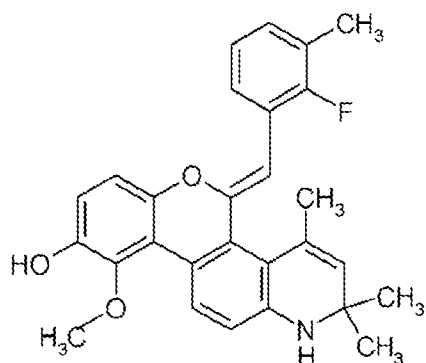
Fosdagrocorat también conocido como desagrocorat 2-(dihidrogenofosfato), tiene la siguiente estructura:



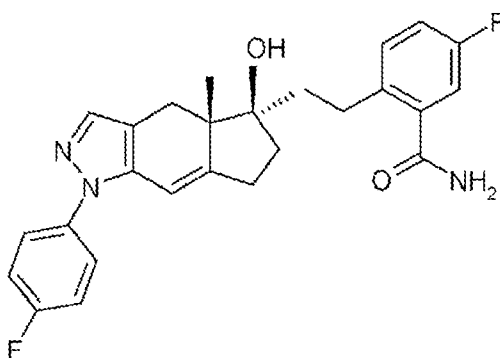
HY14234 tiene la siguiente estructura:



LGD-5552 tiene la siguiente estructura:

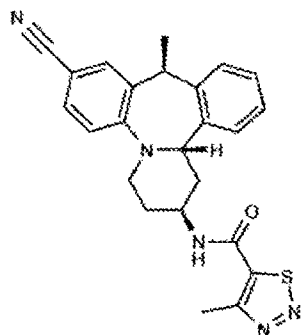


MK-5932 tiene la siguiente estructura:

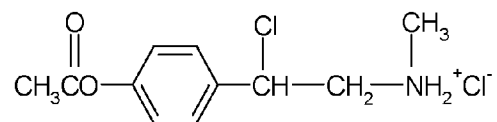


5

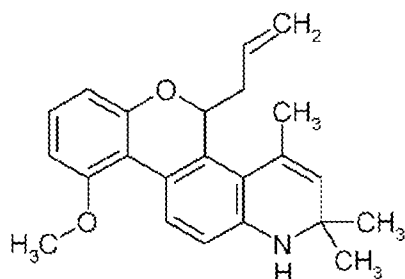
Org 214007-0 tiene la siguiente estructura:



La sal de cloruro del compuesto A tiene la siguiente estructura:

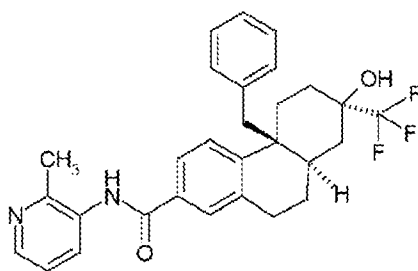


AL-438 tiene la siguiente estructura:

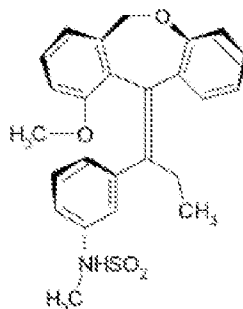


10

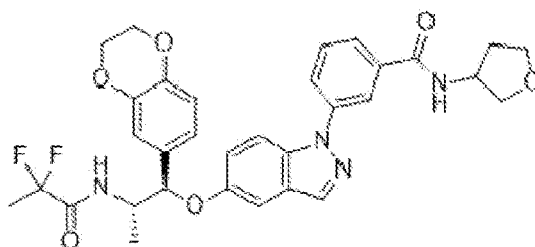
PF-802 tiene la siguiente estructura:



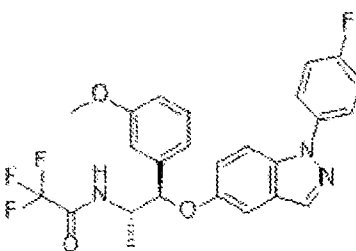
El compuesto 10 tiene la siguiente estructura:



5 AZD-7594 tiene el nombre IUPAC 3-(5-((1R,2S)-2-(2,2-difluoropropanamido)-1-(2,3-dihidrobenzo[b][1,4]dioxin-6-il)propoxi)-1H-indazol-1-il)-N-(tetrahidrofuran-3-il)benzamida y tiene la siguiente estructura:

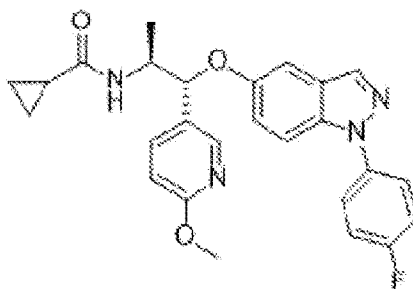


AZD-5423 tiene el nombre IUPAC 2,2,2-Trifluoro-N-((1R,2S)-1-((1-(4-fluorofenil)-1H-indazol-5-il)oxi)-1-(3-metoxifenil)-2-propanil)acetamida y tiene la siguiente estructura:



10

AZD-2906 tiene el nombre IUPAC N-((1R,2S)-1-((1-(4-fluorofenil)-1H-indazol-5-il)oxi)-1-(6-metoxipiridin-3-il)propan-2-il)ciclopropanocarboxamida y tiene la siguiente estructura:



JPT-117968 tiene la siguiente estructura:

$$A-C(Z)-N(R^c)-C(R^1)(R^2)-C(R^3)(R^4)-X-\text{Indole} \quad (I)$$

fenilo, alquilo C₁₋₄, cicloalquilo C₃₋₇, tienilo, isoxazolilo, pirazolilo, piridinilo, piridazinilo o pirimidinilo, todos los cuales están opcionalmente sustituidos con uno o más sustituyentes seleccionados independientemente de hidroxialquilo C₁₋₃, hidroxilo, alquilo C₁₋₄, alcoxi C₁₋₄, alquilC₁₋₄-tioalquiloC₁₋₄, tioalquilo C₁₋₄, cicloalquilC₃₋₆-tioalquiloC₁₋₄, cicloalquilC₃₋₅S, cicloalquilo C₃₋₆, cicloalquilC₃₋₆-alquiloC₁₋₄, heterocicloalquilo C₃₋₆, heterocicloalquilC₃₋₆-alquiloC₁₋₄, alquilC_{i-4}S(O)_n-alquiloC₁₋₄, alquilC₁₋₄S(O)_n, haloalquilo C₁₋₄, haloalquilC₁₋₄O, halógeno, nitro, ciano, alquilC₁₋₄O-alquilo C₁₋₄, alquilC₁₋₄OalquilC₁₋₄alquiloC₁₋₄, alquilC₁₋₄-C(O)alquiloC₁₋₄, alquilC₁₋₄-C(O), alquilC₁₋₄-C(O)O-alquiloC₁₋₄, alquilC₁₋₄-C(O)O, alquilC₁₋₄OC(O)alquiloC₁₋₄, alquilC₁₋₄OC(O), NR¹⁰R¹¹, NR¹⁰RⁿC(O)alquiloC₁₋₄, NR¹⁰R¹¹C(O), NR¹⁰R¹¹C(O)O, NR¹⁰R¹¹alquiloC₁₋₄, NR¹⁰R¹¹OC(O), R¹¹C(O)R¹⁰NalquiloC₁₋₄, R¹¹C(O)R¹⁰NH, alquilC₁₋₄OC(O)alquilC₁₋₄NH, alquilC₁₋₄OC(O)NH alquilC₁₋₄-C(O)OalquilC₁₋₄MH, alquilC₁₋₄C(O)alquilC₁₋₄NH, alquilC₁₋₄-C(O)NH, NR¹⁰R¹¹S(O)_nalquiloC₁₋₄ o NR¹⁰R¹¹S(O)_n;

X es CH₂, O, S, S(O)_n, NH o NalquiloC₁₋₄;

Y es hidrógeno, halógeno, tioalquilo C₁₋₄, haloalquilo C₁₋₄, haloalquilC₁₋₄O, nitro, ciano, hidroxilo, R¹²C(O), R¹²OC(O), R¹²C(O)O, alquilC₁₋₆S(O)_n, R¹²R¹³NS(O)_n, benciloxi, imidazolilo, alquilC₁₋₄NHC(O), NR¹²R¹³C(O), alquilC₁₋₄-C(O)NH o NR¹²R¹³;

Z es O o S;

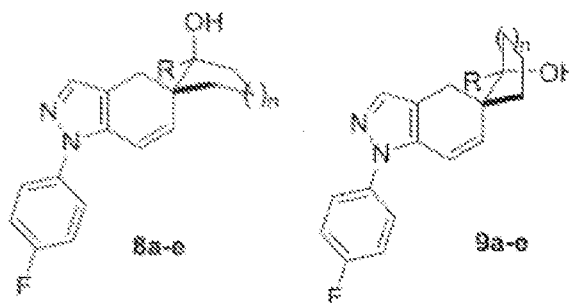
R⁵, R⁶, R⁸, R⁹, R¹⁰, R¹¹, R¹² y R¹³ se seleccionan independientemente de hidrógeno, alquilC₁₋₆-C(O), NHR⁷C(O) y alquilo C₁₋₆; y

R⁷ es hidrógeno, alquilo C₁₋₆, alquilC₁₋₆-C(O)OalquiloC₁₋₃, alquilC₁₋₆-C(O)O alquilC₁₋₆OC(O)alquiloC₁₋₃, alquilC₁₋₆OC(O), alquilC₁₋₆C(O), heteroarilC₅₋₁₀-alquiloC₁₋₃, heteroarilo C₅₋₁₀, arilC₅₋₁₀O-alquiloC₁₋₃, arilC₅₋₁₀O, cicloalquilC₃₋₆alquiloC₁₋₃ o cicloalquilo C₃₋₆;

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

Badarau E. et al. (*European Journal of Medicinal Chemistry*, 2019, 161: 354-363) describen análogos espirocíclicos de fluorocortivazol. Los compuestos descritos de ejemplo y su síntesis son:

- compuestos de fórmulas 8a-e y 9a-e:



en donde:

en los compuestos 8a, 8b: n = 1, R = fenilo,

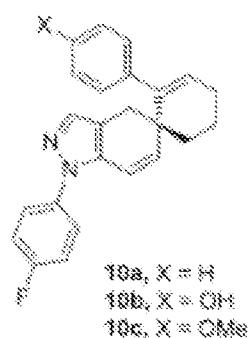
en los compuestos 8b, 9b: n = 2, R = dibencilo,

en los compuestos 8c, 9c: n = 3, R = fenilo,

en los compuestos 8d, 9d: n = 3, R = fenilo,

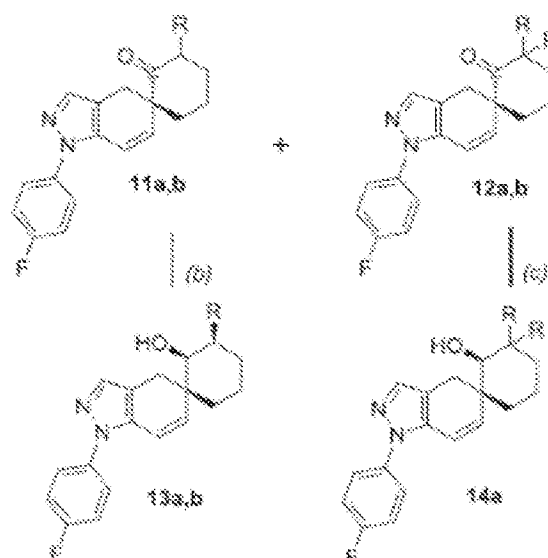
en los compuestos 8e, 9e: n=3, R=bencilo.

- compuestos de fórmulas 10a-c:



y

- compuestos de fórmulas 11a-b, 12a-b, 13a-b y 14a:



5

en donde

en los compuestos 11a, 12a, 13a, 14a: R = bencilo

en los compuestos 11b, 12b, 13b: R = propargilo.

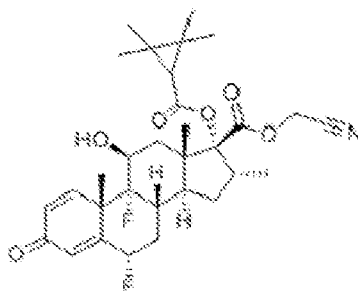
BI-54903 también se conoce como tiotropio, en particular su sal de bromuro.

BI-607812 tiene la siguiente estructura:

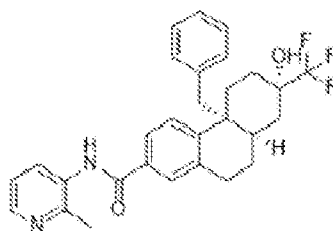


10

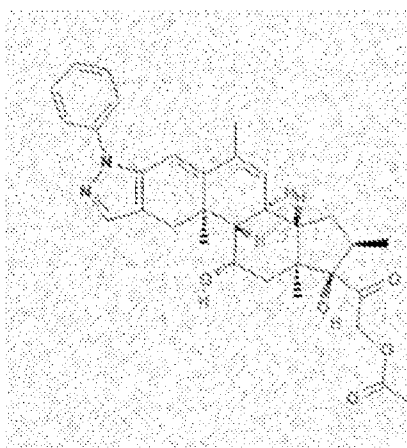
GW8700086X tiene la siguiente estructura:



PF-00251802 es el metabolito activo del metabolito activo de fosdagrocorat. PF-00251802 también se conoce como dagrocorat y tiene la siguiente estructura:



5 El cortivazol tiene la siguiente estructura:



El fluorocortivazol es conocido en la técnica y se describe, por ejemplo, en Badarau E. (2019; véase antes).

10 Los documentos WO 2008/021728 A2, WO 2008/021729 A2, WO 2008/005686 A2, WO 2008/027796 A2, WO 2009/042377 A1, WO 2010/123769 A1, WO 2009/023471 A2, WO 2012/170175 A1 y WO 2008/033655 A2 describen compuestos DIGRA de fórmula (I):



15 en donde A y Q se seleccionan independientemente del grupo que consiste en grupos arilo y heteroarilo no sustituidos y sustituidos, grupos cicloalquilo y heterocicloalquilo no sustituidos y sustituidos, grupos cicloalqueno y heterocicloalqueno no sustituidos y sustituidos, grupos cicloalquino y heterocicloalquino no sustituidos y sustituidos, y grupos heterocíclicos no sustituidos y sustituidos; R¹ y R² se seleccionan independientemente del grupo que consiste en hidrógeno, grupos alquilo lineales o ramificados C₁-C₁₅ (alternativamente, C₁-C₁₀ o C₁-C₅ o C₁-C₃) no sustituidos, grupos alquilo lineales o ramificados C₁-C₁₅ (alternativamente, C₁-C₁₀ o C₁-C₅ o C₁-C₃) sustituidos, grupos cicloalquilo C₃-C₁₅ no sustituidos y grupos cicloalquilo C₃-C₁₅ (alternativamente, C₃-C₆ o C₃-C₅) sustituidos; R³ se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, grupos alquilo lineales o ramificados C₁-C₁₅ (alternativamente, C₁-C₁₀ o C₁-C₅ o C₁-C₃) no sustituidos, grupos alquilo lineales o ramificados C₁-C₁₅ (alternativamente, C₁-C₁₀ o C₁-C₅ o C₁-C₃) sustituidos, grupos cicloalquilo y heterocicloalquilo C₃-C₁₅ (alternativamente, C₃-C₆ o C₃-C₅) no sustituidos, grupos cicloalquilo y heterocicloalquilo C₃-C₁₅ (alternativamente, C₃-C₆ o C₃-C₅) sustituidos, grupos arilo, grupos heteroarilo y grupos

heterociclilo; B comprende un grupo carbonilo, amino, hidrocarburo divalente o heterohidrocarburo; E es un grupo hidroxilo o amino; y D está ausente o comprende un grupo carbonilo, -NH- o -NR'-, en donde R' comprende un grupo alquilo lineal o ramificado C₁-C₁₅ (alternativamente, C₁-C₁₀ o C₁-C₅ o C₁-C₃) no sustituido o sustituido; y en donde R¹ y R² juntos pueden formar un grupo cicloalquilo C₃-C₁₅ no sustituido o sustituido.

5 En una realización, B puede comprender uno o más enlaces carbono-carbono insaturados.

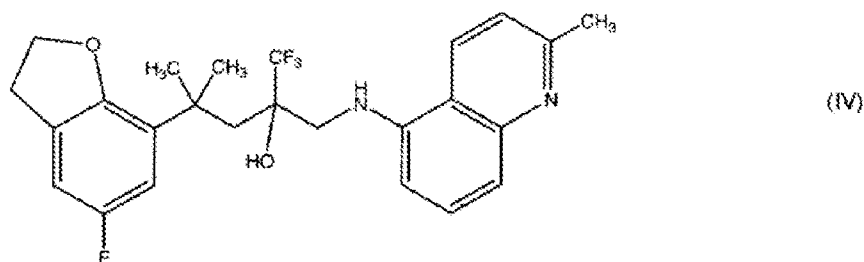
En otra realización, B puede comprender un grupo alquilenocarbonilo, alquilenoxycarbonilo, alquilenocarbonilo, alquilenoxycarbonilamino, alquilenamino, alquilenocarbonilo, alquilenoxycarbonilo, alquilenocarbonilo, alquilenoxycarbonilamino, alquilenamino, alquilenocarbonilo, alquilenoxycarbonilo, alquilenocarbonilo, alquilenoxycarbonilamino, alquilenamino, arilcarbonilo, ariloxycarbonilo o ureido.

10 En otra realización más, A y Q se seleccionan independientemente del grupo que consiste en grupos arilo y heteroarilo sustituidos con al menos un átomo de halógeno, grupo ciano, grupo hidroxilo o grupo alcoxi C₁-C₁₀ (alternativamente, un grupo alcoxi C₁-C₅ o grupo alcoxi C₁-C₃); R¹, R² y R³ se seleccionan independientemente del grupo que consiste en grupos alquilo C₁-C₅ (preferiblemente, grupos alquilo C₁-C₃) no sustituidos y sustituidos; B es un grupo alquilenocarbonilo C₁-C₅ (alternativamente, grupos alquilo C₁-C₃); D es el grupo -NH- o -NR'-, en donde R' es un grupo alquilo C₁-C₅ (preferiblemente, grupo alquilo C₁-C₃); y E es el grupo hidroxilo.

En otra realización más, A comprende un grupo dihidrobenzofuranilo sustituido con un átomo de halógeno; Q comprende un grupo quinolinilo o isoquinolinilo sustituido con un grupo alquilo C₁-C₁₀; R¹ y R² se seleccionan independientemente del grupo que consiste en grupos alquilo C₁-C₅ (preferiblemente, grupos alquilo C₁-C₃) no sustituidos y sustituidos; B es un grupo alquilenocarbonilo C₁-C₃; D es el grupo -NH-; E es el grupo hidroxilo; y R³ comprende un grupo alquilo C₁-C₁₀ completamente halogenado (preferiblemente, grupo alquilo C₁-C₅ completamente halogenado; más preferiblemente, grupo alquilo C₁-C₃ completamente halogenado).

En otra realización más, A comprende un grupo dihidrobenzofuranilo sustituido con un átomo de flúor; Q comprende un grupo quinolinilo o isoquinolinilo sustituido con un grupo metilo; R¹ y R² se seleccionan independientemente del grupo que consiste en grupos alquilo C₁-C₅ no sustituidos y sustituidos; B es un grupo alquilenocarbonilo C₁-C₃; D es el grupo -NH-; E es el grupo hidroxilo; y R comprende un grupo trifluorometilo.

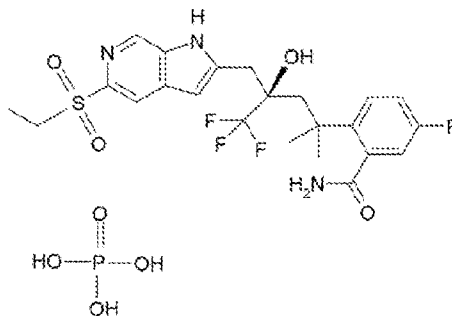
Además, se describe un compuesto DIGRA de fórmula (IV), que es mapracorat:



El documento WO 2013/126156 A1 describe compuestos DIGRA donadores de NO.

30 BI653048 es el compuesto (R)-2-(4-((5-(etilsulfonil)-1H-pirrol[2,3-c]piridin-2-il)metil)-5,5,5-trifluoro-4-hidroxil-2-metilpentan-2-il)-5-fluorobenzamida.

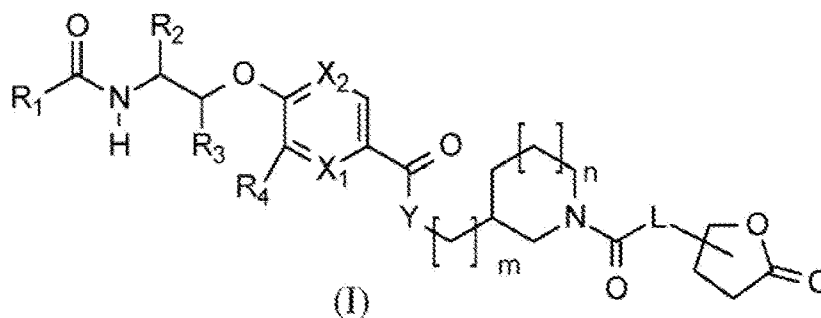
La sal fosfato de la misma tiene la siguiente estructura:



BI653048 y los compuestos relacionados, así como su síntesis, se describen en los documentos WO 2009/149139 A1 y EP 2 300 472.

35 El documento WO 2017/046096 describe los siguientes compuestos SEGRM así como su síntesis:

Un compuesto de la siguiente fórmula (I) a continuación:



en donde

R₁ se selecciona del grupo que consiste en heteroarilo de 5 y 6 miembros, alquilo (C₁-C₆), cicloalquilo (C₃-C₆), heterocicloalquilo de (4-6) miembros y fenilo, en donde dichos heteroarilo de 5 y 6 miembros, alquilo (C₁-C₆), cicloalquilo (C₃-C₆), heterocicloalquilo de (4-6) miembros y fenilo están opcionalmente sustituidos con uno o más sustituyentes seleccionados independientemente de alquilo (C₁-C₄), alcoxi (C₁-C₄), halógeno, hidroxilo y ciano;

R₂ se selecciona de alquilo (C₁-C₃) y haloalquilo (C₁-C₃);

R₃ se selecciona de fenilo, heteroarilo de 5 miembros y heteroarilo de 6 miembros, en donde dicho fenilo, heteroarilo de 5 miembros y heteroarilo de 6 miembros están opcionalmente sustituidos con uno o más sustituyentes seleccionados independientemente de R₅;

R₄ se selecciona de hidrógeno, halógeno, alquilo (C₁-C₄) y haloalquilo (C₁-C₄);

R₅ se selecciona de halógeno, ciano, alquilo (C₁-C₆), cicloalquilo (C₃-C₆), alcoxi (C₁-C₆), haloalquilo (C₁-C₆), haloalcoxi (C₁-C₆), hidroxialquilo (C₁-C₆), fenilo, heteroarilo de 5 miembros, heteroarilo de 6 miembros y -S(O)₂R_a, en donde R_a representa alquilo (C₁-C₄);

X₁ se selecciona de CH, C(R_b) y N, en donde R_b representa halógeno, alquilo (C₁-C₄) o haloalquilo (C₁-C₄);

X₂ se selecciona de CH y N;

Y se selecciona de -NH- y -O-;

m es 0 o 1; n es 0 o 1;

L representa un enlace, -O-, -NH- o -N(R_c)-, en donde R_c representa alquilo (C₁-C₄);

o sales, hidratos o solvatos farmacéuticamente aceptables de los mismos.

Se describe que el compuesto SEGRM para su uso se selecciona de los siguientes compuestos:

N-[(3S)-1-[(3R)-5-oxotetrahidrofuran-3-carbonil]-3-piperidil]-5-[(1R,2S)-1-(p-tolil)-2-[(2,2,2-trifluoroacetil)amino]propoxi]piridina-2-carboxamida,

5-[(1R,2S)-1-(4-ciclopropilfenil)-2-[(2,2,2-trifluoroacetil)amino]propoxi]-N-[(3S)-1-[(3R)-5-oxotetrahidrofuran-3-carbonil]-3-piperidil]piridina-2-carboxamida,

5-[(1R,2S)-1-(4-ciclopropilfenil)-2-(2,2-difluoropropanoilamino)propoxi]-N-[(3S)-1-[(3R)-5-oxotetrahidrofuran-3-carbonil]-3-piperidil]piridina-2-carboxamida,

N-[(1S,2R)-2-(4-ciclopropilfenil)-1-metil-2-[[6-[(3S)-1-[(3R)-5-oxotetrahidrofuran-3-carbonil]-3-piperidil]carbamoil]-3-piridil]oxi]etil]isotiazol-3-carboxamida,

N-[(1S,2R)-2-(4-ciclopropilfenil)-1-metil-2-[[6-[(3S)-1-[(3R)-5-oxotetrahidrofuran-3-carbonil]-3-piperidil]carbamoil]-3-piridil]oxi]etil]isotiazol-5-carboxamida,

N-[(1S,2R)-2-(4-ciclopropilfenil)-1-metil-2-[[6-[(3S)-1-[(3R)-5-oxotetrahidrofuran-3-carbonil]-3-piperidil]carbamoil]-3-piridil]oxi]etil]oxazol-2-carboxamida,

N-[(1S,2R)-2-(4-ciclopropilfenil)-1-metil-2-[[6-[(3S)-1-[(3R)-5-oxotetrahidrofuran-3-carbonil]-3-piperidil]carbamoil]-3-piridil]oxi]etil]tiazol-4-carboxamida,

N-[(1S,2R)-2-(4-ciclopropilfenil)-1-metil-2-[[6-[(3S)-1-[(3R)-5-oxotetrahidrofuran-3-carbonil]-3-piperidil]carbamoil]-3-piridil]oxi]etil]-3-metil-isoxazol-5-carboxamida,

N-[(1S,2R)-2-(4-ciclopropilfenil)-1-metil-2-[[6-[(3S)-1-[(3R)-5-oxotetrahidrofuran-3-carbonil]-3-

piperidil]carbamoil]-3-piridil]oxi]etil]oxazol-5-carboxamida,

5-[(1R,2S)-1-(4-ciclopropilfenil)-2-[(2S)-2-hidroxi-butanoil]amino]propoxi]-N-[(3S)-1-[(3R)-5-oxotetrahidrofuran-3-carbonil]-3-piperidil]piridina-2-carboxamida,

5-[(1R,2S)-1-(4-ciclopropilfenil)-2-[(2R)-2-hidroxi-propanoil]amino]propoxi]-N-[(3S)-1-[(3R)-5-oxotetrahidrofuran-3-carbonil]-3-piperidil]piridina-2-carboxamida,

N-[(1S,2R)-2-(4-ciclopropilfenil)-1-metil-2-[[6-[(3S)-1-[(3R)-5-oxotetrahidrofuran-3-carbonil]-3-piperidil]carbamoil]-3-piridil]oxi]etil]isoxazol-5-carboxamida,

5-[(1R,2S)-1-(4-ciclopropilfenil)-2-[(2R)-2-hidroxi-butanoil]amino]propoxi]-N-[(3S)-1-[(3R)-5-oxotetrahidrofuran-3-carbonil]-3-piperidil]piridina-2-carboxamida,

5-[(1R,2S)-1-(4-ciclopropilfenil)-2-[(2-metoxiacetil)amino]propoxi]-N-[(3S)-1-[(3R)-5-oxotetrahidrofuran-3-carbonil]-3-piperidil]piridina-2-carboxamida,

5-[(1R,2S)-1-(4-ciclopropilfenil)-2-[(2-hidroxi-2-metil-propanoil)amino]propoxi]-N-[(3S)-1-[(3R)-5-oxotetrahidrofuran-3-carbonil]-3-piperidil]piridina-2-carboxamida,

5-[(1R,2S)-1-(4-ciclopropilfenil)-2-(3-hidroxi-propanoilamino)propoxi]-N-[(3S)-1-[(3R)-5-oxotetrahidrofuran-3-carbonil]-3-piperidil]piridina-2-carboxamida,

5-[(1R,2S)-1-(4-ciclopropilfenil)-2-[(1-hidroxiciclobutanocarbonil)amino]propoxi]-N-[(3S)-1-[(3R)-5-oxotetrahidrofuran-3-carbonil]-3-piperidil]piridina-2-carboxamida,

5-[(1R,2S)-1-(4-ciclopropilfenil)-2-[(1-hidroxiciclopropanocarbonil)amino]propoxi]-N-[(3S)-1-[(3R)-5-oxotetrahidrofuran-3-carbonil]-3-piperidil]piridina-2-carboxamida,

N-[(1S,2R)-2-(4-ciclopropilfenil)-1-metil-2-[[6-[(3S)-1-[(3R)-5-oxotetrahidrofuran-3-carbonil]-3-piperidil]carbamoil]-3-piridil]oxi]etil]oxazol-4-carboxamida,

5-[(1R,2S)-1-(4-ciclopropilfenil)-2-[(2S)-tetrahidrofuran-2-carbonil]amino]propoxi]-N-[(3S)-1-[(3R)-5-oxotetrahidrofuran-3-carbonil]-3-piperidil]piridina-2-carboxamida,

5-[(1R,2S)-1-(4-ciclopropilfenil)-2-[(2-hidroxiacetil)amino]propoxi]-N-[(3S)-1-[(3R)-5-oxotetrahidrofuran-3-carbonil]-3-piperidil]piridina-2-carboxamida,

5-[(1R,2S)-1-(4-ciclopropilfenil)-2-[(2R)-tetrahidrofuran-2-carbonil]amino]propoxi]-N-[(3S)-1-[(3R)-5-oxotetrahidrofuran-3-carbonil]-3-piperidil]piridina-2-carboxamida,

N-[(1S,2R)-2-(4-ciclopropilfenil)-1-metil-2-[[6-[(3S)-1-[(3R)-5-oxotetrahidrofuran-3-carbonil]-3-piperidil]carbamoil]-3-piridil]oxi]etil]isoxazol-3-carboxamida,

4-[(1R,2S)-1-(4-ciclopropilfenil)-2-[(2,2,2-trifluoroacetil)amino]propoxi]benzoato de [(3S)-1-[(3R)-5-oxotetrahidrofuran-3-carbonil]-3-piperidilo],

4-[(1R,2S)-1-(4-ciclopropilfenil)-2-(1,2,5-tiadiazol-3-carbonilamino)propoxi]benzoato de [(3S)-1-[(3R)-5-oxotetrahidrofuran-3-carbonil]-3-piperidilo],

4-[(1R,2S)-1-(4-ciclopropilfenil)-2-[(5-metiltiazol-2-carbonil)amino]proxi]benzoato de [(3S)-1-[(3R)-5-oxotetrahidrofuran-3-carbonil]-3-piperidilo],

4-[(1R,2S)-1-(4-ciclopropilfenil)-2-(tiazol-5-carbonilamino)propoxi]benzoato de [(3S)-1-[(3R)-5-oxotetrahidrofuran-3-carbonil]-3-piperidilo],

4-[(1R,2S)-1-(4-ciclopropilfenil)-2-[(4-metil-1,2,5-oxadiazol-3-carbonil)amino]propoxi]benzoato de [(3S)-1-[(3R)-5-oxotetrahidrofuran-3-carbonil]-3-piperidilo],

4-[(1R,2S)-1-(4-ciclopropilfenil)-2-[(5-metiltiazol-4-carbonil)amino]propoxi]benzoato de [(3S)-1-[(3R)-5-oxotetrahidrofuran-3-carbonil]-3-piperidilo],

4-[(1R,2S)-1-(4-ciclopropilfenil)-2-[(4-metiltiazol-5-carbonil)amino]propoxi]benzoato de [(3S)-1-[(3R)-5-oxotetrahidrofuran-3-carbonil]-3-piperidilo],

4-[(1R,2S)-1-(4-ciclopropilfenil)-2-[(5-metil-1,3,4-oxadiazol-2-carbonil)amino]propoxi]benzoato de [(3S)-1-[(3R)-5-oxotetrahidrofuran-3-carbonil]-3-piperidilo],

4-[(1R,2S)-1-(4-ciclopropilfenil)-2-[(4-metil-1,3,4-oxadiazol-5-carbonil)amino]propoxi]benzoato de [(3S)-1-[(3R)-5-oxotetrahidrofuran-3-carbonil]-3-piperidilo],

4-[(1R,2S)-1-(4-ciclopropilfenil)-2-[(4-metiloxazol-5-carbonil)amino]propoxi]benzoato de [(3S)-1-[(3R)-5-

oxotetrahidrofuran-3-carbonil]-3-piperidilo],

4-[(1R,2S)-1-(4-ciclopropilfenil)-2-[(2-metoxiacetil)amino]propoxi]benzoato de [(3S)-1-[(3R)-5-oxotetrahidrofuran-3-carbonil]-3-piperidilo],

5 4-[(1R,2S)-1-(4-ciclopropilfenil)-2-[(2-metilpirazol-3-carbonil)amino]propoxi]benzoato de [(3S)-1-[(3R)-5-oxotetrahidrofuran-3-carbonil]-3-piperidilo],

4-[(1R,2S)-1-(4-ciclopropilfenil)-2-[(2-metiltiazol-5-carbonil)amino]propoxi]benzoato de [(3S)-1-[(3R)-5-oxotetrahidrofuran-3-carbonil]-3-piperidilo],

4-[(1R,2S)-1-(4-ciclopropilfenil)-2-[(2R)-tetrahidrofuran-2-carbonil]amino]propoxi]benzoato de [(3S)-1-[(3R)-5-oxotetrahidrofuran-3-carbonil]-3-piperidilo],

10 4-[(1R,2S)-1-(4-ciclopropilfenil)-2-[(3-metiltriazol-4-carbonil)amino]propoxi]benzoato de [(3S)-1-[(3R)-5-oxotetrahidrofuran-3-carbonil]-3-piperidilo],

4-[(1R,2S)-1-(4-ciclopropilfenil)-2-(1,2,4-oxadiazol-3-carbonilamino)propoxi]benzoato de [(3S)-1-[(3R)-5-oxotetrahidrofuran-3-carbonil]-3-piperidilo],

15 4-[(1R,2S)-1-(4-ciclopropilfenil)-2-[(1-metilimidazol-2-carbonil)amino]propoxi]benzoato de [(3S)-1-[(3R)-5-oxotetrahidrofuran-3-carbonil]-3-piperidilo],

4-[(1R,2S)-1-(4-ciclopropilfenil)-2-[(3-metilisoxazol-5-carbonil)amino]propoxi]benzoato de [(3S)-1-[(3R)-5-oxotetrahidrofuran-3-carbonil]-3-piperidilo],

4-[(1R,2S)-1-(4-ciclopropilfenil)-2-[(5-metil-1,2,4-oxadiazol-3-carbonil)amino]propoxi]benzoato de [(3S)-1-[(3R)-5-oxotetrahidrofuran-3-carbonil]-3-piperidilo],

20 4-[(1R,2S)-1-(4-ciclopropilfenil)-2-[(1-metilimidazol-4-carbonil)amino]propoxi]benzoato de [(3S)-1-[(3R)-5-oxotetrahidrofuran-3-carbonil]-3-piperidilo],

4-[(1R,2S)-1-(4-ciclopropilfenil)-2-(isotiazol-3-carbonilamino)propoxi]benzoato de [(3S)-1-[(3R)-5-oxotetrahidrofuran-3-carbonil]-3-piperidilo],

25 4-[(1R,2S)-1-(4-ciclopropilfenil)-2-[(3-metilisoxazol-4-carbonil)amino]propoxi]benzoato de [(3S)-1-[(3R)-5-oxotetrahidrofuran-3-carbonil]-3-piperidilo],

4-[(1R,2S)-1-(4-ciclopropilfenil)-2-(tiazol-2-carbonilamino)propoxi]benzoato de [(3S)-1-[(3R)-5-oxotetrahidrofuran-3-carbonil]-3-piperidilo],

4-[(1R,2S)-1-(4-ciclopropilfenil)-2-(isotiazol-5-carbonilamino)propoxi]benzoato de [(3S)-1-[(3R)-5-oxotetrahidrofuran-3-carbonil]-3-piperidilo],

30 4-[(1R,2S)-1-(4-ciclopropilfenil)-2-[(5-metilisotiazol-4-carbonil)amino]propoxi]benzoato de [(3S)-1-[(3R)-5-oxotetrahidrofuran-3-carbonil]-3-piperidilo],

4-[(1R,2S)-1-(4-ciclopropilfenil)-2-(oxazol-2-carbonilamino)propoxi]benzoato de [(3S)-1-[(3R)-5-oxotetrahidrofuran-3-carbonil]-3-piperidilo],

35 4-[(1R,2S)-1-(4-ciclopropilfenil)-2-(oxazol-5-carbonilamino)propoxi]benzoato de [(3S)-1-[(3R)-5-oxotetrahidrofuran-3-carbonil]-3-piperidilo],

4-[(1R,2S)-1-(4-ciclopropilfenil)-2-(isoxazol-3-carbonilamino)propoxi]benzoato de [(3S)-1-[(3R)-5-oxotetrahidrofuran-3-carbonil]-3-piperidilo],

4-[(1R,2S)-1-(4-ciclopropilfenil)-2-(tiadiazol-4-carbonilamino)propoxi]benzoato de [(3S)-1-[(3R)-5-oxotetrahidrofuran-3-carbonil]-3-piperidilo],

40 4-[(1R,2S)-1-(4-ciclopropilfenil)-2-[(5-metilisoxazol-3-carbonil)amino]propoxi]benzoato de [(3S)-1-[(3R)-5-oxotetrahidrofuran-3-carbonil]-3-piperidilo],

4-[(1R,2S)-1-(4-ciclopropilfenil)-2-(isoxazol-5-carbonilamino)propoxi]benzoato de [(3S)-1-[(3R)-5-oxotetrahidrofuran-3-carbonil]-3-piperidilo],

45 4-[(1R,2S)-1-(4-ciclopropilfenil)-2-(tiazol-4-carbonilamino)propoxi]benzoato de [(3S)-1-[(3R)-5-oxotetrahidrofuran-3-carbonil]-3-piperidilo],

4-[(1R,2S)-1-(4-ciclopropilfenil)-2-[(3-metil-1,2,4-oxadiazol-5-carbonil)amino]propoxi]benzoato de [(3S)-1-[(3R)-5-oxotetrahidrofuran-3-carbonil]-3-piperidilo],

4-[(1R,2S)-1-(4-ciclopropilfenil)-2-[(1-metilpirazol-3-carbonil)amino]propoxi]benzoato de [(3S)-1-[(3R)-5-

oxotetrahidrofuran-3-carbonil]-3-piperidilo],

4-[(1R,2S)-1-(4-ciclopropilfenil)-2-(2,2-difluoropropanoilamino)propoxi]benzoato de [(3S)-1-[(3R)-5-oxotetrahidrofuran-3-carbonil]-3-piperidilo],

5 N-[(3R)-1-[(3R)-5-oxotetrahidrofuran-3-carbonil]-3-piperidil]-5-[(1R,2S)-1-(p-tolil)-2-(2,2,2-trifluoroacetil)amino]propoxi]piridina-2-carboxamida,

N-[(3R)-1-[(3S)-5-oxotetrahidrofuran-3-carbonil]-3-piperidil]-5-[(1R,2S)-1-(p-tolil)-2-(2,2,2-trifluoroacetil)amino]propoxi]piridina-2-carboxamida,

N-[(3R)-1-[(2S)-5-oxotetrahidrofuran-2-carbonil]-3-piperidil]-5-[(1R,2S)-1-(p-tolil)-2-(2,2,2-trifluoroacetil)amino]propoxi]piridina-2-carboxamida,

10 N-[(3R)-1-[(2R)-5-oxotetrahidrofuran-2-carbonil]-3-piperidil]-5-[(1R,2S)-1-(p-tolil)-2-(2,2,2-trifluoroacetil)amino]propoxi]piridina-2-carboxamida,

N-[(3S)-1-[(3S)-5-oxotetrahidrofuran-3-carbonil]-3-piperidil]-5-[(1R,2S)-1-(p-tolil)-2-(2,2,2-trifluoroacetil)amino]propoxi]piridina-2-carboxamida,

15 N-[(3S)-1-[(2S)-5-oxotetrahidrofuran-2-carbonil]-3-piperidil]-5-[(1R,2S)-1-(p-tolil)-2-(2,2,2-trifluoroacetil)amino]propoxi]piridina-2-carboxamida,

N-[(3R)-1-[(3R)-5-oxotetrahidrofuran-3-carbonil]pirrolidin-3-il]-5-[(1R,2S)-1-(p-tolil)-2-(2,2,2-trifluoroacetil)amino]propoxi]piridina-2-carboxamida,

5-[(1R,2S)-1-(4-etilfenil)-2-(2,2,2-trifluoroacetil)amino]propoxi]-N-[(3S)-1-[(3R)-5-oxotetrahidrofuran-3-carbonil]-3-piperidil]piridina-2-carboxamida,

20 5-[(1R,2S)-1-(4-bromofenil)-2-(2,2,2-trifluoroacetil)amino]propoxi]-N-[(3S)-1-[(3R)-5-oxotetrahidrofuran-3-carbonil]-3-piperidil]piridina-2-carboxamida,

N-[(3S)-1-[(3R)-5-oxotetrahidrofuran-3-carbonil]-3-piperidil]-5-[(1R,2S)-1-(4-fenil)-2-(2,2,2-trifluoroacetil)amino]propoxi]piridina-2-carboxamida,

25 N-[(3S)-1-[(3R)-5-oxotetrahidrofuran-3-carbonil]-3-piperidil]-4-[(1R,2S)-1-(p-tolil)-2-(2,2,2-trifluoroacetil)amino]propoxi]benzamida,

4-[(1R,2S)-1-(p-tolil)-2-(2,2,2-trifluoroacetil)amino]propoxi]benzoato de [(3S)-1-[(3R)-5-oxotetrahidrofuran-3-carbonil]-3-piperidilo],

N-[(3S)-1-[(3S)-5-oxotetrahidrofuran-3-il]carbamoil]-3-piperidil]-5-[(1R,2S)-1-(p-tolil)-2-(2,2,2-trifluoroacetil)amino]propoxi]piridina-2-carboxamida,

30 N-[(3S)-1-[(3R)-5-oxotetrahidrofuran-3-il]carbamoil]-3-piperidil]-5-[(1R,2S)-1-(p-tolil)-2-(2,2,2-trifluoroacetil)amino]propoxi]piridina-2-carboxamida,

(3S)-3-[[5-[(1R,2S)-1-(p-tolil)-2-(2,2,2-trifluoroacetil)amino]propoxi]piridin-2-carbonil]amino]piperidina-1-carboxilato de [(3S)-2-oxotetrahidrofuran-3-ilo],

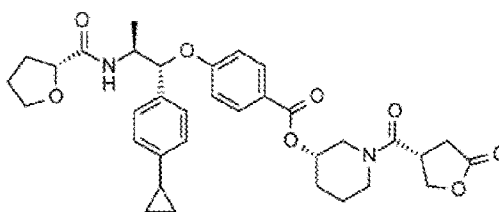
35 (3S)-3-[[5-[(1R,2S)-1-(p-tolil)-2-(2,2,2-trifluoroacetil)amino]propoxi]piridin-2-carbonil]amino]piperidina-1-carboxilato de [(3R)-2-oxotetrahidrofuran-3-ilo],

(3S)-3-[[5-[(1R,2S)-1-(p-tolil)-2-(2,2,2-trifluoroacetil)amino]propoxi]piridin-2-carbonil]amino]piperidina-1-carboxilato de [(3S)-5-oxotetrahidrofuran-3-ilo] o

(3S)-3-[[5-[(1R,2S)-1-(p-tolil)-2-(2,2,2-trifluoroacetil)amino]propoxi]piridin-2-carbonil]amino]piperidina-1-carboxilato de [(3R)-5-oxotetrahidrofuran-3-ilo]

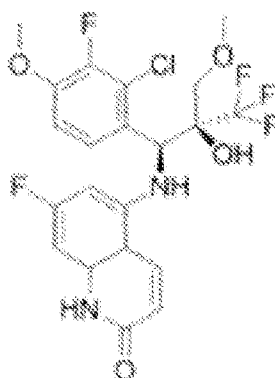
40 o sales, hidratos o solvatos farmacéuticamente aceptables de los mismos.

El 4-[(1R,2S)-1-(4-ciclopropilfenil)-2-[(2R)-tetrahidrofuran-2-carbonil]amino]propoxil-benzoato de [(3S)-1-[(3R)-5-oxotetrahidrofuran-3-carbonil]-3-piperidilo] o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo corresponde al "Compuesto 37" en el documento WO 2017/046096 y tiene la siguiente estructura:



Los tres compuestos SEGRM siguientes, así como su síntesis, se describen en el documento WO 2009/065503.

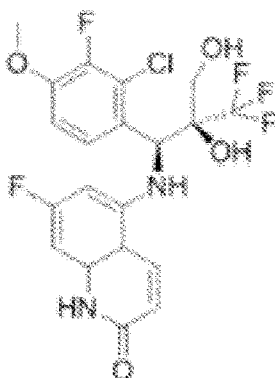
La 5-[[[(1S,2S)-1-(2-cloro-3-fluoro-4-metoxifenil)-3,3,3-trifluoro-2-hidroxi-2-(metoximetil)propil]amino]-7-fluoro-1H-quinolin-2-ona tiene la siguiente estructura:



El compuesto se conoce como ejemplo 5 del documento WO 2009/065503 A (sin estereoquímica como racemato) y se puede obtener a partir de la forma racémica por HPLC quiral en Chiralpak IC 5 μ m con el eluyente hexano/etanol (4:1).

Se puede usar según la invención la 5-[[[(1S,2S)-1-(2-cloro-3-fluoro-4-metoxifenil)-3,3,3-trifluoro-2-hidroxi-2-(metoximetil)propil]amino]-7-fluoro-1H-quinolin-2-ona o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma.

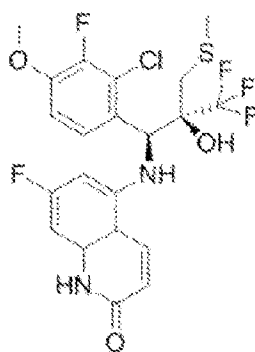
La 5-[[[(1S,2S)-1-(2-cloro-3-fluoro-4-metoxifenil)-3,3,3-trifluoro-2-hidroxi-2-(hidroximetil)propil]amino]-7-fluoro-1H-quinolin-2-ona tiene la siguiente estructura:



El compuesto se conoce como ejemplo 7 del documento WO 2009/065503 A (sin estereoquímica como racemato) y se puede obtener a partir de la forma racémica por HPLC quiral en Chiralpak IC 5 μ m con el eluyente hexano/etanol (4:1).

Se puede usar según la invención la 5-[[[(1S,2S)-1-(2-cloro-3-fluoro-4-metoxifenil)-3,3,3-trifluoro-2-hidroxi-2-(hidroximetil)propil]amino]-7-fluoro-1H-quinolin-2-ona o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma.

La 5-[[[(1S,2R)-1-(2-cloro-3-fluoro-4-metoxifenil)-3,3,3-trifluoro-2-hidroxi-2-([metilsulfanil]metil)propil]amino]-1H-quinolin-2-ona tiene la fórmula siguiente:

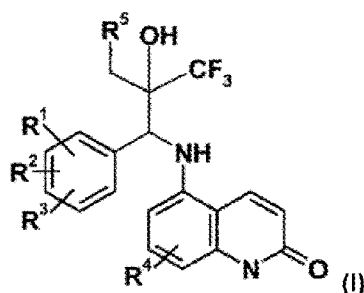


El compuesto se conoce como ejemplo 3 del documento WO 2009/065503 (sin estereoquímica como racemato) y se puede obtener a partir de la forma racémica por HPLC quiral en Chiralpak IC 5 μ m con el eluyente hexano/etanol (4:1).

Se puede usar según la invención la 5-[(1S,2R)[1-(2-cloro-3-fluoro-4-metoxifenil)-3,3,3-trifluoro-2-hidroxi-2-[(metilsulfanil]metil)propil]amino]-1H-quinolin-2-ona o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma.

Estos compuestos SEGRM, así como su síntesis, se describen en el documento WO 2009/065503.

Se describe el uso de los compuestos de Fórmula (I) pero no forma parte de la invención:



en donde

R^1 y R^2 independientemente entre sí, significan un átomo de hidrógeno, un grupo hidroxilo, un átomo de halógeno, un grupo alquilo (C_1 - C_{10}) opcionalmente sustituido, un grupo alcoxi (C_1 - C_{10}) opcionalmente sustituido, un grupo alquiltio (C_1 - C_{10}), un grupo perfluoroalquilo (C_1 - C_5), un grupo ciano, un grupo nitro,

o R^1 y R^2 juntos significa un grupo que se selecciona de los grupos $-O-(CH_2)_p-O-$, $-O-(CH_2)_p-CH_2-$, $-O-CH=CH-$, $-(CH_2)_{p+2}-$, $-NH-(CH_2)_{p+1}-$, $-N(\text{alquil } C_1-C_3)-(CH_2)_{p+1}-$, y $-NH-N=CH-$,

de modo que $p = 1$ o 2 , y los átomos de oxígeno y/o átomos de carbono y/o átomos de nitrógeno terminales están unidos a átomos de carbono del anillo directamente adyacentes,

o NR^6R^7 ,

de modo que R^6 y R^7 independientemente entre sí, significan hidrógeno, alquilo C_1 - C_5 o (CO)-alquilo(C_1 - C_5),

R^3 significa un átomo de hidrógeno, un grupo hidroxilo, un átomo de halógeno, un grupo ciano, un grupo alquilo (C_1 - C_{10}) opcionalmente sustituido, un grupo alcoxi (C_1 - C_{10}), un grupo alquiltio (C_1 - C_{10}) o un grupo perfluoroalquilo (C_1 - C_5),

R^4 significa un hidrógeno, halógeno, hidroxilo, alquilo (C_1 - C_5), alcoxi (C_1 - C_5), alquiltio (C_1 - C_5), perfluoroalquilo (C_1 - C_5), ciano, nitro, NR^6R^7 , $COOR^9$, $(CO)NR^6R^7$ o un grupo alquilen(C_1 - C_5)-O-(CO)-alquilo(C_1 - C_5),

R^5 significa un grupo seleccionado de

-alquilo (C_1 - C_{10}), que puede estar opcionalmente parcial o completamente halogenado,

-alquénilo (C_2 - C_{10}),

-alquínilo (C_2 - C_{10}),

cicloalquil(C_3 - C_7)-alquilo(C_1 - C_8),

cicloalquil(C₃-C₇)-alquilenilo(C₁-C₈),

cicloalquil(C₃-C₇)-alquinilo(C₂-C₈),

heterocicliil-alquilo(C₁-C₈),

heterocicliil-alquenilo(C₁-C₈),

5 heterocicliil-alquinilo(C₂-C₈),

-R⁸,

R⁸-alquilo(C₁-C₈),

R⁸-alquenilo(C₂-C₈),

R⁸-alquinilo(C₂-C₈),

10 -S-alquilo(C₁-C₁₀),

-SO₂-alquilo(C₁-C₁₀)

-S-R⁸,

-SO₂-R⁸,

-CN

15 - Hal,

-O-alquilo(C₁-C₁₀),

-NR⁶R⁷, en donde R⁶, R⁷ que tienen el significado definido anteriormente

-O-R⁸,

-OH

20 con la excepción de -CH(CH₃)₂ o -C(CH₃)=CH₂

R⁸ significa un grupo arilo que puede estar opcionalmente sustituido con 1-3 hidroxilo, halógeno, alquilo C₁-C₅, alcoxi C₁-C₅, ciano, CF₃, nitro, COO-alquilo(C₁-C₅) o C(O)OCH₂-fenilo o un grupo heteroarilo

de modo que el grupo heteroarilo puede contener 1-3 heteroátomos, que puede estar opcionalmente sustituidos con 1-3 grupos alquilo, hidroxilo, halógeno, ciano o grupos alcoxi C₁-C₅,

25 y sus sales, solvatos o sales de solvatos.

Se describe adicionalmente, pero no forma parte de la invención, el uso de compuestos de Fórmula (I) en donde:

30 R¹ y R² independientemente entre sí, significan un átomo de hidrógeno, un grupo hidroxilo, un átomo de halógeno, un grupo alquilo (C₁-C₁₀) opcionalmente sustituido, un grupo alcoxi (C₁-C₁₀) opcionalmente sustituido, un grupo alquiltio (C₁-C₁₀), un grupo perfluoroalquilo (C₁-C₅), un grupo ciano, un grupo nitro,

o

R¹ y R² juntos, significan un grupo que se selecciona de los grupos -O-(CH₂)_p-O-, -O-(CH₂)_p-CH₂-, -O-CH=CH-, -(CH₂)_{p+2}-, -NH-(CH₂)_{p+1}-, -N(alquil C₁-C₃)-(CH₂)_{p+1}-, y -NH-N=CH-,

de modo que p = 1 o 2, y

35 los átomos de oxígeno y/o de carbono y/o de nitrógeno terminales están unidos a átomos de carbono del anillo directamente adyacentes,

o NR⁶R⁷,

de modo que R⁶ y R⁷ independientemente entre sí significan hidrógeno, alquilo C₁-C₅ o (CO)-alquilo(C₁-C₅),

40 R³ significa un átomo de hidrógeno, un grupo hidroxilo, un átomo de halógeno, un grupo ciano, un grupo alquilo (C₁-C₁₀) opcionalmente sustituido, un grupo alcoxi (C₁-C₁₀), un grupo alquiltio (C₁-C₁₀) o un grupo perfluoroalquilo (C₁-C₅),

R⁴ significa un átomo de hidrógeno, un grupo hidroxilo, un átomo de halógeno,

R⁵ significa un grupo seleccionado de

-alquilo (C₁-C₁₀), que puede estar opcionalmente parcial o completamente halogenado -

alqueno (C₂-C₁₀),

-alquino (C₂-C₁₀),

cicloalquil(C₃-C₇)-alquilo(C₁-C₈),

cicloalquil(C₃-C₇)-alqueno(C₂-C₈),

cicloalquil(C₃-C₇)-alquino(C₂-C₈),

heterociclil-alquilo(C₁-C₈),

heterociclil-alqueno(C₂-C₈),

heterociclil-alquino(C₂-C₈),

-R⁸,

R⁸-alquilo(C₁-C₈),

R⁸-alqueno(C₂-C₈),

R⁸-alquino(C₂-C₈),

-S-alquilo(C₁-C₁₀),

-S-R⁸,

-SO₂-R⁸,

-SO₂-alquilo(C₁-C₁₀),

-CN,

-Hal,

-O-alquilo (C₁-C₁₀),

-NR⁶R⁷ en donde R⁶, R⁷ que tienen el significado indicado anteriormente

-O-R⁸,

-OH

con la excepción de -CH(CH₃)₂ o -C(CH₃)=CH₂

R⁸ significa un arilo que puede estar opcionalmente sustituido con 1-3 grupos alquilo, hidroxilo, halógeno, ciano o alcoxi C₁-C₅ o un grupo heteroarilo en donde el grupo heteroarilo puede contener 1-3 heteroátomos que puede estar opcionalmente sustituido con 1-3 grupos alquilo, hidroxilo, halógeno, ciano o alcoxi C₁-C₅,

n significa un número entero seleccionado de 1, 2, 3, 4, 5 y sus sales, solvatos o sales de solvatos.

Se describen compuestos de Fórmula (I) en donde R¹ y R² independientemente entre sí, significan un átomo de hidrógeno, un grupo hidroxilo, un átomo de halógeno, un grupo alquilo (C₁-C₁₀) opcionalmente sustituido, un grupo alcoxi (C₁-C₁₀) opcionalmente sustituido, un grupo perfluoroalquilo (C₁-C₅), un grupo ciano, o NR⁶R⁷, de modo que R⁶ y R⁷ independientemente entre sí, significan hidrógeno, alquilo C₁-C₅ o (CO)-alquilo(C₁-C₅), R³ significa un átomo de hidrógeno, un grupo hidroxilo, un átomo de halógeno, un grupo ciano, un grupo alquilo (C₁-C₁₀) opcionalmente sustituido, un grupo alcoxi (C₁-C₁₀), o un grupo perfluoroalquilo (C₁-C₅), R⁴ significa hidrógeno, alquilo C₁-C₃, alcoxi C₁-C₃, hidroxilo, halógeno, R⁵ significa un grupo seleccionado de -alquilo (C₁-C₁₀), que puede estar opcionalmente parcial o completamente halogenado -alqueno (C₂-C₁₀), -alquino (C₂-C₁₀), -cicloalquilo(C₃-C₇)-alquilo(C₁-C₈), -cicloalquil(C₃-C₇)-alqueno(C₂-C₈), -S-alquilo(C₁-C₁₀), -SO₂-alquilo(C₁-C₁₀), -CN, -Hal, -O-alquilo(C₁-C₁₀), -NR⁶R⁷ en donde R⁶, R⁷ tienen el significado definido anteriormente, -OH con la excepción de -CH(CH₃)₂ o -C(CH₃)=CH₂ y sus sales, solvatos o sales de solvatos.

Se describen compuestos de fórmula general I según la reivindicación 1, en donde R¹, R² y R³ son independientemente entre sí hidrógeno, flúor, cloro, bromo, un grupo ciano, un grupo metoxi, un grupo etoxi, un

grupo hidroxilo, R⁴ es hidrógeno, alquilo C₁-C₃, halógeno, R⁵ es grupo hidroxilo, cloro, -S-CH₃, -S-CH₂-CH₃, -S-CH₂-CH₂-CH₃, -O-CH₃ o -O-CH₂-CH₃, -O-CH₂-CH₂-CH₃, -N-(CH₃)₂, -N-(CH₂-CH₃)₂ y sus sales, solvatos o sales de solvatos.

Se describen compuestos de fórmula general I, en donde R¹, R² y R³ son independientemente entre sí hidrógeno, flúor, cloro, bromo, un grupo ciano, un grupo metoxi, un grupo etoxi, un grupo hidroxilo, R⁴ es hidrógeno, alquilo C₁-C₃, halógeno, R⁵ es un grupo hidroxilo, cloro, -S-CH₃, -S-CH₂-CH₃, -S-CH₂-CH₂-CH₃, -O-CH₃, -O-CH₂-CH₃, -O-CH₂-CH₂-CH₃ o N(CH₃)₂ y sus sales, solvatos o sales de solvatos.

Se describe el uso de compuestos de Fórmula (I) en donde R¹ y R², y R³ son independientemente entre sí hidrógeno, flúor, cloro, bromo, un grupo ciano, un grupo metoxi, un grupo etoxi, un grupo hidroxilo, R⁴ es hidrógeno, alquilo C₁-C₃, halógeno, R⁵ es un grupo hidroxilo, cloro, -S-CH₃, -S-CH₂-CH₃, -S-CH₂-CH₂-CH₃, -O-CH₃ o -O-CH₂-CH₃, -O-CH₂-CH₂-CH₃ y sus sales, solvatos o sales de solvatos.

Se describe el uso de compuestos de Fórmula (I),

en donde R¹ y R² son independientemente entre sí hidrógeno, flúor, cloro, un grupo metoxi, un grupo hidroxilo, R³ es hidrógeno, flúor, cloro o un grupo metoxi, R⁴ es hidrógeno o flúor, R⁵ es un grupo hidroxilo, un átomo de cloro, -S-CH₃, -S-CH₂-CH₃, -O-CH₃, -O-CH₂-CH₃ o N(CH₃)₂ y sus sales, solvatos o sales de solvatos.

Se describen compuestos de fórmula general I según la reivindicación 1, en donde R¹ y R² son independientemente entre sí hidrógeno, flúor, cloro, un grupo metoxi, R³ es hidrógeno, flúor, cloro o un grupo metoxi, R⁴ es hidrógeno o flúor, R⁵ es un grupo hidroxilo, un átomo de cloro, -S-CH₃, -S-CH₂-CH₃, -O-CH₃ o -O-CH₂-CH₃ y sus sales, solvatos o sales de solvatos.

Los compuestos para usar pueden estar en forma enantioméricamente pura, y sus sales, solvatos o sales o solvatos.

Se describe, pero no forma parte de la invención que el compuesto para usar se selecciona de la siguiente lista:

5-[[1-(2-Fluoro-4-metoxifenil)-3,3,3-trifluoro-2-hidroxi-2-([metilsulfanil]metil)propil]amino]-1H-quinolin-2-ona

5-[[2-([Etilsulfanil]metil)-1-(2-fluoro-4-metoxifenil)-3,3,3-trifluoro-2-hidroxipropil]amino]-1H-quinolin-2-ona

5-[[1-(2-Cloro-3-fluoro-4-metoxifenil)-3,3,3-trifluoro-2-hidroxi-2-([metilsulfanil]metil)propil]amino]-1H-quinolin-2-ona

5-[[1-(2-Cloro-3-fluoro-4-metoxifenil)-2-([etilsulfanil]metil)-3,3,3-trifluoro-2-hidroxipropil]amino]-7-fluoro-1H-quinolin-2-ona

5-[[1-(2-Cloro-3-fluoro-4-metoxifenil)-3,3,3-trifluoro-2-hidroxi-2-(metoximetil)propil]amino]-7-fluoro-1H-quinolin-2-ona

5-[[1-(2-Cloro-3-fluoro-4-metoxifenil)-2-(etoximetil)-3,3,3-trifluoro-2-hidroxipropil]amino]-7-fluoro-1H-quinolin-2-ona

5-[[1-(2-Cloro-3-fluoro-4-metoxifenil)-3,3,3-trifluoro-2-hidroxi-2-(hidroximetil)propil]amino]-7-fluoro-1H-quinolin-2-ona

5-[[1-(5-Cloro-3-fluoro-2-metoxifenil)-3,3,3-trifluoro-2-hidroxi-2-(hidroximetil)-propil]amino]-7-fluoro-1H-quinolin-2-ona

5-[[1-(5-Cloro-3-fluoro-2-metoxifenil)-2-(clorometil)-3,3,3-trifluoro-2-hidroxipropil]amino]-7-fluoro-1H-quinolin-2-ona

5-[[3,3,3-Trifluoro-2-hidroxi-2-([metoximetil)-1-fenilpropil]amino]-1H-quinolin-1-ona

5-[[1-(2-Cloro-3-fluoro-4-metoxifenil)-2-(diaminometil)-3,3,3-trifluoro-2-hidroxipropil]amino]-7-fluoro-1H-quinolin-2-ona

5-[[1-(4-Cloro-3-fluoro-2-metoxifenil)-3,3,3-trifluoro-2-hidroxi-2-(metoximetil)propil]amino]-7-fluoro-1H-quinolin-2-ona

5-[[1-(2-Cloro-3-fluoro-4-metoxifenil)-2-(etoximetil)-3,3,3-trifluoro-2-hidroxipropil]amino]-7-fluoro-1H-quinolin-2-ona

5-[[1-(2-Cloro-3-fluoro-4-hidroxifenil)-3,3,3-trifluoro-2-hidroxi-2-(hidroximetil)propil]amino]-7-fluoro-1H-quinolin-2-ona

y sus sales, solvatos o sales de solvatos.

Un compuesto, en particular un compuesto enantioméricamente puro, puede seleccionarse de:

ona
5-[[1-(2-Fluoro-4-metoxifenil)-3,3,3-trifluoro-2-hidroxi-2-([metilsulfanil]metil)propil]amino]-1H-quinolin-2-

5-[[2-([Etilsulfanil]metil)-1-(2-fluoro-4-metoxifenil)-3,3,3-trifluoro-2-hidroxi-2-([metilsulfanil]metil)propil]amino]-1H-quinolin-2-ona

5-[[1-(2-Cloro-3-fluoro-4-metoxifenil)-3,3,3-trifluoro-2-hidroxi-2-([metilsulfanil]metil)propil]amino]-1H-quinolin-2-ona

5-[[1-(2-Cloro-3-fluoro-4-metoxifenil)-2-([etilsulfanil]metil)-3,3,3-trifluoro-2-hidroxi-2-([metilsulfanil]metil)propil]amino]-7-fluoro-1H-quinolin-2-ona

5-[[1-(2-Cloro-3-fluoro-4-metoxifenil)-3,3,3-trifluoro-2-hidroxi-2-(metoximetil)propil]amino]-7-fluoro-1H-quinolin-2-ona

5-[[1-(2-Cloro-3-fluoro-4-metoxifenil)-2-(etoximetil)-3,3,3-trifluoro-2-hidroxi-2-([metilsulfanil]metil)propil]amino]-7-fluoro-1H-quinolin-2-ona

5-[[1-(2-Cloro-3-fluoro-4-metoxifenil)-3,3,3-trifluoro-2-hidroxi-2-(hidroximetil)propil]amino]-7-fluoro-1H-quinolin-2-ona

5-[[1-(5-Cloro-3-fluoro-2-metoxifenil)-3,3,3-trifluoro-2-hidroxi-2-(hidroximetil)-propil]amino]-7-fluoro-1H-quinolin-2-ona

5-[[1-(5-Cloro-3-fluoro-2-metoxifenil)-2-(clorometil)-3,3,3-trifluoro-2-hidroxi-2-([metilsulfanil]metil)propil]amino]-7-fluoro-1H-quinolin-2-ona

5-[[3,3,3-trifluoro-2-hidroxi-2-([metoximetil)-1-fenilpropil]amino]-1H-quinolin-1-ona

y sus sales, solvatos o sales de solvatos.

Se describe, pero no forma parte de la invención, el uso de un compuesto, en particular en forma enantiomérica pura, seleccionado de la siguiente lista:

5-{{1S,2R}[1-(2-Fluoro-4-metoxifenil)-3,3,3-trifluoro-2-hidroxi-2-([metilsulfanil]metil)propil]amino]-1H-quinolin-2-ona

5-{{1S,2R}[2-([Etilsulfanil]metil)-1-(2-fluoro-4-metoxifenil)-3,3,3-trifluoro-2-hidroxi-2-([metilsulfanil]metil)propil]amino]-1H-quinolin-2-ona

5-{{1S,2R}[1-(2-Cloro-3-fluoro-4-metoxifenil)-3,3,3-trifluoro-2-hidroxi-2-([metilsulfanil]metil)propil]amino]-1H-quinolin-2-ona

5-{{1S,2R}[1-(2-Cloro-3-fluoro-4-metoxifenil)-2-([etilsulfanil]metil)-trifluoro-2-hidroxi-2-([metilsulfanil]metil)propil]amino]-7-fluoro-1H-quinolin-2-ona

5-{{1S,2S}[1-(2-Cloro-3-fluoro-4-metoxifenil)-3,3,3-trifluoro-2-hidroxi-2-(metoximetil)propil]amino]-7-fluoro-1H-quinolin-2-ona

5-{{1S,2S}[1-(2-Cloro-3-fluoro-4-metoxifenil)-2-(etoximetil)-3,3,3-trifluoro-2-hidroxi-2-([metilsulfanil]metil)propil]amino]-7-fluoro-1H-quinolin-2-ona

5-{{1S,2S}[1-(2-Cloro-3-fluoro-4-metoxifenil)-3,3,3-trifluoro-2-hidroxi-2-(hidroximetil)propil]amino]-7-fluoro-1H-quinolin-2-ona

5-{{1S,2S}[1-(5-Cloro-3-fluoro-2-metoxifenil)-3,3,3-trifluoro-2-hidroxi-2-(hidroximetil)propil]amino]-7-fluoro-1H-quinolin-2-ona

5-{{1S,2R}[1-(5-Cloro-3-fluoro-2-metoxifenil)-2-(clorometil)-3,3,3-trifluoro-2-hidroxi-2-([metilsulfanil]metil)propil]amino]-7-fluoro-1H-quinolin-2-ona

5-{{1S,2S}[3,3,3-trifluoro-2-hidroxi-2-([metoximetil)-1-fenilpropil]amino]-1H-quinolin-1-ona

5-{{1S,2R}[1-(2-Cloro-3-fluoro-4-metoxifenil)-2-(diaminometil)-3,3,3-trifluoro-2-hidroxi-2-([metilsulfanil]metil)propil]amino]-7-fluoro-1H-quinolin-2-ona

5-{{1S,2S}[1-(2-Cloro-3-fluoro-4-metoxifenil)-3,3,3-trifluoro-2-hidroxi-2-(hidroximetil)propil]amino]-7-fluoro-1H-quinolin-2-ona

y sus sales, solvatos o sales de solvatos.

Se describe, pero no forma parte de la invención, el uso de compuestos, en particular en forma enantioméricamente pura, seleccionados de:

5-((1S,2R)[1-(2-Fluoro-4-metoxifenil)-3,3,3-trifluoro-2-hidroxi-2-([metilsulfanil]metil)propil]amino)-1-quinolin-2-ona

5-((1S,2R)[2-([Etilsulfanil]metil)-1-(2-fluoro-4-metoxifenil)-3,3,3-trifluoro-2-hidroxi-2-propil]amino)-1H-quinolin-2-ona

5-((1S,2R)[1-(2-Cloro-3-fluoro-4-metoxifenil)-3,3,3-trifluoro-2-hidroxi-2-([metilsulfanil]metil)propil]amino)-1H-quinolin-2-ona

5-((1S,2R)[1-(2-Cloro-3-fluoro-4-metoxifenil)-2-([etilsulfanil]metil)-3,3,3-trifluoro-2-hidroxi-2-propil]amino)-7-fluoro-1H-quinolin-2-ona

5-((1S,2S)[1-(2-Cloro-3-fluoro-4-metoxifenil)-3,3,3-trifluoro-2-hidroxi-2-(metoximetil)propil]amino)-7-fluoro-1H-quinolin-2-ona

5-((1S,2S)[1-(2-Cloro-3-fluoro-4-metoxifenil)-2-(etoximetil)-3,3,3-trifluoro-2-hidroxi-2-propil]amino)-7-fluoro-1H-quinolin-2-ona

5-((1S,2S)[1-(2-Cloro-3-fluoro-4-metoxifenil)-3,3,3-trifluoro-2-hidroxi-2-(hidroximetil)propil]amino)-7-fluoro-1H-quinolin-2-ona

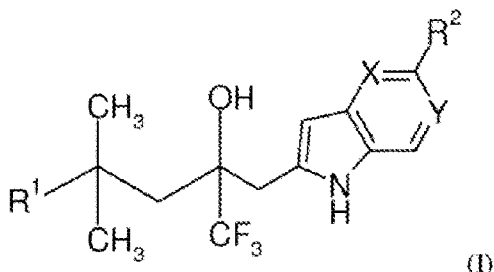
5-((1S,2S)[1-(5-Cloro-3-fluoro-2-metoxifenil)-3,3,3-trifluoro-2-hidroxi-2-hidroximetil]propil]amino)-7-fluoro-1H-quinolin-2-ona

5-((1S,2R)[1-(5-Cloro-3-fluoro-2-metoxifenil)-2-(clorometil)-3,3,3-trifluoro-2-hidroxi-2-propil]amino)-7-fluoro-1H-quinolin-2-ona

5-((1S,2S)[3,3,3-trifluoro-2-hidroxi-2-([metoximetil]-1-fenilpropil]amino)-1H-quinolin-1-ona

y sus sales, solvatos o sales de solvatos.

Se describe el uso de los compuestos de Fórmula (I):



en donde:

R¹ es un grupo arilo o heteroarilo, cada uno opcionalmente sustituido independientemente con uno, dos o tres grupos sustituyentes seleccionados de alquilo C₁-C₅, aminocarbonilo, alquilC₁-C₅-aminocarbonilo, dialquilC₁-C₅-aminocarbonilo, aminosulfonilo, alquilC₁-C₅-aminosulfonilo, dialquilC₁-C₅-aminosulfonilo, halógeno, hidroxilo, ciano y alquiltio C₁-C₅, en donde el átomo de azufre está opcionalmente oxidado a un sulfóxido o sulfona;

R² es alquiltio C₁-C₅ en donde el átomo de azufre está opcionalmente oxidado a un sulfóxido o sulfona, opcionalmente sustituido independientemente con uno, dos o tres grupos sustituyentes seleccionados de halógeno, hidroxilo, oxo, ciano, alcóxialquilo y aminocarbonilo;

X es CH o N; e

Y significa CH o N,

en donde X e Y no son ambos CH,

o un tautómero, isómero óptico, profármaco, cocrystal o sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

Se describe, pero no forma parte de la invención, el uso de compuestos de Fórmula (I) en donde:

R¹ es un grupo arilo o heteroarilo, cada uno opcionalmente sustituido independientemente con uno, dos o tres grupos sustituyentes seleccionados de alquilo C₁-C₅, aminocarbonilo, alquilC₁-C₅-aminocarbonilo, dialquilC₁-C₅-aminocarbonilo, aminosulfonilo, alquilC₁-C₅-aminosulfonilo, dialquilC₁-C₅-aminosulfonilo, halógeno,

hidroxilo, ciano y alquiltio C₁-C₅ en donde el átomo de azufre está opcionalmente oxidado a un sulfóxido o sulfona;

R² es alquiltio C₁-C₅ en donde el átomo de azufre está opcionalmente oxidado a un sulfóxido o sulfona, cada uno opcionalmente sustituido independientemente con uno a tres grupos sustituyentes seleccionados de halógeno, hidroxilo, oxo, ciano, alcoxialquilo y aminocarbonilo;

5 X es CH₃; e

Y es N,

o un tautómero, profármaco, cocrystal o sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

Se describe, pero no forma parte de la invención, el uso de compuestos de Fórmula (I) en donde:

10 R¹ es un grupo arilo, opcionalmente sustituido con uno, dos o tres grupos sustituyentes seleccionados independientemente de alquilo C₁, C₂ o C₃, aminocarbonilo, halógeno, y alquiltio C₁, C₂ o C₃ en donde el átomo de azufre está opcionalmente oxidado a un sulfóxido o sulfona;

R² es alquiltio C₁, C₂ o C₃ en donde el átomo de azufre está opcionalmente oxidado a un sulfóxido o sulfona, cada uno opcionalmente sustituido independientemente con uno a tres grupos sustituyentes seleccionados de halógeno, hidroxilo, oxo, ciano, alcoxialquilo y aminocarbonilo;

15 X es CH₃; e

Y es N,

o un tautómero, profármaco, cocrystal o sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

Se describe, pero no forma parte de la invención, el uso de compuestos de Fórmula (I) en donde:

20 R¹ es un grupo fenilo, opcionalmente sustituido con uno o dos grupos sustituyentes seleccionados independientemente de aminocarbonilo, metilo, fluoro, cloro, bromo y alquiltio C₁ o C₂ en donde el átomo de azufre está opcionalmente oxidado a un sulfóxido o sulfona;

R² es alquiltio C₁, C₂ o C₃ en donde el átomo de azufre está opcionalmente oxidado a un sulfóxido o sulfona;

X es CH₃; e

25 Y es N,

o un tautómero, profármaco, cocrystal o sal de los mismos.

Se describe adicionalmente, pero no forma parte de la invención, el uso de compuestos de Fórmula (I) en donde:

30 R¹ es un grupo fenilo, opcionalmente sustituido con uno o dos grupos sustituyentes seleccionados independientemente de aminocarbonilo, metilo, fluoro, cloro, bromo y alquiltio C₁ o C₂ en donde el átomo de azufre está opcionalmente oxidado a un sulfóxido o sulfona;

R² es alquiltio C₁ o C₂ en donde el átomo de azufre está opcionalmente oxidado a un sulfóxido o sulfona;

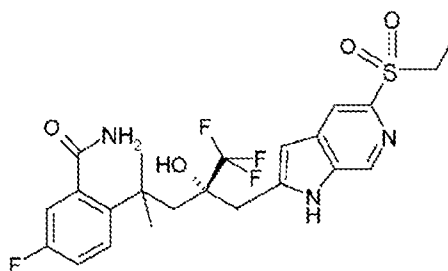
X es CH₃; e

Y es N,

35 o un tautómero, profármaco, cocrystal o sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

Las formulaciones tópicas adecuadas de estos compuestos se describen en el documento WO 2018/046678 A1. El documento WO 2018/046685 A1 describe el uso de estos compuestos en el tratamiento tópico de enfermedades inflamatorias de la piel mediadas por células T tales como psoriasis, dermatitis atópica, dermatitis alérgica de contacto.

40 BI-3047 tiene la siguiente estructura y es un análogo inactivo de BI-653048:



BI-3047 no es un SEGRM.

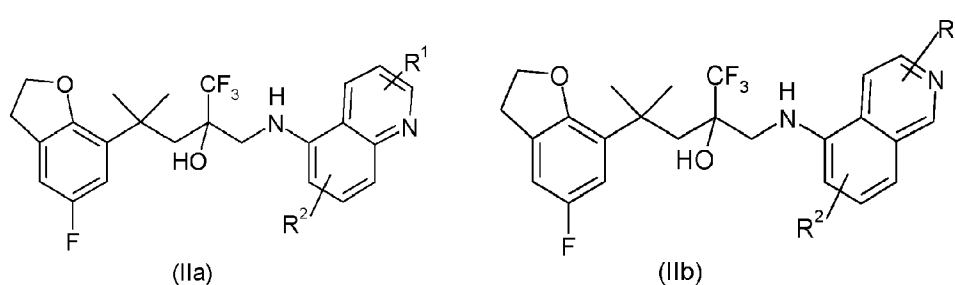
En particular, se encontró en los ejemplos que BI-653048 era capaz de rescatar células de fibroblastos humanos primarios en cultivo monocapa (2D) de los efectos inhibidores del crecimiento de exudados de heridas de heridas que no cicatrizan, como se muestra en las Figuras 1A - 1C para WE-1 a WE-3. Este efecto era dependiente de la dosis con un máximo a 10 μ M. Por el contrario, BI-3047, el análogo inactivo de BI-653048, no tenía efecto promotor de la proliferación en todas las concentraciones ensayadas. En ausencia de WE (por sus siglas en inglés, *wound exudate*), ambos compuestos mostraron inhibición similar del crecimiento de fibroblastos (Figura 1D).

Además, BI-653048, pero no BI-3047 reducía la secreción de IL-1 β en los cultivos de fibroblastos a las mismas concentraciones que potenciaban la proliferación en presencia de un WE (Figura 2).

Para el proceso de cicatrización de heridas, la producción de colágenos 1 y 3 por fibroblastos es importante. La expresión del ARNm de colágeno-1 y 3 se reduce por un exudado de herida agresivo (compárese, p. ej., WE y medio en las Figuras 3A y 3C para el colágeno 1 y 3B y 3D para el colágeno 3). Como se representa en las Figuras 3B, BI-653048, pero no BI-3047, indujeron la expresión de ARNm de ambos colágenos 1 y 3 en presencia de exudado de herida. No hubo efecto significativo en el ARNm del colágeno 1 en presencia de medio y una reducción del ARNm del colágeno 3 con medio para ambos compuestos.

En el ensayo de formación de matriz derivada de fibroblastos (cultivo de fibroblastos 3D), BI-653048 era eficaz para inducir la formación de matriz en presencia de exudado de herida, como se muestra en la Figura 4. Este efecto podía ser completamente anulado por el antagonista del receptor de glucocorticoides mifepristona, lo que indica que la actividad promotora de la matriz del SEGRM es mediada por el receptor de glucocorticoides.

El mapracorat y los compuestos derivados de quinolona e isoquinolina sustituidos en 5 relacionados, incluyendo ZK-216348, así como su síntesis, se describen en el documento WO 2006/050998 A1. En particular, se describe que se pueden usar los siguientes compuestos de fórmula (IIa) o (IIb):



en las que

R1 y R2, independientemente entre sí, pueden ser un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo C1-3, un átomo de halógeno, un grupo ciano, un grupo alcoxi C1-3 o un grupo hidroxilo,

así como sus racematos o estereoisómeros presentes por separado y opcionalmente sus sales farmacéuticamente aceptables o sus profármacos.

La denominación átomo de halógeno o halógeno significa un átomo de flúor, cloro, bromo o yodo. Se prefiere un átomo de flúor, cloro o bromo.

Los grupos alquilo C1-C3 y los grupos alquilo C1-C5 pueden ser de cadena lineal o ramificados y representan un grupo metilo, etilo, n-propilo, iso-propilo, n-butilo, iso-butilo, terc-butilo o n-pentilo, 2,2-dimetilpropilo, 2-metilbutilo o 3-metilbutilo.

Se prefiere un grupo metilo o etilo.

Los radicales R1 y R2 significan preferiblemente hidrógeno, alquilo C1-3, halógeno o hidroxilo. Son especialmente preferidos hidrógeno, metilo, cloro e hidroxilo.

Así, se describe el uso de compuestos derivados de quinolona e isoquinolina sustituidos en 5 de fórmulas generales IIa y IIb, en donde R1 y R2, independientemente entre sí, significan preferiblemente hidrógeno, alquilo C1-3, halógeno o hidroxilo.

Se describe el uso de compuestos derivados de quinolona e isoquinolina sustituidos en 5 de fórmulas I y IIb, en las que R1 y R2, independientemente entre sí, significan hidrógeno, metilo, cloro o hidroxilo.

Se describe, pero no forma parte de la invención, el uso de compuestos derivados de quinolona e isoquinolina sustituidos en 5 de fórmula general IIa.

Los compuestos derivados de quinolona e isoquinolina sustituidos en 5 de fórmulas generales (IIa) y (IIb) para usar pueden estar presentes como estereoisómeros diferentes debido a la presencia de centros de asimetría. Tanto los racematos como los estereoisómeros presentes por separado pertenecen al objeto de esta descripción.

Se describen los estereoisómeros presentes por separado, es decir, enantiómeros (+) y enantiómeros (-), en particular de los Ejemplos 1, 2, 3, 4, 5, 11 y 12 del documento WO 2006/050998 A1.

Los siguientes SEGRM se describen adicionalmente pero no forman parte de la invención:

5-[4-(5-Fluoro-2,3-dihidrobenzofuran-7-il)-2-hidroxi-4-metil-2-trifluorometil-pentilamino]-2-metilquinolina,

5-[4-(5-Fluoro-2,3-dihidrobenzofuran-7-il)-2-hidroxi-4-metil-2-trifluorometil-pentilamino]-1-metilisoquinolina),

5-[4-(5-Fluoro-2,3-dihidrobenzofuran-7-il)-2-hidroxi-4-metil-2-trifluorometil-pentilamino]isoquinol-1(2H)-ona,

5-[4-(5-Fluoro-2,3-dihidrobenzofuran-7-il)-2-hidroxi-4-metil-2-trifluorometil-pentilamino]-2,6-dimetilquinolina,

5-[4-(5-Fluoro-2,3-dihidrobenzofuran-7-il)-2-hidroxi-4-metil-2-trifluorometil-pentilamino]-6-cloro-2-metilquinolina,

5-[4-(5-Fluoro-2,3-dihidrobenzofuran-7-il)-2-hidroxi-4-metil-2-trifluorometil-pentilamino]isoquinolina,

5-[4-(5-Fluoro-2,3-dihidrobenzofuran-7-il)-2-hidroxi-4-metil-2-trifluorometil-pentilamino]quinolina,

5-[4-(2,3-Dihidro-5-fluoro-7-benzofuranil)-2-hidroxi-4-metil-2-trifluorometil-pentilamino]quinolin-2[1H]-ona, 6-Fluoro-5-[4-(5-fluoro-2,3-dihidrobenzofuran-7-il)-2-hidroxi-4-metil-2-trifluorometil-pentilamino]-2-metilquinolina,

8-Fluoro-5-[4-(5-fluoro-2,3-dihidrobenzofuran-7-il)-2-hidroxi-4-metil-2-trifluorometil-pentilamino]-2-metilquinolina,

5-[4-(5-Fluoro-2,3-dihidrobenzofuran-7-il)-2-hidroxi-4-metil-2-trifluorometil-pentilamino]-2-metilisoquinol-1(2H)-ona, así como sus enantiómeros separados:

2(R)-5-[4-(5-Fluoro-2,3-dihidrobenzofuran-7-il)-2-hidroxi-4-metil-2-trifluorometil-pentilamino]-2-metilquinolina),

2(R)-5-[4-(5-fluoro-2,3-dihidrobenzofuran-7-il)-2-hidroxi-4-metil-2-trifluorometil-pentilamino]-1-metilisoquinolina,

2(R)-5-[4-(5-Fluoro-2,3-dihidrobenzofuran-7-il)-2-hidroxi-4-metil-2-trifluorometil-pentilamino]isoquinol-1(2H)-ona,

2(R)-5-[4-(5-Fluoro-2,3-dihidrobenzofuran-7-il)-2-hidroxi-4-metil-2-trifluorometil-pentilamino]-2,6-dimetilquinolina,

2(R)-5-[4-(5-Fluoro-2,3-dihidrobenzofuran-7-il)-2-hidroxi-4-metil-2-trifluorometil-pentilamino]-6-cloro-2-metilquinolina,

2(R)-5-[4-(5-Fluoro-2,3-dihidrobenzofuran-7-il)-2-hidroxi-4-metil-2-trifluorometil-pentilamino]isoquinolina,

2(R)-5-[4-(5-Fluoro-2,3-dihidrobenzofuran-7-il)-2-hidroxi-4-metil-2-trifluorometil-pentilamino]quinolina,

2(R)-5-[4-(2,3-Dihidro-5-fluoro-7-benzofuranil)-2-hidroxi-4-metil-2-trifluorometil-pentilamino]quinolin-2[1H]-ona,

2(R)-6-Fluoro-5-[4-(5-fluoro-2,3-dihidrobenzofuran-7-il)-2-hidroxi-4-metil-2-trifluorometil-pentilamino]-2-metilquinolina,

2(R)-8-Fluoro-5-[4-(5-fluoro-2,3-dihidrobenzofuran-7-il)-2-hidroxi-4-metil-2-trifluorometil-pentilamino]-2-metilquinolina,

2(R)-5-[4-(5-Fluoro-2,3-dihidrobenzofuran-7-il)-2-hidroxi-4-metil-2-trifluorometil-pentilamino]-2-metilquinol-1(2H)-ona,

5 2(S)-5-[4-(5-Fluoro-2,3-dihidrobenzofuran-7-il)-2-hidroxi-4-metil-2-trifluorometil-pentilamino]-2-metilquinolina),

2(S)-5-[4-(5-Fluoro-2,3-dihidrobenzofuran-7-il)-2-hidroxi-4-metil-2-trifluorometil-pentilamino]-1-metilisoquinolina),

10 2(S)-5-[4-(5-Fluoro-2,3-dihidrobenzofuran-7-il)-2-hidroxi-4-metil-2-trifluorometil-pentilamino]isoquinol-1(2H)-ona,

2(S)-5-[4-(5-Fluoro-2,3-dihidrobenzofuran-7-il)-2-hidroxi-4-metil-2-trifluorometil-pentilamino]-2,6-dimetilquinolina,

2(S)-5-[4-(5-Fluoro-2,3-dihidrobenzofuran-7-il)-2-hidroxi-4-metil-2-trifluorometil-pentilamino]-6-cloro-2-metilquinolina,

15 2(S)-5-[4-(5-Fluoro-2,3-dihidrobenzofuran-7-il)-2-hidroxi-4-metil-2-trifluorometil-pentilamino]isoquinolina,

2(S)-5-[4-(5-Fluoro-2,3-dihidrobenzofuran-7-il)-2-hidroxi-4-metil-2-trifluorometil-pentilamino]quinolina,

2(S)-5-[4-(2,3-Dihidro-5-fluoro-7-benzofuranil)-2-hidroxi-4-metil-2-trifluorometil-pentilamino]quinolin-2[1H]-ona,

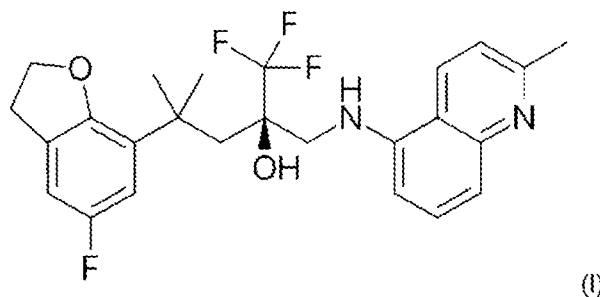
20 2(S)-6-Fluoro-5-[4-(5-fluoro-2,3-dihidrobenzofuran-7-il)-2-hidroxi-4-metil-2-trifluorometil-pentilamino]-2-metilquinolina,

2(S)-8-Fluoro-5-[4-(5-fluoro-2,3-dihidrobenzofuran-7-il)-2-hidroxi-4-metil-2-trifluorometil-pentilamino]-2-metilquinolina,

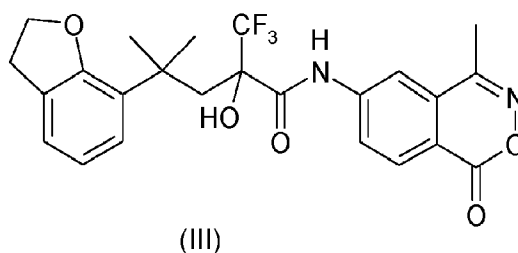
2(S)-5-[4-(5-Fluoro-2,3-dihidrobenzofuran-7-il)-2-hidroxi-4-metil-2-trifluorometil-pentilamino]-2-metilisoquinol-1(2H)-ona.

25 Se pueden usar la 5-[4-(5-fluoro-2,3-dihidrobenzofuran-7-il)-2-hidroxi-4-metil-2-trifluorometil-pentilamino]-2-metilquinolina y sus enantiómeros presentes por separado 2-(R)-5-[4-(5-fluoro-2,3-dihidrobenzofuran-7-il)-2-hidroxi-4-metil-2-trifluorometil-pentilamino]-2-metilquinolina y 2-(S)-5-[4-(5-fluoro-2,3-dihidrobenzofuran-7-il)-2-hidroxi-4-metil-2-trifluorometil-pentilamino]-2-metilquinolina.

30 En una alternativa, se puede usar mapracorat o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo según la invención. Mapracorat es el nombre INN del compuesto con la siguiente fórmula (I):



ZK-216348 tiene la siguiente estructura (III)



35 En particular, se encontró en los ejemplos que el mapracorat potenciaba la proliferación de fibroblastos en cultivo 2D en presencia de exudado de herida de la misma manera que BI-653048 (Figura 5).

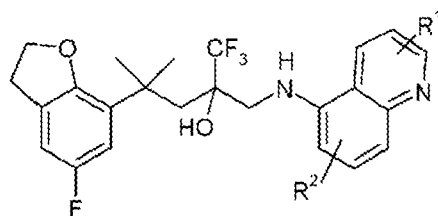
Las concentraciones escalonadas de mapracorat potenciaban la expresión de ARNm del colágeno 1 y colágeno 3 en cultivo de fibroblastos 2D en presencia de exudado de herida, pero no de medio (Figura 6 y Figura 7, respectivamente). Por el contrario, el mapracorat inhibía de manera dependiente de la dosis la expresión de ARNm de IL-1 β en estos cultivos, como se muestra en la Figura 8A (los niveles de ARNm de IL-1 β en el medio estaban por debajo del límite de detección, Figura 8B).

Además, se encontró que el mapracorat reducía la puntuación de la herida desde los días 6 a 12 en heridas tratadas con exudados de heridas de heridas crónicas humanas y el agonista de TLR 7/8 R848 como inductores de la cicatrización retardada de heridas en un modelo de cerdo de cicatrización retardada de heridas. El mapracorat no tenía ningún efecto negativo en la cicatrización de heridas de control en presencia de suero humano.

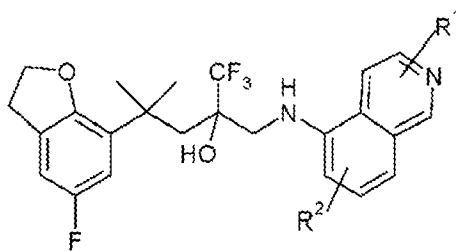
En particular, se encontró en los ejemplos que ZK-216348 e HY14234 eran capaces de rescatar fibroblastos en cultivo 2D de la inhibición de la proliferación inducida por exudado de herida (Figuras 9A, 10A y 11A). ZK216348 era menos eficiente. Tanto ZK-216348 como HY14234 inhibían la secreción de IL-1 β inducida por exudado de herida en los cultivos de fibroblastos en presencia de 3 exudados de herida diferentes (Figuras 9B, 10B y 11B).

Se describen adicionalmente, pero no forman parte de la invención, los siguientes SEGRM:

(i) un compuesto de la siguiente fórmula (IIa) o (IIb):



(IIa)



(IIb)

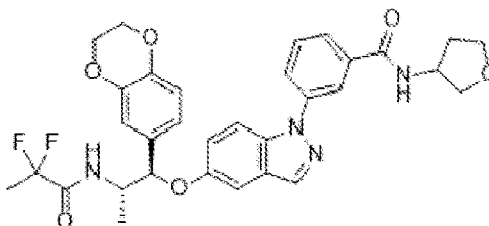
en la que

R¹ y R² independientemente entre sí, pueden ser un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo C₁₋₃, un átomo de halógeno, un grupo ciano, un grupo alcoxi C₁₋₃ o un grupo hidroxilo,

así como sus racematos o estereoisómeros presentes por separado y opcionalmente sus sales farmacéuticamente aceptables o sus profármacos;

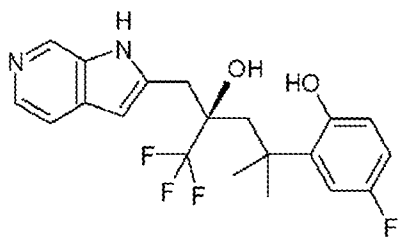
(ii) el compuesto (R)-2-(4-((5-(etilsulfonil)-1H-pirroló[2,3-c]piridin-2-il)metil)-5,5,5-trifluoro-4-hidroxi-2-metilpentan-2-il)-5-fluorobenzamida, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;

(iii) el compuesto de la siguiente fórmula a continuación:



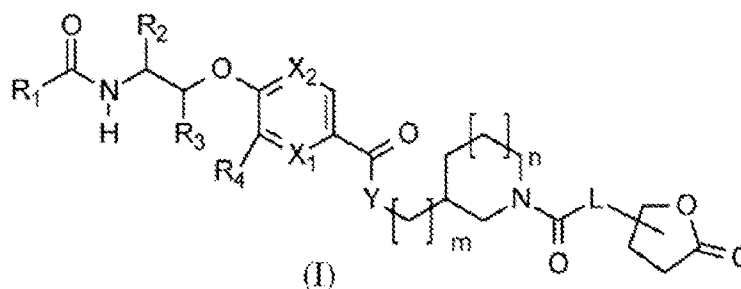
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;

(iv) el compuesto de la siguiente fórmula a continuación:



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;

(v) un compuesto de la siguiente fórmula (I) a continuación:



5 en donde

R₁ se selecciona del grupo que consiste en heteroarilo de 5 y 6 miembros, alquilo (C₁-C₆), cicloalquilo (C₃-C₆), heterocicloalquilo de (4-6) miembros y fenilo, en donde dicho heteroarilo de 5 y 6 miembros, alquilo (C₁-C₆), cicloalquilo (C₃-C₆), heterocicloalquilo de (4-6) miembros y fenilo están opcionalmente sustituidos con uno o más sustituyentes seleccionados independientemente de alquilo (C₁-C₄), alcoxi (C₁-C₄), halógeno, hidroxilo y ciano;

10 R₂ se selecciona de alquilo (C₁-C₃) y haloalquilo (C₁-C₃);

R₃ se selecciona de fenilo, heteroarilo de 5 miembros y heteroarilo de 6 miembros, en donde dicho fenilo, heteroarilo de 5 miembros y heteroarilo de 6 miembros están opcionalmente sustituidos con uno o más sustituyentes seleccionados independientemente de R₅;

R₄ se selecciona de hidrógeno, halógeno, alquilo (C₁-C₄) y haloalquilo (C₁-C₄);

15 R₅ se selecciona de halógeno, ciano, alquilo (C₁-C₆), cicloalquilo (C₃-C₆), alcoxi (C₁-C₆), haloalquilo (C₁-C₆), haloalcoxi (C₁-C₆), hidroxialquilo (C₁-C₆), fenilo, heteroarilo de 5 miembros, heteroarilo de 6 miembros y -S(O)₂R_a, en donde R_a representa alquilo (C₁-C₄);

X₁ se selecciona de CH, C(R_b) y N, en donde R_b representa halógeno, alquilo (C₁-C₄) o halógeno alquilo (C₁-C₄);

20 X₂ se selecciona de CH y N;

Y se selecciona de -NH- y -O-;

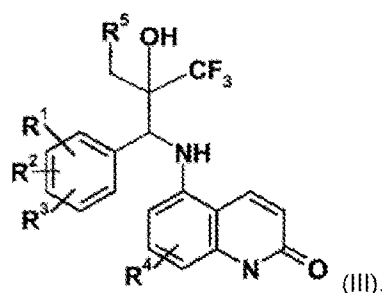
m es 0 o 1; n es 0 o 1;

L representa un enlace, -O-, -NH- o -N(R_c)-, en donde R_c representa alquilo (C₁-C₄);

o sus sales, hidratos o solvatos farmacéuticamente aceptables;

25 y

(vi) un compuesto de la siguiente fórmula (III) a continuación:



en donde

R^1 y R^2 independientemente entre sí, significan un átomo de hidrógeno, un grupo hidroxilo, un átomo de halógeno, un grupo alquilo (C_1-C_{10}) opcionalmente sustituido, un grupo alcoxi (C_1-C_{10}) opcionalmente sustituido, un grupo alquiltio (C_1-C_{10}), un grupo perfluoroalquilo (C_1-C_5), un grupo ciano, un grupo nitro,

o R^1 y R^2

juntos significa un grupo que se selecciona de los grupos $-O-(CH_2)_p-O-$, $-O-(CH_2)_p-CH_2-$, $-O-CH=CH-$, $-(CH_2)_{p+2}-$, $-NH-(CH_2)_{p+1}-$, $-N(\text{alquil } C_1-C_3)-(CH_2)_{p+1}$ y $-NH-N=CH-$,

de modo que $p = 1$ o 2 , y los átomos de oxígeno y/o átomos de carbono y/o átomos de nitrógeno terminales están unidos a átomos de carbono del anillo directamente adyacentes,

o NR^6R^7 ,

de modo que R^6 y R^7 independientemente entre sí, significan hidrógeno, alquilo C_1-C_5 o (CO) -alquilo(C_1-C_5),

R^3 significa un átomo de hidrógeno, un grupo hidroxilo, un átomo de halógeno, un grupo ciano, un grupo alquilo (C_1-C_{10}) opcionalmente sustituido, un grupo alcoxi (C_1-C_{10}), un grupo alquiltio (C_1-C_{10}) o un grupo perfluoroalquilo (C_1-C_5),

R^4 significa un hidrógeno, halógeno, hidroxilo, alquilo (C_1-C_5), alcoxi (C_1-C_5), alquiltio (C_1-C_5), perfluoroalquilo (C_1-C_5), ciano, nitro, NR^6R^7 , $COOR^9$, $(CO)NR^6R^7$ o un grupo (alquilen C_1-C_5)- $O-(CO)$ -(alquilo C_1-C_5),

R^5 significa un grupo seleccionado de

-alquilo (C_1-C_{10}), que puede estar opcionalmente parcial o completamente halogenado,

-alquienilo (C_2-C_{10}),

-alquinilo (C_2-C_{10}),

cicloalquil(C_3-C_7)-alquilo(C_1-C_8),

cicloalquil(C_3-C_7)-alquienilo(C_1-C_8),

cicloalquil(C_3-C_7)-alquinilo(C_2-C_8),

heterocicliil-alquilo(C_1-C_8),

heterocicliil-alquienilo(C_1-C_8),

heterocicliil-alquinilo(C_2-C_8),

$-R^8$,

R^8 -alquilo(C_1-C_8),

R^8 -alquienilo(C_2-C_8),

R^8 -alquinilo(C_2-C_8),

$-S$ -alquilo(C_1-C_{10}),

$-SO_2$ -alquilo(C_1-C_{10}),

$-S-R^8$,

-SO₂-R⁸,

-CN,

-Hal,

-O-alquilo(C₁-C₁₀),

5 -NR⁶R⁷ en donde R⁶, R⁷ tienen el significado definido anteriormente,

-O-R⁸,

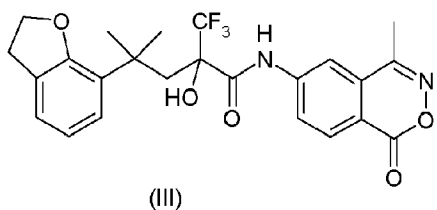
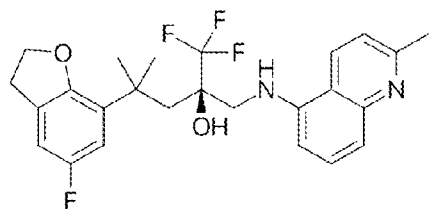
-OH,

con la excepción de -CH(CH₃)₂ o -C(CH₃)=CH₂,

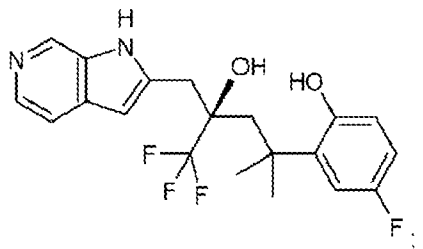
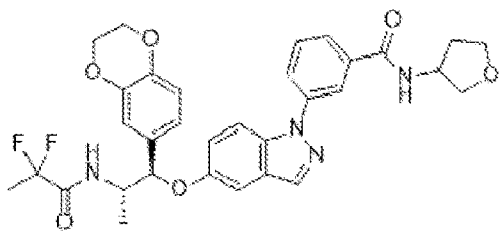
10 R⁸ significa un grupo arilo que puede estar opcionalmente sustituido con 1-3 hidroxi, halógeno, alquilo C₁-C₅, alcoxi C₁-C₅, ciano, CF₃, nitro, COO(alquilo C₁-C₅) o C(O)OCH₂-fenilo o un grupo heteroarilo

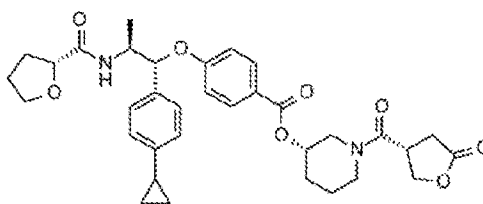
de modo que el grupo heteroarilo puede contener 1-3 heteroátomos que pueden estar opcionalmente sustituidos con 1-3 grupos alquilo, hidroxi, halógeno, ciano o grupos alcoxi C₁-C₅, y sus sales, solvatos o sales de solvatos.

15 El modulador selectivo del receptor de glucocorticoides (SEGRM), o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para el uso de la invención se selecciona de los siguientes compuestos:



(R)-2-(4-((5-(Etilsulfonil)-1H-pirrol[2,3-c]piridin-2-il)metil)-5,5,5-trifluoro-4-hidroxi-2-metilpentan-2-il)-5-fluorobenzamida;





4-[(1R,2S)-1-(4-ciclopropilfenil)-2-[(2R)-tetrahidrofuran-2-carbonil]amino]propoxi]benzoato de [(3S)-1-[(3R)-5-oxotetrahidrofuran-3-carbonil]-3-piperidilo];

5-[(1S,2S)-1-(2-cloro-3-fluoro-4-metoxifenil)-3,3,3-trifluoro-2-hidroxi-2-(metoximetil)propil]amino}-7-fluoro-1H-quinolin-2-ona;

5-[(1S,2S)-1-(2-cloro-3-fluoro-4-metoxifenil)-3,3,3-trifluoro-2-hidroxi-2-(hidroximetil)propil]amino}-7-fluoro-1H-quinolin-2-ona, y

5-[(1S,2S)-1-(2-cloro-3-fluoro-4-metoxifenil)-3,3,3-trifluoro-2-hidroxi-2-(hidroximetil)propil]amino}-7-fluoro-1H-quinolin-2-ona,

o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

En particular, se ensayó una pluralidad de SEGRM en cultivo de fibroblastos 3D con exudado de herida del paciente n.º 92. Los resultados se muestran en la Figura 12. AZD7594 era el más activo de los SEGRM ensayados en cultivo 3D, seguido de mapracorat y BI653048. Esto está en línea con sus potencias para la activación del receptor de glucocorticoides (valores de EC₅₀ de 0,9 nM, 1,9 nM y 55 nM, respectivamente). Además, se encontró que HY-14234 era activo. El análogo inactivo BI3047 no indujo la formación de matriz.

La expresión "farmacéuticamente aceptable" se usa para decir que el nombre modificado es apropiado para usar como un producto farmacéutico o como parte de un producto farmacéutico. Las sales farmacéuticamente aceptables incluyen sales habitualmente usadas para formar sales de metales alcalinos y para formar sales de adición de ácidos libres o bases libres. En general, estas sales pueden prepararse típicamente por medios convencionales haciendo reaccionar, por ejemplo, el ácido o base apropiados con un compuesto usado en la invención.

Las sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables pueden prepararse a partir de un ácido inorgánico u orgánico. Los ejemplos de ácidos inorgánicos adecuados con frecuencia incluyen ácido clorhídrico, bromhídrico, yodhídrico, nítrico, carbónico, sulfúrico y fosfórico. Los ácidos orgánicos adecuados incluyen generalmente, por ejemplo, las clases de ácidos orgánicos alifáticos, cicloalifáticos, aromáticos, aralifáticos, heterocíclicos, carboxílicos y sulfónicos. Los ejemplos específicos de ácidos orgánicos adecuados con frecuencia incluyen acetato, trifluoroacetato, formiato, propionato, succinato, glicolato, gluconato, lactato, malato, ácido tartárico, citrato, ascorbato, glucuronato, maleato, fumarato, piruvato, aspartato, glutamato, benzoato, ácido antranílico, mesilato, estearato, salicilato, p-hidroxibenzoato, fenilacetato, mandelato, embonato (pamoato), etanosulfonato, bencenosulfonato, pantotenato, 2-hidroxietanosulfonato, sulfanilato, ciclohexilaminosulfonato, ácido algénico, ácido betahidroxibutírico, galactarato, galacturonato, adipato, alginato, bisulfato, butirato, canforato, canforsulfonato, ciclopentanopropionato, dodecilsulfato, glicohexanoato, glicerofosfato, heptanoato, hexanoato, nicotinato, oxalato, palmoato, pectinato, 2-naftalenosulfonato, 3-fenilpropionato, picrato, pivalato, tiocianato, tosilato y undecanoato.

Las sales de adición de base farmacéuticamente aceptables incluyen, por ejemplo, sales metálicas y sales orgánicas. Las sales metálicas preferidas incluyen sales de metales alcalinos (grupo Ia), sales de metales alcalinotérreos (grupo IIa) y otras sales metálicas fisiológicamente aceptables. Dichas sales se pueden preparar a partir de aluminio, calcio, litio, magnesio, potasio, sodio y zinc. Las sales orgánicas preferidas se pueden preparar a partir de aminas, tales como trometamina, dietilamina, N,N'-dibenciletildiamina, cloroprocaína, colina, dietanolamina, etilendiamina, meglumina (N-metilglucamina) y procaína. Los grupos que contienen nitrógeno básico pueden cuaternizarse con agentes tales como haluros de alquilo inferior (C1-C6) (p. ej., cloruros, bromuros y yoduros de metilo, etilo, propilo y butilo), sulfatos de dialquilo (p. ej., sulfatos de dimetilo, dietilo, dibutilo y diamilo), haluros de cadena larga (p. ej., cloruros, bromuros y yoduros de decilo, laurilo, miristilo y estearilo), haluros de arilalquilo (p. ej., bromuros de bencilo y fenetilo) y otros.

Las sales fisiológicamente aceptables preferidas de mapracorat incluyen sales de adición de ácido de ácidos minerales, ácidos carboxílicos y ácidos sulfónicos, p. ej. sales de ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido fosfórico, ácido metanosulfónico, ácido etanosulfónico, ácido toluenosulfónico, ácido bencenosulfónico, ácido naftalenodisulfónico, ácido acético, ácido trifluoroacético, ácido propiónico, ácido láctico, ácido tartárico, ácido málico, ácido cítrico, ácido fumárico, ácido maleico y ácido benzoico. Las sales fisiológicamente aceptables de mapracorat incluyen también sales de bases convencionales, tales como, a modo de ejemplo y preferiblemente, sales de metales alcalinos (p. ej. sales de sodio y potasio), sales de metales alcalinotérreos (p. ej. sales de calcio y magnesio) y sales de amonio derivadas de amoniaco o aminas orgánicas

con 1 a 16 átomos de C, tales como, a modo de ejemplo y preferiblemente, etilamina, dietilamina, trietilamina, etilisopropilamina, monoetanolamina, dietanolamina, trietanolamina, diciclohexilamina, dimetilaminoetanol, procaína, dibencilamina, N-metilmorfolina, arginina, lisina, etilendiamina y N-metilpiperidina.

5 La expresión alqueno C_2-C_8 es una cadena lineal o ramificada, sustituida o no sustituida, que incluye isómeros que tienen un doble enlace de configuración E o Z, tal como, p. ej., vinilo, propen-1-ilo, propen-2-ilo (alilo), but-1-en-1-ilo, but-1-en-2-ilo, but-2-en-1-ilo, but-2-en-2-ilo, 2-metilprop-2-en-1-ilo, 2-metilprop-1-en-1-ilo, but-1-en-3-ilo, but-3-en-1-ilo. Si el resto alqueno se coloca entre otros dos restos, el término alqueno significa alqueno tal como, p. ej., vinileno, propen-1-ileno, propen-2-ileno (alileno), but-1-en-1-ileno, but-1-en-2-ileno, but-2-en-1-ileno, but-2-en-2-ileno, 2-metil-prop-2-en-1-ileno, 2-metil-prop-1-en-1-ileno, but-1-en-3-ileno, but-3-en-1-ileno.

10 La expresión alquino C_2-C_8 representa una cadena lineal o ramificada, p. ej., $-C\equiv CH$, $-CH_2-C\equiv CH$, $-C\equiv C-CH_3$, $-CH(CH_3)-C\equiv CH$, $-C\equiv C-CH_2(CH_3)$, $-C(CH_3)_2-C\equiv CH$, $-C\equiv C-CH(CH_3)_2$, $-CH(CH_3)-C\equiv C-CH_3$, $-CH_2-C\equiv C-CH_2(CH_3)$ o, si el resto alquino se coloca entre otros dos restos, el término alquino significa alquino tal como, p. ej., $-C\equiv C-$, $-CH_2-C\equiv C-$, $-C\equiv C-CH_2-$, $-CH(CH_3)-C\equiv V-$, $-C\equiv C-CH(CH_3)-$, $-C(CH_3)_2-C\equiv C-$, $-C\equiv C-C(CH_3)_2-$, $-CH(CH_3)-C\equiv C-CH_2-$, $-CH_2-C\equiv C-CH(CH_3)-$.

15 La expresión cicloalquilo C_3-C_7 significa un grupo sustituido o no sustituido seleccionado de ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, cicloheptilo. Los posibles sustituyentes pueden seleccionarse de hidroxilo, halógeno, alquilo (C_1-C_5), alcoxi (C_1-C_5), NR^4R^5 , COO -alquilo (C_1-C_5), CHO, ciano.

20 La expresión cicloalquil(C_3-C_7)-alquilo(C_1-C_{10})- significa, p. ej., $-(CH_2)$ -cicloalquilo, $-(C_2H_4)$ -cicloalquilo, $-(C_3H_6)$ -cicloalquilo, $-(C_4H_8)$ -cicloalquilo, $-(C_5H_{10})$ -cicloalquilo en donde el cicloalquilo representa, p. ej., ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, cicloheptilo.

La expresión cicloalquil(C_3-C_7)-alqueno(C_2-C_8) significa, p. ej., $-(CH=CH)$ -cicloalquilo, $-[C(CH_3)=CH]$ -cicloalquilo, $-[CH=C(CH_3)]$ -cicloalquilo, $-(CH=CH-CH_2)$ -cicloalquilo, $-(CH)_2-CH=CH$ -cicloalquilo, $-(CH=CH-CH_2-CH_2)$ -cicloalquilo, $-(CH)_2-CH=CH-CH_2$ -cicloalquilo, $-(CH_2-CH_2-CH=CH)$ -cicloalquilo, $-(C(CH_3)=CH-CH_2)$ -cicloalquilo, $-(CH=C(CH_3)-CH_2)$ -cicloalquilo, en donde el término cicloalquilo se define anteriormente.

25 El término heterociclilo significa, p. ej., piperidinilo, morfolinilo, tiomorfolinilo, piperazinilo, tetrahydrofuranilo, tetrahydrotienilo, imidazolidinilo o pirrolidinilo, de modo que el grupo heterociclilo puede estar unido por cualquier átomo del anillo posible. El grupo heterociclilo puede estar sustituido con alquilo C_1-C_5 (opcionalmente sustituido), hidroxilo, alcoxi C_1-C_5 , NR^4R^5 , halógeno, ciano-, $COOR^6$, CHO-. Si es posible, estos sustituyentes también pueden estar unidos a uno de los átomos de nitrógeno libres, si los hay. Los N-óxidos también están incluidos en la definición.

30 La expresión heterocicil-alqueno(C_1-C_{10})- significa un grupo alqueno como se ha definido anteriormente que está conectado al grupo heterociclilo que también ya se ha definido anteriormente.

La expresión heterocicil-alqueno(C_2-C_8) significa un grupo alqueno tal como se ha definido anteriormente que está conectado al grupo heterociclilo que también ya se ha definido anteriormente.

35 El término arilo en el sentido de la invención significa anillos carbocíclicos aromáticos o parcialmente aromáticos que tienen de 6 a 14 átomos de carbono, p. ej., fenilo y que también pueden tener un segundo o tercer anillo condensado tal como p. ej. naftilo o antranilo. Otros ejemplos son fenilo, naftilo, tetralinilo, antranilo, benzoxazinona, dihidroindolona, indanilo e indenilo. Los grupos arilo pueden estar sustituidos en cualquier posición que conduzca a una molécula estable con uno o varios sustituyentes, p. ej. 1-3 sustituyentes, tales como p. ej. hidroxilo, halógeno, alquilo C_1-C_5 , alcoxi C_1-C_5 , ciano, CF_3 , nitró, COO (alquilo C_1-C_5 o bencilo) o un grupo heteroarilo, preferiblemente con 1-3 grupos alquilo C_1-C_5 , hidroxilo, halógeno, ciano o alcoxi C_1-C_5 .

40 El término heteroarilo significa un sistema de anillo aromático que tiene 1-3 heteroátomos seleccionados de nitrógeno, oxígeno o azufre, para anillos de cinco miembros el número máximo de heteroátomos es tres, por lo que solo se permiten dos átomos de oxígeno o azufre con la condición de que estos dos no estén unidos directamente entre sí.

45 Los posibles anillos heteroarilo son, p. ej., tienilo, furanilo, pirrolilo, oxazolilo, tiazolilo, imidazolilo, pirazolilo, isoxazolilo, isotiazolilo, oxadiazolilo, triazolilo, tiadiazolilo, benzofuranilo, benzotienilo, benzotiazolilo, benzoxazolilo, bencimidazolilo, indazolilo, indolilo, isoindolilo, piridilo, piridazinilo, pirimidinilo, pirazinilo, triazinilo, azaindolizino, benzopiridilo, benzopiridazinilo, benzopirimidinilo, benzopirazinilo, benzotriazinilo, quinolilo, isoquinolilo, ftalidilo, tioftalidilo, indolonilo, dihidroindolonilo, isoindolonilo, dihidroisoindolonilo, benzofuranilo o bencimidazolilo.

50 Un SEGRA para usar en la invención se administra a un sujeto en una cantidad terapéuticamente eficaz. Para aplicaciones sistémicas, la dosis del respectivo SEGRM estará en el intervalo de aproximadamente 10 a 1000 mg/día, dependiendo del respectivo SEGRM. Las formulaciones tópicas, tales como las formulaciones cutáneas o intradérmicas de SEGRM, se pueden administrar en una concentración de aproximadamente 0,00001 a 10% (p/v), aproximadamente de 0,00001 a 6% (p/v) o aproximadamente de 0,00001 a 1% (p/v), tal como de 0,0001 a 0,1% (p/v), tal como una crema, gel, loción, pomada, formulación liposomal o de nanopartículas o similares de 0,001 a

1% (p/v). Las formulaciones intradérmicas pueden administrarse, p. ej., usando microagujas.

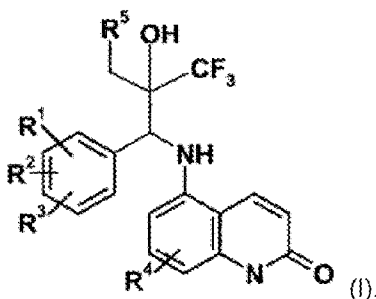
Por ejemplo, una formulación tópica de mapracorat puede comprender preferiblemente mapracorat en una concentración de > 0,01% en peso a < 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 o 1% en peso, en particular > 0,01% en peso a < 5, 4, 3, 2 o 1% en peso, o > 0,05% en peso a 0,15 % en peso o > 0,02% en peso a < 0,5% en peso, o cualquier intervalo de una combinación de estos valores.

Por ejemplo, la formulación tópica descrita en el documento WO 2018/046678 para los compuestos del documento WO 2009/065503 puede utilizarse según la presente invención. Las formulaciones se refieren a un sistema de gel multifásico sin agua que comprende una matriz lipídica externa y una fase interna gelificada por medio de polímero, caracterizado por que el sistema de gel multifásico comprende

(a) una matriz lipídica externa; y

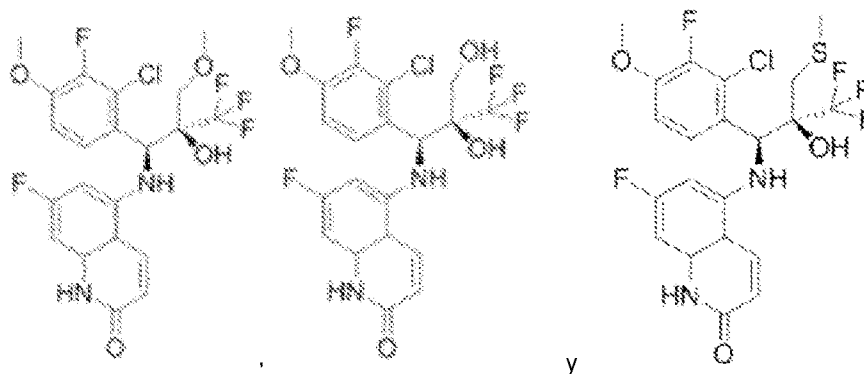
(b) comprende una fase interna gelificada por al menos un polímero, seleccionándose dicho polímero del grupo que consiste en derivados de celulosa, polímeros de acrilato y derivados de los mismos o mezclas de los mismos

y el principio activo se selecciona de compuestos de la fórmula general (I).



en donde el compuesto se define como anteriormente.

En particular, se describen dichas formulaciones tópicas, pero no forman parte de la invención, en donde el ingrediente activo se selecciona de los siguientes tres compuestos:



Preferiblemente, la fase lipídica contiene lípidos compatibles con la piel seleccionados del grupo que consiste en vaselina, cera de parafina, cera microcristalina, escualeno, octanoato de cetilestearilo, oleato de etilo, tricaprilato/caprato de glicerilo, miristato de miristilo, dicaprato de propilenglicol, ésteres cetílicos, miristato de isopropilo, palmitato de isopropilo, mono, di y triglicéridos, glicéridos etoxilados, ésteres de polietilenglicol, ésteres de sorbitán, grasa dura, adipato de dibutilo, linoleato de etilo, Crodamol, estearato de isocetilo, palmitatos de cetilo, alcohol cetílico, alcohol oleico, alcohol estearílico, éter dicaprílico, ácido oleico, ceras, en particular cera de jojoba y cera de abejas, colesterol, polietilenglicoles, lanolina, alcoholes de lanolina, aceites de silicona y mezclas de los mismos. Preferiblemente, la fase lipídica constituye una proporción de 60 a 95% en peso, más preferiblemente de 65 a 92% en peso, más preferiblemente de 70 a 90% en peso, del sistema de gel multifásico.

Preferiblemente, la fase lipídica contiene

de 50 a 90% en peso, más preferiblemente de 55 a 85% en peso, más preferiblemente de 58 a 80% en peso de vaselina;

de 0 a 20% en peso, más preferiblemente de 1 a 15% en peso, más preferiblemente de 5 a 13% en peso de aceite de parafina;

de 0 a 8% en peso, más preferiblemente de 1 a 6% en peso, más preferiblemente de 1 a 4% en peso de cera de abejas;

de 0 a 20% en peso, más preferiblemente de 1 a 15% en peso, más preferiblemente de 5 a 13% en peso de parafina dura; y

5 de 0 a 8% en peso, más preferiblemente de 1 a 6% en peso, más preferiblemente de 1 a 4% en peso de ciclometicona,

estando los pesos basados en el sistema de gel multifásico. Preferiblemente, la fase gelificada interna comprende al menos un polímero seleccionado del grupo que consiste en un derivado de celulosa, un polímero de acrilato o un derivado del mismo o una mezcla de los mismos. Preferiblemente, la fase gelificada interna contiene una proporción de 5 a 40% en peso, más preferiblemente de 8 a 35% en peso, más preferiblemente de 10 a 30% en peso, del sistema de gel multifásico. Preferiblemente, se usa una combinación de un polímero de acrilato reticulado e hidroxipropilcelulosa en la fase interna gelificada. Preferiblemente, la fase gelificada interna comprende una mezcla de un poliol y un diéster carbónico. Preferiblemente, la fase gelificada interna contiene una mezcla de propilenglicol y carbonato de propileno. Preferiblemente, la fase gelificada interna comprende - de 0,05 a 0,5% en peso, más preferiblemente de 0,075 a 0,4% en peso,

más preferiblemente de 0,1 a 0,3% en peso del polímero de acrilato reticulado;

de 0,01 a 0,1% en peso, más preferiblemente de 0,01 a 0,08% en peso, más preferiblemente de 0,01 a 0,06% en peso, del derivado de celulosa, en particular la hidroxipropilcelulosa;

20 de 1 a 15% en peso, más preferiblemente de 2 a 13% en peso, más preferiblemente de 3 a 10% en peso, del diéster de ácido carbónico, en particular el carbonato de propileno; y

de 0,5 a 20% en peso, más preferiblemente de 0,75 a 17% en peso, más preferiblemente de 1 a 15% en peso, de poliol, en particular propilenglicol;

estando basados los pesos siempre en el sistema de gel multifásico.

25 La invención puede usarse para tratar o prevenir diferentes tipos de heridas en la piel que presentan cicatrización alterada de la herida en la piel. Diferentes tipos de heridas en la piel que presentan cicatrización alterada de la herida en la piel que pueden tratarse según la presente invención incluyen una herida de un paciente diabético, una herida en la piel que está infectada por al menos un microorganismo, una herida isquémica, una herida en un paciente que padece suministro de sangre deficiente o estasis venosa, una úlcera, tal como una úlcera diabética, úlcera venosa, úlcera arterial, tal como úlcera arterial en la pierna, úlcera mixta o úlcera por presión, una herida neuropática, úlcera en la pierna, herida quirúrgica, quemadura, dehiscencia, úlcera neoplásica, una enfermedad de la piel ampollosa, tal como epidermólisis ampollosa y úlcera rara. Los microorganismos que infectan heridas en la piel son conocidos en la técnica e incluyen bacterias y hongos, tales como corinobacterias, estafilococos, estreptococos y levaduras tales como especies de *Candida*.

35 Por lo tanto, en una realización preferida de la presente invención, la herida en la piel se selecciona de una herida de un paciente diabético, una herida en la piel que está infectada por al menos un microorganismo, una herida isquémica, una herida en un paciente que padece suministro de sangre deficiente o estasis venosa, una úlcera, tal como una úlcera diabética, úlcera venosa, úlcera arterial, tal como úlcera arterial en la pierna, úlcera mixta o úlcera por presión, una herida neuropática, úlcera en la pierna, herida quirúrgica, quemadura, dehiscencia, úlcera neoplásica, una enfermedad de la piel ampollosa, tal como epidermólisis ampollosa y úlcera rara.

40 El sujeto o individuo puede ser un individuo por lo demás sano o puede presentar enfermedades y/o comorbilidades adicionales, y/o se trata con medicamento(s) para enfermedades y/o comorbilidades adicionales. En una realización preferida, el sujeto o individuo, además de la cicatrización alterada de heridas en la piel, presenta enfermedades y/o comorbilidades adicionales, y/o se trata con medicamento(s) para enfermedades y/o comorbilidades adicionales.

45 Por lo tanto, en una realización preferida, el sujeto padece al menos una comorbilidad asociada con una cicatrización alterada de heridas en la piel. Tales comorbilidades son, por ejemplo, diabetes, sistema inmunitario suprimido después del trasplante de un injerto y enfermedad de injerto contra huésped (GvHD). Comorbilidades adicionales incluyen adiposidades, presión sanguínea aumentada, estasis venosa u oclusión arterial periférica. Comorbilidades adicionales son enfermedades que se pueden tratar con glucocorticoides.

50 Una comorbilidad se entiende como la presencia de una o más enfermedades o trastornos adicionales que se producen simultáneamente con una enfermedad dada.

55 Por lo tanto, en otra realización preferida de la presente invención, el sujeto se ha sometido a un trasplante de un injerto y/o recibe terapia inmunosupresora y/o es tratado con al menos un fármaco inmunosupresor. Por ejemplo, la terapia inmunosupresora es por administración de un glucocorticoide y/o un inhibidor de la calcineurina. Por consiguiente, el fármaco inmunosupresor puede seleccionarse de un glucocorticoide y un inhibidor de la calcineurina. Los inhibidores de calcineurina adecuados se conocen en la técnica e incluyen tacrolimus,

pimecrolimus y ciclosporina A. Los glucocorticoides adecuados se conocen en la técnica e incluyen cortisol, acetato de cortisona, prednisona, prednisolona, metilprednisolona, cloroprednisona, cloprednol, difluprednato, acetato de fludrocortisona, fluocinolona, fluperolona, fluprednisolona, loteprednol, prednicartrato, tixocortol, triamcinolona, acetónido de triamcinolona, dexametasona, betametasona, beclometasona, acetato de desoxicorticosterona, alclometasona, clobetasol, clobetasona, clocortolona, desoximetasona, diflorasona, difluocortolona, flucorolona, flumetasona, fluocortina, fluocortolona, fluprednoleno, fluticasona, furoato de fluticasona, halometasona, meprednisona, mometasona, furoato de mometasona, parametasona, prednoleno, rimexolona, ulobetasol, amcinonida, budesonida, ciclesonida, deflazacort, desonida, formocortal, acetónido de flucorolona, fludroxicortida, flunisolida, acetónido de fluocinolona, fluocinonida, halcinonida, hidroximetilprogesterona y medroxiprogesterona, o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

La presente invención se refiere a SEGRA, o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, como se especifica en las reivindicaciones, para el tratamiento de la cicatrización alterada de heridas en la piel en un sujeto.

Se entiende por "herida en la piel" un daño en la piel de un individuo vivo, tal como cortes, desgarros, quemaduras o roturas. Preferiblemente, se entiende por herida en la piel una lesión abierta de la piel de un individuo vivo. La piel puede estar situada en cualquier zona de un individuo, tal como por ejemplo la cabeza, los brazos, las piernas, el pecho o la espalda. Además, el individuo puede tener una, dos, tres, cuatro o más heridas en la piel. Además, la zona de una herida en la piel puede diferir. En una realización preferida, la herida en la piel forma un exudado de herida. En otra realización preferida, la herida en la piel forma una biopelícula de herida.

"Cicatrización alterada de heridas en la piel" se refiere a una herida en la piel que no cicatriza al ritmo esperado. En una realización preferida, la cicatrización alterada de la herida en la piel es una herida en la piel que no cicatriza o una herida en la piel crónica. Por herida en la piel que no cicatriza se entiende preferiblemente una herida en la piel que no se cierra en el plazo de 2 meses con tratamiento convencional, preferiblemente en el plazo 3 o más meses con tratamiento convencional. Preferiblemente, una herida en la piel que no cicatriza se caracteriza por una falta de cierre de la herida, un aumento de la zona y/o profundidad de la herida, necrosis y/o infecciones de la herida en la piel y/o falta de granulación.

Como se usa en el presente documento, una "herida en la piel que cicatriza" se entiende como una herida en la piel que cicatriza a un ritmo esperado, en particular, como una herida en la piel que se cierra en el plazo de 2 meses con tratamiento convencional. Preferiblemente, una herida en la piel que cicatriza se caracteriza por un cierre continuo de la herida, granulación, ausencia de necrosis y/o ausencia de infecciones.

Se entiende por "úlceras" una llaga en la piel, acompañada de desintegración del tejido. Las úlceras pueden producir la pérdida completa de la epidermis y, a menudo, de partes de la dermis e incluso de la grasa subcutánea.

El "sujeto" o "individuo" es un animal, preferiblemente el individuo es un vertebrado, en particular un mamífero, más preferiblemente un ser humano.

En otra realización preferida de la presente invención, el sujeto padece diabetes y/o tiene al menos una úlcera diabética.

La herida en la piel del sujeto puede recibir ya un tratamiento tal como un tratamiento convencional para tratar la cicatrización de heridas, o puede no estar tratada con respecto a la herida en la piel.

"Tratamiento convencional" se entiende como un tratamiento recomendado en general por los médicos para heridas de la piel, en particular uno o más seleccionados de apósitos para heridas, desbridamiento quirúrgico y biológico (Maggot), control de infecciones, terapia de presión negativa y terapia con un tratamiento biológico o celular.

Por lo tanto, en una realización preferida la herida en la piel del sujeto puede no tratarse o tratarse con tratamiento convencional para tratar la cicatrización de heridas o con uno o más de los siguientes para tratar la cicatrización de heridas: compresión, apósitos para heridas, desbridamiento quirúrgico, desbridamiento biológico, control de infecciones, tratamiento con antibióticos, terapia de presión negativa, proteínas, en particular factores de crecimiento proteicos, anticuerpos, péptidos, azúcares, células o componentes celulares, piel artificial, productos derivados de la sangre humana, terapia génica o modificaciones del lecho de la herida genéticamente transformados, fármacos, medicamentos a base de hierbas o extractos de plantas. En una realización preferida, la herida en la piel del sujeto puede no tratarse o tratarse con tratamiento convencional para tratar la cicatrización de heridas en donde el tratamiento convencional no incluye tratamiento con factores de crecimiento proteicos. En otra realización preferida, la herida en la piel del sujeto puede no tratarse o tratarse con un tratamiento convencional para tratar la cicatrización de heridas, en donde el tratamiento convencional incluye tratamiento con factores de crecimiento proteicos.

Por lo tanto, en otra realización preferida de la presente invención, el sujeto padece diabetes y/o tiene al menos una úlcera diabética, y/o el sujeto (i) se ha sometido a un trasplante de un injerto, y opcionalmente padece diabetes, y/o (ii) recibe terapia inmunosupresora y, opcionalmente, padece diabetes.

Además, se encontró sorprendentemente en los ejemplos que tanto un ensayo basado en la proliferación de fibroblastos como un ensayo basado en la formación de una matriz derivada de fibroblastos permite la identificación de sujetos que padecen problemas de cicatrización de heridas en la piel que responden a un tratamiento y/o prevención con un SEGRM. Además, se descubrió que la secreción de la citoquina IL-1, IL-1beta es un marcador sensible y predictivo. Por consiguiente, la determinación de una IL-1 se utiliza en una realización preferida en combinación con un ensayo basado en la proliferación de fibroblastos y/o un ensayo basado en la formación de matriz derivada de fibroblastos.

Los ensayos se pueden usar para la estratificación e identificación exitosas de sujetos que padecen problemas de cicatrización de heridas en la piel. Por consiguiente, los ensayos son útiles para enfoques de medicina personalizada.

Por lo tanto, en otra realización preferida más de la presente invención, se identifica que el sujeto responde al tratamiento de la cicatrización alterada de heridas en la piel llevando a cabo las etapas i) y/o ii):

i) medir la proliferación de células de fibroblastos, y opcionalmente la cantidad de al menos un marcador de citoquina IL-1 en el líquido sobrenadante de células de fibroblastos, en presencia de:

(1) una muestra de exudado de herida o muestra de biopelícula de herida obtenida de la herida en la piel de dicho sujeto, y

(2) al menos un activador selectivo del receptor de glucocorticoides (SEGRA) que es un agonista del receptor de glucocorticoides (GR), o sal farmacéuticamente aceptable del mismo;

ii) medir la formación de matriz derivada de fibroblastos por células de fibroblastos en presencia de:

(1) una muestra de exudado de herida o muestra de biopelícula de herida obtenida de la herida en la piel de dicho sujeto, y

(2) al menos un activador selectivo del receptor de glucocorticoides (SEGRA) que es un agonista del receptor de glucocorticoides (GR), o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde se identifica que el sujeto responde al tratamiento de la cicatrización alterada de heridas en la piel con un activador selectivo del receptor de glucocorticoides (SEGRA), que es un agonista del receptor de glucocorticoides (GR), o sal farmacéuticamente aceptable del mismo,

en caso de que el valor de proliferación de células de fibroblastos medido en la etapa i) y/o el valor de formación de matriz derivada de fibroblastos por células de fibroblastos medido en la etapa ii) esté al menos 20% por encima de un valor de control establecido en ausencia del al menos un activador selectivo del receptor de glucocorticoides (SEGRA), que es un agonista del receptor de glucocorticoides (GR) o sal farmacéuticamente aceptable del mismo de (2), y, opcionalmente, en caso de que el valor para la cantidad de al menos un marcador de citoquina IL-1 en el líquido sobrenadante de células de fibroblastos obtenido en la etapa i) esté por debajo de un valor de control establecido en ausencia del al menos un activador selectivo del receptor de glucocorticoides (SEGRA) que es un agonista del receptor de glucocorticoides (GR), o sal farmacéuticamente aceptable del mismo de (2).

En una realización preferida de la presente invención, la muestra es una muestra de exudado de herida. En otra realización preferida, la muestra es una muestra de biopelícula de herida. En una realización más preferida, la muestra es una muestra de exudado de herida.

El SEGRM que se administrará al sujeto en caso de que se identifique que el sujeto responde puede ser el(los) mismo(s) SEGRM o diferente(s) SEGRM, preferiblemente el(los) mismo(s) SEGRM.

La medición de la proliferación de células de fibroblastos en presencia de una muestra de exudado de herida, o muestra de biopelícula de herida, obtenida de dicha herida en la piel y los SEGRM de (2) se puede realizar como se muestra en los ejemplos. El ensayo también se denomina ensayo de "proliferación de HDF", "proliferación de fibroblastos dérmicos humanos", "proliferación de fibroblastos" o "proliferación de fibroblastos 2D" en la presente solicitud. Para el ensayo, se utilizan células de fibroblastos, que pueden ser células de fibroblastos primarios, tales como fibroblastos dérmicos de mamíferos primarios, o células de una línea celular de fibroblastos, preferiblemente células de fibroblastos primarios. Los métodos para cultivar células de fibroblastos se conocen en la técnica y se describen, por ejemplo, en los ejemplos. Por ejemplo, las células pueden cultivarse usando medio DMEM que contiene FCS.

En una realización preferida adicional, las células se incuban sobre un soporte sólido, permitiendo así que las células se adhieran al soporte, como se describe, por ejemplo, en los ejemplos, donde se usaron placas multipocillo. Además, las células se ponen en contacto con la muestra de exudado de herida, o la muestra de biopelícula de herida, que está opcionalmente diluida, p. ej., diluida con medio o un líquido acuoso salino, y los SEGRM de (2). El contacto puede realizarse antes o después de que se produzca la adherencia de las células. Por ejemplo, el contacto se puede lograr añadiendo la muestra de exudado de herida líquida, opcionalmente diluida, o la muestra de biopelícula de herida, y los SEGRM de (2) a las células antes de la adherencia, por ejemplo,

en la siembra de las células, o después de la adherencia. El contacto se puede conseguir, p. ej., pipeteando y, opcionalmente, mezclando suavemente. Las células se incuban durante un tiempo apropiado, tal como durante 6 horas a 300 horas, más preferiblemente de 12 horas a 200 horas, incluso más preferiblemente de 24 horas a 120 horas. En los ejemplos se utilizaron con éxito 72 horas. Para muestras de control negativo, se puede añadir un líquido correspondiente en ausencia de los SEGRM de (2) además del exudado de herida o la biopelícula de herida, o solo se añade exudado de herida o biopelícula de herida. Posteriormente, se determina la cantidad, preferiblemente el número de células, incluida la formación de matriz extracelular, de las células de fibroblastos, tal como fijando las células y determinando el contenido total de proteínas. Las células pueden fijarse, por ejemplo, usando paraformaldehído. Además, se puede usar un colorante adecuado, tal como sulforrodamina B, para determinar la cantidad, preferiblemente el número de células, incluida la formación de matriz extracelular, de células de fibroblastos. Las células teñidas, incluida la matriz extracelular formada, pueden cuantificarse entonces, p. ej., determinando la absorbancia o la fluorescencia a una longitud de onda adecuada, dependiendo del colorante. Preferiblemente, las etapas se realizan en cultivo celular 2D, lo que permite cultivar las células de forma adherente sobre un soporte sólido. Preferiblemente, la muestra es una muestra de exudado de herida.

Por lo tanto, en otra realización preferida, la etapa del método incluye las siguientes etapas:

(i) cultivar células de fibroblastos,

(ii) incubar las células sobre un soporte sólido, permitiendo así que las células se adhieran al soporte,

(iii) poner en contacto las células con (1) la muestra de exudado de herida, o muestra de biopelícula de herida, que está opcionalmente diluida, y los SEGRM de (2), en donde el contacto puede realizarse antes o después de que se produzca la adherencia de las células, y en donde el contacto de (1) y (2) puede realizarse simultánea o secuencialmente, y

(iv) determinar la cantidad, preferiblemente el número de células, incluida la formación de matriz extracelular, de las células de fibroblastos, tal como fijando células y determinando el contenido total de proteínas, preferiblemente en donde el método se realiza en cultivo celular 2D.

En una realización preferida de la presente invención, la muestra es una muestra de exudado de herida. En otra realización preferida, la muestra es una muestra de biopelícula de herida. En una realización más preferida, la muestra es una muestra de exudado de herida.

Opcionalmente, se mide la cantidad de al menos un marcador de citoquina IL-1 en el líquido sobrenadante de células de fibroblastos en i).

Se encontró en los ejemplos que una citoquina IL-1, en particular IL-1beta, es un marcador sensible en el contexto de la presente invención.

Se entiende que "citoquina IL-1" abarca IL-1alfa e IL-1beta. En una realización preferida, la citoquina IL-1 es IL-1beta.

Se descubrió que las cantidades de citoquinas IL-1 proinflamatorias secretadas por fibroblastos eran particularmente predictivas para identificar heridas en la piel que cicatrizan o heridas en la piel que no cicatrizan, así como para controlar la cicatrización de heridas. En particular, se encontró que eran secretadas mayores cantidades de estas citoquinas en presencia de WE de heridas que no cicatrizaban en comparación con WE de heridas que cicatrizaban. Las citoquinas IL-1alfa e IL-1beta son proteínas, preferiblemente proteínas humanas, que son bien conocidas por el experto en la técnica. La IL-1alfa (también conocida como Interleucina-1 α o IL-1 α) y la IL-1beta (también conocida como Interleucina-1 β o IL-1 β) pueden determinarse mediante métodos conocidos en la técnica, p. ej. usando un ensayo inmunológico, incluso más preferiblemente usando un ensayo ELISA, como se describe en los ejemplos, o determinando el ARNm de la citoquina IL-1, como se describe en los ejemplos. Se sabe que la IL-1alfa y la IL-1beta son citoquinas proinflamatorias.

Por lo tanto, en una realización preferida, se identifica que el sujeto responde al tratamiento de la cicatrización alterada de heridas en la piel llevando a cabo la etapa i) que mide la proliferación de células de fibroblastos y, opcionalmente, la cantidad de al menos un marcador citoquina IL-1 en el líquido sobrenadante de células de fibroblastos.

Preferiblemente, la medición de la cantidad de al menos un marcador citoquina IL-1 en el líquido sobrenadante de células de fibroblastos en i) incluye las siguientes etapas:

(i) cultivar células de fibroblastos,

(ii) incubar las células sobre un soporte sólido, permitiendo así que las células se adhieran al soporte,

(iii) poner en contacto las células con (1) la muestra de exudado de herida, o muestra de biopelícula de herida, que está opcionalmente diluida, y los SEGRM de (2), en donde el contacto puede realizarse antes o después de que se produzca la adherencia de las células, y en donde el contacto de (1) y (2) puede realizarse

simultánea o secuencialmente, y

(iv) determinar la cantidad de al menos un marcador de citoquina IL-1 en el líquido sobrenadante del cultivo celular,

preferiblemente en donde al menos un marcador de citoquina IL-1 se determina usando un ensayo inmunológico, más preferiblemente usando un ensayo ELISA y/o determinando el ARNm de la citoquina IL-1, en donde el método se realiza en cultivo celular 2D.

En una realización preferida de la presente invención, la muestra es una muestra de exudado de herida. En otra realización preferida, la muestra es una muestra de biopelícula de herida. En una realización más preferida, la muestra es una muestra de exudado de herida.

El cultivo de células se realiza preferiblemente de aproximadamente 20°C a 40°C, más preferiblemente de 25°C a 38°C, incluso más preferiblemente a aproximadamente 37°C.

La medición de la formación de matriz derivada de fibroblastos por células de fibroblastos en presencia de una muestra de exudado de herida, o muestra de biopelícula de herida, obtenida de una herida en la piel, se puede realizar como se muestra en los ejemplos. El ensayo también se denomina ensayo de "formación de ECM", "matriz derivada de fibroblastos" o "matriz derivada de fibroblastos 3D" en la presente solicitud. Para el ensayo, se utilizan células de fibroblastos, que pueden ser células de fibroblastos primarios, tales como fibroblastos dérmicos de mamíferos primarios, o células de una línea celular de fibroblastos, preferiblemente células de fibroblastos primarios. En los ejemplos, las células de fibroblastos se siembran sobre un soporte, que preferiblemente está recubierto previamente con un agente potenciador de la adhesión, tal como gelatina. Por ejemplo, el recubrimiento se puede conseguir incubando el soporte con una solución o suspensión que contiene el agente potenciador de la adhesión, tal como gelatina. En los ejemplos se utilizó con éxito una solución de gelatina al 0,2%. Preferiblemente, las células se cultivan hasta que se alcanza la confluencia. Posteriormente, las células se ponen en contacto con (i) un suplemento promotor de matriz, (ii) la muestra de exudado de herida o muestra de biopelícula de herida, que está opcionalmente diluida, y (iii) los SEGRM de (2), en donde (i), (ii) y (iii) se pueden poner en contacto simultánea o secuencialmente. Por ejemplo, el suplemento promotor de matriz, que se selecciona preferiblemente de una solución que comprende vitamina C o una sal fisiológicamente aceptable de la misma, tal como la sal sódica, o ácido 2-fosfo-L-ascórbico o una sal fisiológicamente aceptable del mismo, y una combinación de EGF e insulina, se añade a las células, p. ej., mediante pipeteo y, opcionalmente mezclando suavemente. La muestra de exudado de herida, o muestra de biopelícula de herida, que está opcionalmente diluida, se puede poner en contacto simultánea o secuencialmente y los SEGRM de (2) se añaden simultánea o secuencialmente. Por ejemplo, la muestra de exudado de herida, o muestra de biopelícula de herida, opcionalmente diluida se puede mezclar con el suplemento promotor de matriz, y la mezcla se puede añadir a las células, y posteriormente se añaden los SEGRM de (2). Alternativamente, la muestra de exudado de herida, o muestra de biopelícula de herida, opcionalmente diluida se puede añadir por separado, pero simultáneamente, o por separado, pero después o antes del suplemento promotor de matriz y/o los SEGRM de (2). En caso de contacto posterior no simultáneo, los componentes (i), (ii) y (iii) se ponen en contacto preferiblemente en el plazo de 1 hora. Las células se incuban posteriormente, preferiblemente durante 12 horas a 20 días, en donde el medio se reemplaza opcionalmente al menos una vez con medio nuevo suplementado con exudado de herida, o biopelícula de herida, opcionalmente diluido y suplemento promotor de matriz. En el ejemplo, el medio se reemplazó una vez después de 4 días de incubación. Como se forma una matriz tridimensional derivada de fibroblastos, el soporte sólido contiene preferiblemente al menos una cavidad que permite llenar el espacio y por lo tanto permite un cultivo celular 3D. Posteriormente, se determina la cantidad de matriz derivada de fibroblastos, tal como fijando las células y determinando el contenido total de proteínas. Las células pueden fijarse, por ejemplo, usando paraformaldehído. Además, se puede usar un colorante adecuado, tal como sulforrodamina B, para determinar la cantidad, preferiblemente el número de células, incluida la formación de matriz extracelular, de células de fibroblastos. Las células teñidas, incluida la formación de matriz extracelular, pueden entonces cuantificarse, p. ej., determinando la absorbancia o la fluorescencia a una longitud de onda adecuada, dependiendo del colorante. Para muestras de control negativo, se puede añadir un líquido correspondiente en ausencia de los SEGRM de (2) además del exudado de herida o biopelícula de herida, o solo se añade exudado de herida o biopelícula de herida. Preferiblemente, la muestra es una muestra de exudado de herida.

Por consiguiente, la etapa del método incluye preferiblemente las siguientes etapas:

(i) sembrar células de fibroblastos sobre un soporte, que preferiblemente está recubierto previamente con un agente potenciador de la adhesión, tal como gelatina,

(ii) cultivar las células sobre el soporte, preferiblemente hasta que se alcance la confluencia,

(iii) poner en contacto las células con (i) un suplemento promotor de matriz, (ii) la muestra de exudado de herida, o muestra de biopelícula de herida, que está opcionalmente diluida, y (iii) los SEGRM de (2), en donde (i) y (ii) se pueden poner en contacto simultánea o secuencialmente,

(iv) determinar la cantidad de matriz derivada de fibroblastos, tal como fijando células y determinar el contenido total de proteínas,

preferiblemente en donde el método se realiza en cultivo celular 3D.

En una realización preferida de la presente invención, la muestra es una muestra de exudado de herida. En otra realización preferida, la muestra es una muestra de biopelícula herida. En una realización más preferida, la muestra es una muestra de exudado de herida.

La "matriz derivada de fibroblastos" o "FDM" se entiende como la matriz extracelular (ECM) formada por células de fibroblastos vivas en un entorno favorable para la formación de la matriz, p. ej., en presencia de un suplemento promotor de la matriz. La FDM se puede obtener como se describe en los ejemplos. En particular, la FDM se puede obtener (i) sembrando células de fibroblastos sobre un soporte, que está recubierto previamente con un agente potenciador de la adhesión, tal como gelatina, (ii) cultivando las células sobre el soporte, preferiblemente hasta que se alcance la confluencia y (iii) poniendo en contacto las células con un suplemento promotor de matriz, tal como vitamina C o una sal fisiológicamente aceptable de la misma, o ácido 2-fosfo-L-ascórbico o una sal fisiológicamente aceptable del mismo, o una combinación de EGF e insulina.

Se entiende por "suplemento promotor de matriz" un compuesto o composición que promueve la formación de matriz derivada de fibroblastos por células de fibroblastos vivas en un cultivo celular *in vitro*. Los suplementos promotores de matriz adecuados son vitamina C o una sal fisiológicamente aceptable de la misma, tal como la sal sódica, o ácido 2-fosfo-L-ascórbico o una sal fisiológicamente aceptable del mismo, y una combinación de EGF e insulina, así como composiciones que comprenden los compuestos, tales como soluciones o suspensiones. Se puede proporcionar una combinación de EGF e insulina al cultivo celular por separado, p. ej., como soluciones separadas que comprenden EGF o insulina respectivamente, o juntas, p. ej., como solución que comprende EGF e insulina.

Un "agente potenciador de la adhesión" es un agente que potencia la adhesión de las células a un soporte sólido, tal como un soporte plástico, pero que no interfiere sustancialmente con la viabilidad de las células. En una realización preferida, el agente potenciador de la adhesión es gelatina o fibronectina, más preferiblemente gelatina.

Por "cultivo celular 2D" se entiende un cultivo celular en donde las células se cultivan en una superficie plana o sustancialmente plana. En una realización preferida, el cultivo celular 2D es cultivo de células adherentes.

Por "cultivo celular 3D" se entiende un cultivo celular en donde las células se cultivan sobre una superficie no plana o sustancialmente no plana. En una realización preferida, el cultivo celular 3D es el cultivo de células adherentes y/o cultivo de células dentro de una matriz, tal como ECM, en particular FDM.

Un "soporte" o "soporte sólido" se selecciona preferiblemente de un chip, matriz, tal como una micromatriz o nanomatriz, una placa, tal como una placa multipocillo, o un plato. Para aplicaciones de cultivo celular, el soporte sólido es preferiblemente adecuado para cultivar células, por ejemplo, el soporte puede ser un soporte plástico.

Por "exudado de herida" se entiende el líquido extracelular situado dentro y encima de una herida de la piel. El exudado de herida también se denomina una "biopsia líquida".

Por "biopelícula de herida" se entiende la sustancia resultante de una infección de una herida en la piel por microorganismos que son capaces de formar colonias. Normalmente, la biopelícula de herida es una sustancia gomosa o similar a una goma. Una biopelícula de herida comprende especies microbianas seleccionadas de bacterias, hongos, levaduras, algas y otros microorganismos y desechos celulares. Una biopelícula de herida se forma cuando ciertos tipos de microorganismos se adhieren a la superficie de las heridas de la piel secretando una sustancia gomosa o similar a una goma. Por ejemplo, se puede obtener una muestra de biopelícula de herida mediante desbridamiento quirúrgico agudo de la superficie de la herida o limpiando la superficie de la herida con un hisopo, tal como un hisopo de algodón o un hisopo con flocado de nailon, o material de apósito para heridas.

Por "muestra de exudado de herida" o "WE" se entiende una muestra de exudado de herida obtenida de una herida en la piel de un individuo. Se conocen en la técnica métodos para obtener una muestra de exudado de herida. Por ejemplo, se puede obtener una muestra de exudado de herida mediante un método físico o químico, en particular aplicando presión negativa a la herida de la piel, tal como usando un dispositivo de drenaje de presión negativa, un método que utiliza fuerzas capilares, recogiendo el exudado de la herida en un apósito o membrana de película, recogiendo el exudado de herida en una jeringa, aplicando un material absorbente, tal como perlas absorbentes, o un filtro, o usando un hisopo, tal como un hisopo de algodón o un hisopo flocado de nailon, en particular en donde el apósito o membrana de película es una capa de celulosa y/o en donde el material absorbente es una capa de celulosa. Las capas de celulosa adecuadas preferidas son capas de nanocelulosa. El volumen de muestra de exudado de herida puede variar y puede estar en el intervalo de 1 nl a 1 l, de 10 nl a 1 l o de 100 nl a 1 l, tal como de 1 µl a 1 l, de 1 ml a 1 l o de 10 ml a 1 l. Por ejemplo, las muestras de exudado de heridas investigadas en los ejemplos tenían un volumen de hasta 400 ml y típicamente tenían un volumen de 0,1 a 100 ml, en particular de 1 a 50 ml. La muestra de exudado de herida puede usarse para los métodos de la invención directamente después de obtener la muestra o se puede almacenar, en particular almacenar a <4°C, <0°C o <10°C, tal como aproximadamente -20°C o -80°C, antes de su uso en los métodos de la invención.

Por una "muestra de biopelícula de herida" o "WB (por sus siglas en inglés *wound biofilm*)" se entiende una muestra de biopelícula de herida obtenida de una herida en la piel de un individuo. Se conocen en la técnica

métodos para obtener una muestra de biopelícula de herida. Por ejemplo, se puede obtener una muestra de biopelícula de herida mediante desbridamiento quirúrgico cortante o limpiando la superficie de la herida con un hisopo, como un hisopo de algodón o un hisopo con flocado de nailon, o material de apósito para heridas. El volumen de muestra de biopelícula de herida puede variar y puede estar en el intervalo de 1 nl a 1 l, de 10 nl a 1 l o de 100 nl a 1 l, tal como de 1 µl a 10 ml, de 1 µl a 1 ml o de 10 µl a 1 ml. El peso húmedo de la biopelícula de herida puede variar y puede estar en el intervalo de 10 µg a 10 g, de 100 µg a 10 g, tal como de 1 mg a 10 g, de 10 mg a 10 g, de 100 mg a 10 g o de 1 g a 10 g. La muestra de biopelícula de herida se puede usar para los métodos de la invención directamente después de obtener la muestra o se puede almacenar, en particular almacenar a <4°C, <0°C o <10°C antes de usar en los métodos de la invención. La muestra de biopelícula de herida se puede extraer con un líquido adecuado, tal como medio de cultivo celular o tampón, en particular con un líquido de 5 a 10 veces el peso de la muestra.

Se descubrió sorprendentemente que los ensayos anteriores relacionados con la medición de la proliferación de células de fibroblastos y la formación de matriz derivada de fibroblastos por células de fibroblastos pueden identificar de forma fiable sujetos que responden a un tratamiento y/o prevención de la cicatrización alterada de heridas en la piel de cualquiera de las realizaciones anteriores de la invención.

Además, se descubrió que la precisión de la identificación de sujetos que responden mejora en el caso de medir tanto la proliferación de células de fibroblastos como de medir opcionalmente la cantidad de al menos una citoquina IL-1. Por consiguiente, en una realización más preferida, se identifica que el sujeto responde al tratamiento de la cicatrización alterada de heridas en la piel en caso de que el valor de proliferación de células de fibroblastos medido en la etapa i) y el valor de la formación de matriz derivada de fibroblastos por células de fibroblastos medido en la etapa ii) esté al menos 20% por encima de un valor de control establecido en ausencia de los SEGRM de (2), y, opcionalmente, en caso de que el valor de la cantidad del al menos un marcador de citoquina IL-1 en el líquido sobrenadante de células de fibroblastos obtenidas en la etapa i) está por debajo de un valor de control establecido en ausencia del al menos un modulador selectivo del receptor de glucocorticoides (SEGRM), o sal farmacéuticamente aceptable del mismo de (2).

Por consiguiente, en una realización aún más preferida, se identifica que el sujeto responde al tratamiento de la cicatrización alterada de heridas en la piel en caso de que el valor de proliferación de células de fibroblastos medido en la etapa i) y/o el valor de la formación de matriz derivada fibroblastos por células de fibroblastos medido en la etapa ii) esté al menos 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 100% o más por encima de un valor de control establecido en ausencia de los SEGRM de (2), y, opcionalmente, en caso de que el valor de la cantidad del al menos un marcador de citoquina IL-1 en el líquido sobrenadante de células de fibroblastos obtenido en la etapa i) esté por debajo de un valor de control establecido en ausencia del al menos un modulador selectivo del receptor de glucocorticoides (SEGRM), o sal farmacéuticamente aceptable del mismo de (2).

Por consiguiente, en una realización aún más preferida, se identifica que el sujeto responde al tratamiento de la cicatrización alterada de heridas en la piel en caso de que el valor de proliferación de células de fibroblastos medido en la etapa i) y/o el valor de la formación de matriz derivada fibroblastos por células de fibroblastos medido en la etapa ii) esté al menos 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 100% o más por encima de un valor de control establecido en ausencia de los SEGRM de (2), y, opcionalmente, en caso de que el valor de la cantidad del al menos un marcador de citoquina IL-1 en el líquido sobrenadante de células de fibroblastos obtenido en la etapa i) esté al menos 5%, 10%, 15%, 20%, 30%, 40%, 50% o más por debajo de un valor de control establecido en ausencia del al menos un modulador selectivo del receptor de glucocorticoides (SEGRM), o sal farmacéuticamente aceptable del mismo de (2).

El(los) valor(es) de control puede(n) determinarse en paralelo o puede(n) establecerse de forma independiente, preferiblemente en paralelo.

Además, la precisión y fiabilidad se pueden aumentar más incluyendo uno o más ensayos adicionales que determinan marcadores de macrófagos M1 y M2 y/o marcadores de citoquinas IL1alfa, IL1beta y/o TNFalfa en cocultivo de macrófagos/fibroblastos en el contexto de exudado de herida, o biopelícula de herida, obtenido del sujeto respectivo. Estos marcadores M1 y M2 pueden ser proteínas marcadoras de superficie celular, proteínas marcadoras en el líquido sobrenadante de macrófagos o ARNm marcadores en macrófagos.

Los macrófagos son fagocitos profesionales y células presentadoras de antígenos (APC) residentes en los tejidos, que se diferencian de los monocitos circulantes de la sangre periférica. Los expertos en la técnica clasifican los macrófagos activados de diferentes fenotipos en macrófagos M1 y macrófagos M2. Los macrófagos M1 son macrófagos activados que comprenden células efectoras inmunitarias con un fenotipo inflamatorio agudo. Estos son muy agresivos contra las bacterias y producen grandes cantidades de citoquinas. Los macrófagos M2 son alternativamente activados y antiinflamatorios.

Por un "marcador M2" se entiende una proteína marcadora que es específica de los macrófagos M2. Preferiblemente, el marcador es secretado por los macrófagos. Los marcadores M2 adecuados se conocen en la técnica y se seleccionan preferiblemente de CCL22 y CCL18. Los marcadores pueden determinarse mediante métodos conocidos en la técnica, p. ej. usando un ensayo inmunológico, incluso más preferiblemente usando un ensayo ELISA.

Por un "marcador M1" se entiende una proteína marcadora que es específica de los macrófagos M1. Preferiblemente, el marcador es secretado por los macrófagos. Los marcadores M1 adecuados se conocen en la técnica y se seleccionan preferiblemente de CXCL10 e IL-23p19. Los marcadores pueden determinarse mediante métodos conocidos en la técnica, p. ej. usando un ensayo inmunológico, incluso más preferiblemente usando un ensayo ELISA.

Por un "marcador de superficie celular M1" se entiende una proteína marcadora que se expresa en la superficie de macrófagos y que es específica para macrófagos M1. Los marcadores de superficie celular M1 adecuados se conocen en la técnica y se seleccionan preferiblemente de CD38, CD64 y CD197. La(s) cantidad(es) y/o distribución(es) de frecuencia de los marcadores de superficie celular pueden determinarse mediante un ensayo inmunológico y/o un ensayo de fluorescencia, en particular mediante análisis FACS, mediante el cual normalmente se determina una distribución de frecuencia.

Por un "marcador de superficie celular M2" se entiende una proteína marcadora que se expresa en la superficie de macrófagos y que es específica para macrófagos M2. Los marcadores de superficie celular M2 adecuados se conocen en la técnica y se seleccionan preferiblemente de receptor CD200 (CD200R), CD206 y CD209. La(s) cantidad(es) y/o distribución(es) de frecuencia de los marcadores de superficie celular pueden determinarse mediante un ensayo inmunológico y/o un ensayo de fluorescencia, en particular mediante análisis FACS, mediante el cual normalmente se determina una distribución de frecuencia.

Por "ARNm de marcador M2" se entiende un ARNm que es expresado por macrófagos y que es específico para macrófagos M2. Los ARNm de marcadores M2 adecuados se conocen en la técnica y se seleccionan preferiblemente de receptor CD200 (CD200R), CD206, CD209, CCL22 y CCL18. Los ARNm de marcadores pueden determinarse mediante métodos conocidos en la técnica. Preferiblemente, la cantidad puede determinarse poniendo en contacto una sonda que se une específicamente a un ARNm de marcador, en donde la sonda está opcionalmente marcada, con el ARN de macrófago en condiciones que conduzcan a la hibridación, y detectando la sonda hibridada. Por ejemplo, el ARNm puede transcribirse de forma inversa en ADNc antes de la detección.

Por "ARNm de marcador M1" se entiende un ARNm que es expresado por macrófagos y que es específico para macrófagos M1. Los ARNm de marcadores M1 adecuados se conocen en la técnica y se seleccionan preferiblemente de CD38, CD64, CD197, CXCL10 e IL-23p19. Preferiblemente, la cantidad puede determinarse poniendo en contacto una sonda que se une específicamente a un ARNm de marcador, en donde la sonda está opcionalmente marcada, con el ARN de macrófago en condiciones que conduzcan a la hibridación, y detectando la sonda hibridada. Por ejemplo, el ARNm puede transcribirse de forma inversa en ADNc antes de la detección.

La relación de marcadores M1/M2 es indicativa de un sujeto que responde, en combinación con uno o más ensayos celulares descritos anteriormente relacionados con la medición de la proliferación de células de fibroblastos, medición de formación de matriz derivada de fibroblastos (FDM) por células de fibroblastos y medición de la proliferación de células de queratinocitos. En particular, una relación elevada de marcadores M1/M2, marcadores de superficie celular M1/M2 o ARNm de marcadores M1/M2 es indicativo de un sujeto que no responde, mientras que una relación baja de marcadores M1/M2, marcadores de superficie celular M1/M2 o ARNm de marcadores M1/M2 es indicativa de un sujeto que responde.

Además, se encontró que las cantidades de las citoquinas proinflamatorias IL1alfa, IL1beta y TNF-alfa secretadas por macrófagos y/o fibroblastos en un cocultivo de macrófagos/fibroblastos eran particularmente predictivas para identificar heridas en la piel que cicatrizaban o heridas en la piel que no cicatrizaban, así como para controlar la cicatrización de heridas. En particular, se encontró que se secretaban mayores cantidades de estas citoquinas en presencia de WE de heridas que no cicatrizaban en comparación con WE de heridas que cicatrizaban. Las citoquinas IL1alfa, IL1beta y TNF-alfa son proteínas, preferiblemente proteínas humanas, que son bien conocidas por el experto en la técnica. IL1alfa (también conocida como Interleucina-1 α o IL-1 α), IL1beta (también conocida como Interleucina-1 β o IL-1 β) y TNF-alfa (también conocido como factor de necrosis tumoral α o TNF- α) pueden determinarse mediante métodos conocidos en la técnica, p. ej., usando un ensayo inmunológico, incluso más preferiblemente usando un ensayo ELISA, como se describe en los ejemplos, o determinando la expresión de ARNm de IL1alfa, IL1beta o TNF-alfa. Se sabe que IL1alfa, IL1beta y TNF-alfa son citoquinas proinflamatorias.

Por lo tanto, en una realización más preferida de la presente invención, además, se llevan a cabo la etapa iia) y/o una, dos, tres o cuatro de las siguientes etapas iib) a iie):

iia) medir la proliferación de células de queratinocitos en presencia de:

(1) una muestra de exudado de herida, o muestra de biopelícula de herida, obtenida de la herida en la piel de dicho sujeto, y

(2) al menos un modulador selectivo del receptor de glucocorticoides (SEGRM), o sal farmacéuticamente aceptable del mismo,

iib) medir la(s) cantidad(es) de uno o más marcadores M1 y uno o más marcadores M2 en el líquido sobrenadante de macrófagos incubados con

(1) una muestra de exudado de herida o muestra de biopelícula de herida obtenida de dicha herida en la piel, y

(2) al menos un modulador selectivo del receptor de glucocorticoides (SEGRM), o sal farmacéuticamente aceptable del mismo,

5 en donde los macrófagos están en cocultivo con fibroblastos, y

en donde el uno o más marcadores M1 se seleccionan de CXCL10 e IL-23p19, y el uno o más marcadores M2 se seleccionan de CCL22 y CCL18,

iiic) medir la(s) cantidad(es) y/o distribución(es) de frecuencia de uno o más marcadores de superficie celular M1 y uno o más marcadores de superficie celular M2 en macrófagos incubados con

10 (1) una muestra de exudado de herida o muestra de biopelícula de herida obtenida de dicha herida en la piel, y

(2) al menos un modulador selectivo del receptor de glucocorticoides (SEGRM), o sal farmacéuticamente aceptable del mismo,

en donde los macrófagos están en cocultivo con fibroblastos, y

15 en donde el uno o más marcadores de superficie celular M1 se seleccionan de CD38, CD64 y CD197, y en donde el uno o más marcadores de superficie celular M2 se seleccionan de receptor CD200, CD206 y CD209,

iiid) medir el(los) nivel(es) de expresión de uno o más ARNm de marcador M1 y uno o más ARNm de marcador M2 en macrófagos incubados con

20 (1) una muestra de exudado de herida o muestra de biopelícula de herida obtenida de dicha herida en la piel, y

(2) al menos un modulador selectivo del receptor de glucocorticoides (SEGRM), o sal farmacéuticamente aceptable del mismo,

en donde los macrófagos están en cocultivo con fibroblastos, y

25 en donde el uno o más ARNm de marcador M1 se seleccionan de CD38, CD64, CD197, CXCL10 e IL-23p19, y el uno o más ARNm de marcador M2 se seleccionan de receptor CD200 (CD200R), CD206, CD209, CCL22 y CCL18,

iiie) medir la(s) cantidad(es) de uno o más marcadores de citoquinas en el líquido sobrenadante de macrófagos incubados

30 (1) con una muestra de exudado de herida o muestra de biopelícula de herida obtenida de dicha herida en la piel, y

(2) al menos un modulador selectivo del receptor de glucocorticoides (SEGRM), o sal farmacéuticamente aceptable del mismo,

en donde los macrófagos están en cocultivo con fibroblastos, y

35 en donde el uno o más marcadores de citoquinas se seleccionan de IL-1alfa, IL-1beta y TNF-alfa, y

en donde se identifica que el sujeto responde al tratamiento con al menos un modulador selectivo del receptor de glucocorticoides (SEGRM), o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en caso de que el valor de proliferación de células de fibroblastos medido en la etapa i) y/o el valor de la formación de matriz derivada de fibroblastos por células de fibroblastos medida en la etapa ii) y/o el valor de la proliferación de células de queratinocitos en la etapa iiia) esté al menos 20% por encima de un valor de control establecido en ausencia del al menos un modulador selectivo del receptor de glucocorticoides (SEGRM), o sal farmacéuticamente aceptable del mismo de (2), y, opcionalmente, en caso de que el valor para la cantidad del al menos un marcador de citoquina IL-1 en el líquido sobrenadante de células de fibroblastos obtenido en la etapa i) esté por debajo de un valor de control establecido en ausencia del al menos un modulador selectivo del receptor de glucocorticoides (SEGRM), o sal farmacéuticamente aceptable del mismo de (2),

y/o en caso de que se aplique uno o más de los siguientes:

- la relación de la(s) cantidad(es) de uno o más marcadores M1 a la(s) cantidad(es) de uno o más marcadores M2 obtenidas en iiib) esté/estén por debajo de un valor de control establecido en ausencia del al menos un modulador selectivo del receptor de glucocorticoides (SEGRM), o sal farmacéuticamente aceptable del

mismo de (2),

- la relación de la(s) cantidad(es) y/o distribución(es) de frecuencia de uno o más marcadores de superficie celular M1 a la(s) cantidad(es) y/o distribución(es) de frecuencia de uno o más marcadores de superficie celular M2 obtenidas en iiic) esté/estén por debajo de un valor de control establecido en ausencia del al menos un modulador selectivo del receptor de glucocorticoides (SEGRM), o sal farmacéuticamente aceptable del mismo de (2), en particular en donde la relación se selecciona de una relación CD38/CD209, una relación CD197/CD209 y una relación CD197/CD206,

- la relación del(de los) nivele(s) de expresión de uno o más ARNm de marcador M1 al(a los) nivele(s) de expresión de uno o más ARNm de marcador M2 obtenidos en iid) esté/estén por debajo de un valor de control establecido en ausencia del al menos un modulador selectivo del receptor de glucocorticoides (SEGRM), o sal farmacéuticamente aceptable del mismo de (2),

- el valor obtenido en iiie) esté por debajo de un valor de control establecido en ausencia del al menos un modulador selectivo del receptor de glucocorticoides (SEGRM), o sal farmacéuticamente aceptable del mismo de (2)

Preferiblemente, se identifica que el sujeto responde al tratamiento con los SEGRM de (2), en caso de que el valor de proliferación de células de fibroblastos medido en la etapa i) y/o el valor de formación de matriz por células de fibroblastos medido en la etapa ii) y/o el valor de proliferación de células de queratinocitos en la etapa iiia) esté al menos 20% por encima de un valor de control establecido en ausencia del al menos un modulador selectivo del receptor de glucocorticoides (SEGRM), o sal farmacéuticamente aceptable del mismo de (2), y, opcionalmente, en caso de que el valor para la cantidad del al menos un marcador de citoquina IL-1 en el líquido sobrenadante de células de fibroblastos obtenido en la etapa i) esté por debajo, tal como al menos 5%, 10%, 15%, 20%, 30%, 40%, 50% o más por debajo, de un valor de control establecido en ausencia del al menos un modulador selectivo del receptor de glucocorticoides (SEGRM), o sal farmacéuticamente aceptable del mismo de (2),

y/o en caso de que se aplique lo siguiente:

- el valor obtenido en iiie) esté por debajo, tal como al menos 5%, 10%, 15%, 20%, 30%, 40%, 50% o más por debajo, de un valor de control establecido en ausencia del al menos un modulador selectivo del receptor de glucocorticoides (SEGRM), o sal farmacéuticamente aceptable del mismo de (2).

En una realización más preferida, el marcador de citoquina en iiie) se selecciona de IL-1alfa e IL-1beta, incluso más preferiblemente el marcador de citoquina en iiie) es IL-1beta.

Se encontró que las siguientes relaciones de marcador de superficie celular M1/marcador de superficie celular M2 también son predictivas de la capacidad de respuesta: una relación CD38/CD209, una relación CD197/CD209 o una relación CD197/CD206 por debajo de un valor de control establecido en ausencia de los SEGRM de (2) identifica a un paciente que responde al tratamiento con los SEGRM.

Por lo tanto, en otra realización preferida, la relación de cantidad(es) y/o distribución(es) de frecuencia se selecciona de una relación CD38/CD209, una relación CD197/CD209 y una relación CD197/CD206.

La distribución de frecuencia se puede determinar determinando el % de células que son positivas para un marcador dado dentro de una población, que es la lectura más comúnmente utilizada en el análisis FACS. Alternativamente, la cantidad puede determinarse determinando la cantidad de expresión en la superficie celular, como sustituto del número de moléculas marcadas en la superficie celular por célula individual cuando se usan agentes de unión marcados para los marcadores, medido, por ejemplo, mediante la intensidad media de fluorescencia.

En una realización preferida, medir la(s) cantidad(es) de uno o más marcadores M1 y uno o más marcadores M2 en el líquido sobrenadante de macrófagos incubados con una muestra de exudado de herida o muestra de biopelícula de herida obtenida de una herida en la piel incluye las siguientes etapas:

(i) cocultivar células de monocitos humanos primarios con (a) células de fibroblastos dérmicos humanos en cultivo celular 2D o (b) matrices derivadas de fibroblastos,

(ii) incubar las células hasta que se alcanza la diferenciación de macrófagos, opcionalmente en donde se usa CD163 como marcador de superficie celular de diferenciación de macrófagos,

(iii) poner en contacto las células con una muestra de exudado de herida, o muestra de biopelícula de herida, que está opcionalmente diluida, y los SEGRM de (2), y

(iv) determinar la cantidad de uno o más marcadores M1 y uno o más marcadores M2 en el líquido sobrenadante del cultivo celular,

preferiblemente en donde el uno o más marcadores M1 se seleccionan de CXCL10 e IL-23p19, y/o el uno o más marcadores M2 se seleccionan de CCL22 y CCL18, más preferiblemente en donde los marcadores se

determinan usando un ensayo inmunológico, incluso más preferiblemente usando un ensayo ELISA.

En una realización preferida de la presente invención, la muestra es una muestra de exudado de herida. En otra realización preferida, la muestra es una muestra de biopelícula de herida. En una realización más preferida, la muestra es una muestra de exudado de herida.

Por ejemplo, las células de monocitos humanos primarios se pueden cocultivar con células de fibroblastos dérmicos humanos en cultivo celular 2D, o con matrices derivadas de fibroblastos. Los métodos para generar matrices derivadas de fibroblastos se describen anteriormente, así como en los ejemplos. Posteriormente, las células se incuban hasta alcanzar la diferenciación de macrófagos. Por ejemplo, CD163 se puede utilizar como un marcador de superficie celular de diferenciación de macrófagos. Además, las células se ponen en contacto con una muestra de exudado de herida, o una muestra de biopelícula de herida, que está opcionalmente diluida, por ejemplo, pipeteando la muestra a las células, y los SEGRM de (2), y opcionalmente mezclando suavemente. Los compuestos se añaden después de que los macrófagos se hayan diferenciado; p. ej., después de 4 a 7 días. Además, las células se incuban, preferiblemente durante 1 hora a 100 horas. Posteriormente, se determina la cantidad de uno o más marcadores M1 y uno o más marcadores M2 en el líquido sobrenadante del cultivo celular. Normalmente, el líquido sobrenadante se recoge para dicho fin y los marcadores se determinan usando un ensayo adecuado, tal como un ensayo inmunológico. Por ejemplo, se puede utilizar un ELISA.

En otra realización preferida, medir la(s) cantidad(es) y/o la(s) distribución(es) de frecuencia de uno o más marcadores de superficie celular M1 y uno o más marcadores de superficie celular M2 en macrófagos incubados con una muestra de exudado de herida o muestra de biopelícula de herida obtenida de una herida en la piel incluye las siguientes etapas:

(i) cocultivar células de monocitos humanos primarios con (a) células de fibroblastos dérmicos humanos en cultivo celular 2D o (b) matrices derivadas de fibroblastos,

(ii) incubar las células hasta que se alcanza la diferenciación de macrófagos, opcionalmente en donde se usa CD163 como marcador de superficie celular de diferenciación de macrófagos,

(iii) poner en contacto las células con una muestra de exudado de herida, o muestra de biopelícula de herida, que está opcionalmente diluida, y los SEGRM de (2)

(iv) determinar la(s) cantidad(es) y/o distribución(es) de frecuencia de uno o más marcadores de superficie celular M1 y uno o más marcadores de superficie celular M2 en la superficie celular de macrófagos.

En una realización preferida de la presente invención, la muestra es una muestra de exudado de herida. En otra realización preferida, la muestra es una muestra de biopelícula de herida. En una realización más preferida, la muestra es una muestra de exudado de herida.

Por ejemplo, las células de monocitos humanos primarios se pueden cocultivar con células de fibroblastos dérmicos humanos en cultivo celular 2D, o con matrices derivadas de fibroblastos. Los métodos para generar matrices derivadas de fibroblastos se describen anteriormente, así como en los ejemplos. Posteriormente, las células se incuban hasta alcanzar la diferenciación de macrófagos. Por ejemplo, se puede utilizar CD163 como marcador de superficie celular de diferenciación de macrófagos. Además, las células se ponen en contacto con una muestra de exudado de herida, o muestra de biopelícula de herida, que está opcionalmente diluida, por ejemplo pipeteando la muestra a las células, y los SEGRM de (2), y opcionalmente mezclando suavemente. Los compuestos se añaden después de que los macrófagos se hayan diferenciado; p. ej., después de 4 a 7 días. Además, las células se incuban, preferiblemente durante 1 hora 100 horas. Posteriormente, se determina(n) la(s) cantidad(es) y/o distribución(es) de frecuencia de uno o más marcadores de superficie celular M1 y uno o más marcadores de superficie celular M2 en la superficie celular de macrófagos. Por ejemplo, las células se pueden recoger y someter a análisis FACS, seleccionando la población de monocitos/macrófagos. Se pueden utilizar medias geométricas de intensidades medias de fluorescencia para cuantificar la expresión de los marcadores de superficie.

Preferiblemente, el uno o más marcadores de superficie celular M1 se seleccionan de CD38, CD64 y CD197, y/o el uno o más marcadores de superficie celular M2 se seleccionan de receptor CD200 (CD200R), CD206 y CD209, más preferiblemente en donde la(s) cantidad(es) y/o la(s) distribución(es) de frecuencia de los marcadores de superficie celular se determinan por un ensayo inmunológico y/o un ensayo de fluorescencia, en particular por análisis FACS.

Se encontró que las siguientes relaciones de marcador de superficie celular M1/marcador de superficie celular M2 también son predictivas para determinar la capacidad de respuesta: una relación CD38/CD209, una relación CD197/CD209 y una relación CD197/CD206. Una relación CD38/CD209, una relación CD197/CD209 o una relación CD197/CD206 por debajo de un valor de control establecido en ausencia de los SEGRM de (2) identifica a un paciente que responde al tratamiento con los SEGRM.

Por lo tanto, en otra realización preferida, la relación de cantidad(es) y/o distribución(es) de frecuencia se selecciona de una relación CD38/CD209, una relación CD197/CD209 y una relación CD197/CD206.

Por consiguiente, en otra realización preferida, el uno o más marcadores de superficie celular M1 se seleccionan de CD38 y el uno o más marcadores de superficie celular M2 se seleccionan de CD209, o el uno o más marcadores de superficie celular M1 se seleccionan de CD197 y el uno o más marcadores de superficie celular M2 se seleccionan de CD209 y CD206.

En una realización preferida, la etapa (iv) comprende poner en contacto los macrófagos con agentes de unión, preferiblemente anticuerpos, que reconocen específicamente uno o más marcadores de superficie M1 y uno o más marcadores de superficie M2, en donde los agentes de unión están opcionalmente marcados, en particular marcados con un marcador fluorescente, y determinar la cantidad de moléculas de unión unidas a los macrófagos, en particular determinando la intensidad media de fluorescencia, determinando de este modo la(s) cantidad(es) de marcadores de superficie celular. Por ejemplo, pueden usarse anticuerpos que reconozcan específicamente los marcadores de superficie y que contengan un marcador fluorescente.

En otra realización preferida, la etapa (iv) comprende poner en contacto los macrófagos con agentes de unión, preferiblemente anticuerpos, que reconocen específicamente uno o más marcadores de superficie M1 y uno o más marcadores de superficie M2, en donde los agentes de unión están opcionalmente marcados, en particular marcados con un marcador fluorescente, y determinar los porcentajes de células que son positivas para uno o más marcadores de superficie M1 y uno o más marcadores de superficie M2, respectivamente, dentro de una población celular, en particular en donde se realiza el análisis FACS, determinando así la(s) distribución(es) de frecuencia de los marcadores de superficie celular. Por ejemplo, pueden usarse anticuerpos que se unen específicamente a los marcadores de superficie y que contienen un marcador fluorescente.

La determinación de proteínas como agentes de unión de una proteína marcadora se puede realizar usando cualquiera de varios métodos conocidos para identificar y obtener proteínas que interaccionan específicamente con proteínas o polipéptidos, por ejemplo, un sistema de detección de dos híbridos en levadura. Un agente de unión que reconoce específicamente un marcador tiene preferiblemente al menos una afinidad de 10^7 l/mol por su correspondiente molécula diana. El agente de unión que reconoce específicamente un marcador tiene preferiblemente una afinidad de 10^8 l/mol o incluso más preferiblemente de 10^9 l/mol por su molécula marcadora diana. Como apreciará el experto en la técnica, el término específico se usa para indicar que otras biomoléculas presentes en la muestra no se unen significativamente al agente de unión que reconoce específicamente el marcador. Preferiblemente, el nivel de unión a una biomolécula distinta de la molécula marcadora diana da como resultado una afinidad de unión que es solo de 10% o menos, más preferiblemente solo de 5% o menos de la afinidad por la molécula marcadora diana, respectivamente. Un agente de unión específico preferido cumplirá tanto los criterios mínimos anteriores de afinidad como de especificidad.

Un agente de unión que reconoce específicamente un marcador preferiblemente es un anticuerpo reactivo con el marcador. El término anticuerpo se refiere a un anticuerpo policlonal, un anticuerpo monoclonal, fragmentos de unión a antígeno de dichos anticuerpos, anticuerpos de cadena sencilla así como construcciones genéticas que comprenden el dominio de unión de un anticuerpo. El término "anticuerpos" incluye anticuerpos policlonales, anticuerpos monoclonales, fragmentos de los mismos tales como F(ab')₂ y fragmentos Fab, así como cualquier pareja de unión producida de forma natural o recombinante, que son moléculas que se unen específicamente a una proteína marcadora. Puede usarse cualquier fragmento de anticuerpo que mantenga los criterios anteriores de un agente de unión específico.

Para la medición, la muestra obtenida de un individuo se incuba con el agente de unión que reconoce específicamente el marcador en cuestión en condiciones apropiadas para la formación de un complejo marcador-agente de unión. No es necesario especificar dichas condiciones, ya que el experto en la técnica, sin ningún esfuerzo inventivo, puede identificar fácilmente dichas condiciones de incubación apropiadas. La cantidad de complejo marcador-agente de unión se mide y se usa en los métodos y usos de la invención. Como apreciará el experto en la técnica, existen numerosos métodos para medir la cantidad del complejo marcador-agente de unión específico, todos descritos en detalle en libros de texto relevantes (véase, p. ej., Tijssen P., véase antes, o Diamandis, EP y Christopoulos, TK (eds.), Immunoassay, Academic Press, Boston (1996)).

En particular, se usan anticuerpos monoclonales contra el(los) marcador(es) en un inmunoensayo cuantitativo (se determina la cantidad o concentración del(los) marcador(es)).

Por ejemplo, el marcador puede detectarse en un formato de ensayo de tipo sándwich. En dicho ensayo se usa un primer agente de unión específico para capturar el marcador en cuestión en un lado y se usa un segundo agente de unión específico (p. ej., un segundo anticuerpo), que está marcado para ser detectable directa o indirectamente, en el otro lado. El segundo agente de unión específico puede contener un resto indicador detectable o marcador tal como una enzima, colorante, radionúclido, grupo luminiscente, grupo fluorescente o biotina, o similares. Cualquier resto indicador o marcador podría usarse con los métodos descritos en el presente documento siempre que la señal del mismo esté directamente relacionada o sea proporcional a la cantidad de agente de unión que queda en el soporte después del lavado. La cantidad del segundo agente de unión que permanece unido al soporte sólido se determina luego usando un método apropiado para el resto indicador o marcador detectable específico. Para los grupos radiactivos, generalmente son apropiados el recuento de centelleo o los métodos autorradiográficos. Los conjugados anticuerpo-enzima se pueden preparar usando una variedad de técnicas de acoplamiento. Se pueden utilizar métodos espectroscópicos para detectar colorantes (incluidos, por

ejemplo, productos colorimétricos de reacciones enzimáticas), grupos luminiscentes y grupos fluorescentes. La biotina se puede detectar utilizando avidina o estreptavidina, acopladas a un grupo indicador diferente, comúnmente un grupo radiactivo o fluorescente o una enzima. Los grupos indicadores de enzimas generalmente pueden detectarse mediante la adición de sustrato, generalmente durante un período de tiempo específico, seguido de análisis espectroscópico, espectrofotométrico u otro de los productos de reacción. Se pueden utilizar patrones y adiciones de patrones para determinar el nivel de antígeno en una muestra, usando técnicas bien conocidas.

Los inmunoensayos para medir proteínas marcadoras de la invención incluyen, por ejemplo, ELISA, inmunoensayo enzimático (EIA) e inmunoensayo de electroquimioluminiscencia (ECLIA) para la determinación cuantitativa de una proteína marcadora descrita en el presente documento.

En otra realización preferida, medir el(los) nivel(es) de expresión de uno o más ARNm de marcador M1 y uno o más ARNm de marcador M2 en macrófagos incubados con una muestra de exudado de herida o una muestra de biopelícula de herida obtenida de una herida en la piel incluye las siguientes etapas:

(i) cocultivar células de monocitos humanos primarios con (a) células de fibroblastos dérmicos humanos en cultivo celular 2D o (b) matrices derivadas de fibroblastos,

(ii) incubar las células hasta que se alcanza la diferenciación de macrófagos, opcionalmente en donde CD163 se usa como un marcador de superficie celular de diferenciación de macrófagos,

(iii) poner en contacto las células con una muestra de exudado de herida, o una muestra de biopelícula de herida, que está opcionalmente diluida, y los SEGRM de (2), y

(iv) determinar el(los) nivel(es) de expresión de uno o más ARNm de marcador M1 y uno o más ARNm de marcador M2 en los macrófagos.

En una realización preferida de la presente invención, la muestra es una muestra de exudado de herida. En otra realización preferida, la muestra es una muestra de biopelícula de herida. En una realización más preferida, la muestra es una muestra de exudado de herida.

Preferiblemente, el uno o más ARNm de marcadores M1 se seleccionan de CD38, CD64, CD197, CXCL10 e IL-23p19, y/o el uno o más ARNm de marcadores M2 se seleccionan del receptor CD200 (CD200R), CD206, CD209, CCL22 y CCL18, además en donde el método comprende poner en contacto una sonda que se une específicamente a un ARNm de marcador, en donde la sonda está opcionalmente marcada, con el ARN de macrófago en condiciones que son favorables para la hibridación, y detectar la sonda hibridada.

Por ejemplo, las células de monocitos humanos primarios se pueden cocultivar con células de fibroblastos dérmicos humanos en cultivo celular 2D, o con matrices derivadas de fibroblastos. Los métodos para generar matrices derivadas de fibroblastos se describen anteriormente, así como en los ejemplos. Posteriormente, las células se incuban hasta alcanzar la diferenciación de macrófagos. Por ejemplo, se puede utilizar CD163 como marcador de superficie celular de diferenciación de macrófagos. Además, las células se ponen en contacto con una muestra de exudado de herida, o muestra de biopelícula de herida, que está opcionalmente diluida, por ejemplo pipeteando la muestra a las células, y los SEGRM de (2), y opcionalmente mezclando suavemente. Los compuestos se añaden después de que los macrófagos se hayan diferenciado; p. ej., después de 4 a 7 días. Además, las células se incuban, preferiblemente durante 1 hora 100 horas. Posteriormente, se determina el(los) nivel(es) de expresión de uno o más ARNm de marcadores M1 y uno o más ARNm de marcadores M2 en los macrófagos. Por ejemplo, las células se pueden recoger y se puede(n) determinar el(los) nivel(es) de expresión de ARNm usando sondas adecuadas. Por ejemplo, se puede determinar el nivel de expresión de un gen de mantenimiento tal como actina o GAPDH y se puede(n) determinar el(los) nivel(es) de expresión de los ARN de marcadores M1 o M2 como nivel de expresión respecto a un gen de mantenimiento.

En otra realización preferida, medir la(s) cantidad(es) de uno o más marcadores de citoquina seleccionados de IL-1alfa, IL-1beta y TNF-alfa en el líquido sobrenadante de macrófagos incubados con una muestra de exudado de herida o una muestra de biopelícula de herida obtenida de una herida en la piel incluye las siguientes etapas:

(i) cocultivar células de monocitos humanos primarios con (a) células de fibroblastos dérmicos humanos en cultivo celular 2D o (b) matrices derivadas de fibroblastos,

(ii) incubar las células hasta que se alcanza la diferenciación de macrófagos, opcionalmente en donde se usa CD163 como marcador de superficie celular de diferenciación de macrófagos,

(iii) poner en contacto las células con una muestra de exudado de herida o muestra de biopelícula de herida, que está opcionalmente diluida, y los SEGRM de (2), y

(iv) determinar la cantidad de uno o más marcadores de citoquinas seleccionados de IL-1alfa, IL-1beta y TNF-alfa en el líquido sobrenadante del cultivo celular,

preferiblemente en donde los marcadores de citoquinas se determinan usando un ensayo inmunológico,

más preferiblemente usando un ensayo ELISA.

En una realización preferida de la presente invención, la muestra es una muestra de exudado de herida. En otra realización preferida, la muestra es una muestra de biopelícula de herida. En una realización más preferida, la muestra es una muestra de exudado de herida.

Por ejemplo, las células de monocitos humanos primarios se pueden cocultivar con células de fibroblastos dérmicos humanos en cultivo celular 2D, o con matrices derivadas de fibroblastos. Los métodos para generar matrices derivadas de fibroblastos se describen anteriormente, así como en los ejemplos. Posteriormente, las células se incuban hasta alcanzar la diferenciación de macrófagos. Por ejemplo, se puede utilizar CD163 como un marcador de superficie celular de diferenciación de macrófagos. Además, las células se ponen en contacto con una muestra de exudado de herida o muestra de biopelícula de herida, que está opcionalmente diluida, y los SEGRM de (2), en donde el contacto se puede realizar, por ejemplo, pipeteando la muestra a las células y, opcionalmente, mezclando suavemente. Los compuestos se añaden después de que los macrófagos se hayan diferenciado; p. ej., después de 4 a 7 días. Además, las células se incuban, preferiblemente durante 1 hora a 100 horas. Posteriormente, se determina la cantidad de uno o más de IL-1alfa, IL-1beta y TNF-alfa en el líquido sobrenadante del cultivo celular. Normalmente, el líquido sobrenadante se recoge para dicho fin y se determinan los marcadores de citoquinas usando un ensayo adecuado, tal como un ensayo inmunológico. Por ejemplo, se puede utilizar un ELISA. En una realización preferida, la muestra es una muestra de exudado de herida.

Las cantidades de IL-1alfa, IL-1beta y TNF-alfa en el líquido sobrenadante de macrófagos son indicativas de un paciente que responde al tratamiento con el(los) compuesto(s) de (2). Por consiguiente, se identifica que un paciente responde al tratamiento con el(los) compuesto(s) de (2) en caso de que el valor obtenido para las cantidades de IL-1alfa, IL-1beta y TNF-alfa esté por debajo de un valor de control establecido en ausencia del(de los) compuesto(s) de (2).

Un SEGRM para uso terapéutico o preventivo, de prevención, o comprendido en un kit o kit de partes de la invención está preferiblemente en una composición farmacéutica. Las composiciones farmacéuticas contienen el(los) agente(s) activo(s) respectivo(s) y, opcionalmente, uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables y/o excipientes farmacéuticamente aceptables. El agente activo es un SEGRM o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

Un "vehículo farmacéuticamente aceptable" significa un vehículo o diluyente que no causa irritación significativa a un organismo y no anula la actividad biológica y las propiedades del agente activo administrado. El vehículo empleado puede ser, por ejemplo, un sólido, líquido o gas. Ejemplos de vehículos sólidos incluyen lactosa, terra alba, sacarosa, talco, gelatina, agar, pectina, goma arábiga, estearato de magnesio y ácido esteárico. Ejemplos de vehículos líquidos son jarabe de azúcar, aceite de cacahuete, aceite de oliva y agua. Ejemplos de vehículos gaseosos incluyen dióxido de carbono y nitrógeno.

Un "excipiente farmacéuticamente aceptable" significa una sustancia inerte añadida a una composición farmacéutica para facilitar más la administración de un compuesto. Ejemplos, sin limitación, de excipientes incluyen carbonato de calcio, fosfato de calcio, diversos azúcares y tipos de almidón, derivados de celulosa, gelatina, aceites vegetales y polietilenglicoles.

En una realización preferida de cualquiera de los aspectos anteriores de la invención, se formula un SEGRA para administración sistémica, preferiblemente oral o intravenosa, o se formula para administración local, en particular para administración tópica, mucosa, ocular, intradérmica o subcutánea. Por ejemplo, las formulaciones tópicas para la administración de mapracorat o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo se conocen en la técnica y se describen en detalle en el documento US 8,282,909. Además, el experto en la técnica conoce técnicas para proporcionar formulaciones adicionales para administración local, en particular para administración tópica, en mucosa, ocular, intradérmica o subcutánea. Por ejemplo, un SEGRA o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo puede formularse incorporándolo en un apósito o vendaje para heridas, o como gel, gel semisólido, crema, loción, pomada, pulverización, espuma, dispersión, bálsamo, formulación liposomal o en nanopartículas o para aplicación mediante microagujas.

Por lo tanto, en una realización preferida adicional más de la presente invención, el modulador selectivo del receptor de glucocorticoides (SEGRA), o sal farmacéuticamente aceptable del mismo,

(i) se formula para administración sistémica, preferiblemente oral o intravenosa, o

(ii) se formula para administración local, en particular para administración tópica, en mucosa, ocular, intradérmica o subcutánea.

En una realización más preferida de la presente invención, el SEGRA o la sal farmacéuticamente aceptable del mismo para el uso de la presente invención se formula para administración local, en particular para administración tópica, en mucosa, ocular, intradérmica o subcutánea.

Las formulaciones tópicas para la administración de mapracorat o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y SEGRM relacionados se conocen en la técnica y se describen en detalle en el documento US

8,282,909. Dichas formulaciones comprenden al menos un modulador selectivo del receptor de glucocorticoides (SEGRM) y a) alcohol oleílico, b) octanoato de cetearilo y c) un aceite vegetal. En una realización más preferida, el SEGRM es un SEGRM como se describe en el documento US 8,282,909, en particular mapracorat o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

5 Por lo tanto, en una realización preferida adicional más de la presente invención, el activador selectivo del receptor de glucocorticoides (SEGRA), o sal farmacéuticamente aceptable del mismo se formula para administración local, en donde dicha formulación farmacéutica comprende al menos un activador selectivo del receptor de glucocorticoides r (SEGRA) y a) alcohol oleílico, b) octanoato de cetearilo y c) un aceite vegetal.

10 En realizaciones más preferidas, la formulación farmacéutica comprende al menos un activador selectivo del receptor de glucocorticoides (SEGRA) y a) de 2 a 50% en peso de alcohol oleílico, b) de 2 a 50% en peso de octanoato de cetearilo y c) de 2 a 50% en peso de un aceite vegetal,

preferiblemente en donde:

el aceite vegetal es aceite de soja, aceite de oliva, aceite de sésamo, aceite de ricino o aceite de cacahuete, o

15 la formulación farmacéutica contiene además d) propilenglicol y e) glicerol, o

la formulación farmacéutica contiene de 3 a 15% (en peso) de alcohol oleílico, o

la formulación farmacéutica contiene de 2 a 15% (en peso) de octanoato de cetearilo

la formulación farmacéutica contiene, la cual contiene de 3 a 15% (en peso) de aceite vegetal, o

20 la formulación farmacéutica contiene además, contiene un triglicérido de cadena media, aceite mineral, ciclometicona, alcohol estearílico, hidroxitolueno butilado, hidroxiestearato de macroglicol, povidona, copolímero de ácido acrílico, hidroxietilcelulosa, ácido acrílico y/o trometamol, o

la formulación farmacéutica contiene además, contiene d) dióxido de silicio, o

la formulación farmacéutica contiene además d) estearato de aluminio,

la formulación farmacéutica contiene además d) propilenglicol, e) glicerol y f) propulsor,

25 la formulación farmacéutica contiene de 2 a 10% (en peso) de propulsor, o

el propulsor es un hidrocarburo o hidrofluoroalcano, o

la solubilidad de al menos un compuesto farmacéuticamente activo en agua es de 20 mg/l a 20°C o menos, o

30 la formulación farmacéutica contiene de 2 a 50% (en peso) de alcohol oleílico, de 3 a 20% (en peso) de octanoato de cetearilo y de 5 a 20% (en peso) de aceite vegetal, o

la formulación farmacéutica contiene, contiene de 3 a 15% (en peso) de alcohol oleílico, de 2 a 15% (en peso) de octanoato de cetearilo, de 3 a 15% (en peso) de aceite vegetal, o

35 la formulación farmacéutica contiene además, contiene un triglicérido de cadena media, aceite mineral, ciclometicona, alcohol estearílico, hidroxitolueno butilado, hidroxiestearato de macroglicol, povidona, copolímero de ácido acrílico, hidroxietilcelulosa, ácido acrílico y/o trometamol, o

la formulación farmacéutica contiene además, contiene dióxido de silicio y estearato de aluminio, o

la formulación farmacéutica contiene de 6 a 8% (en peso) de propulsor, preferiblemente en donde el propulsor es propano, butano, isobuteno, heptafluoropropano, tetrafluoroetano, éter dimetílico o una mezcla de los mismos.

40 En otras realizaciones preferidas, la formulación farmacéutica comprende al menos un modulador selectivo del receptor de glucocorticoides (SEGRM) y a) de 2 a 50% en peso de alcohol oleílico, b) de 2 a 50% en peso de octanoato de cetearilo y c) de 2 a 50% en peso de un aceite vegetal, más preferiblemente en donde:

la formulación farmacéutica contiene además d) propilenglicol y e) glicerol, o

45 la formulación farmacéutica contiene de 3 a 15% (en peso) de alcohol oleílico, de 2 a 15% (en peso) de octanoato de cetearilo, de 3 a 15% (en peso) de aceite vegetal, o

la formulación farmacéutica contiene además un triglicérido de cadena media, aceite mineral, ciclometicona, alcohol estearílico, hidroxitolueno butilado, hidroxiestearato de macroglicol, povidona, copolímero de ácido acrílico, hidroxietilcelulosa, ácido acrílico y/o trometamol, o

la formulación farmacéutica contiene además dióxido de silicio o estearato de aluminio, o

la formulación farmacéutica contiene además d) propilenglicol, e) glicerol y f) un propulsor, o

5 la formulación farmacéutica contiene de 2 a 10% (en peso) de propulsor, más preferiblemente en donde el propulsor es un hidrocarburo o un hidrofluoroalcano, o en donde el propulsor es propano, butano, isobuteno, heptafluoropropano, tetrafluoroetano, éter dimetílico o una mezcla de los mismos, o, que contiene de 6 a 8% (en peso) de propulsor y en donde el propulsor es propano, butano, isobuteno, heptafluoropropano, tetrafluoroetano, éter dimetílico o una mezcla de los mismos, o

la solubilidad de al menos un compuesto farmacéuticamente activo en agua es de 20 mg/l a 20°C o menos,

10 o la formulación farmacéutica contiene además (R)-1,1,1-trifluoro-4-(5-fluoro-2,3-dihidrobenzofuran-7-il)-4-metil-2-[-(2-metil-5-quinolil)amino]metil}pentan-2-ol, o la formulación farmacéutica contiene de 2 a 50% (en peso) de alcohol oleílico, de 3 a 20% (en peso) de octanoato de cetearilo y de 5 a 20% (en peso) de aceite vegetal.

Las formulaciones de crema, espuma y oleogel como se describen explícitamente en el documento US 8,282,909 son formulaciones típicas particularmente preferidas.

Ejemplos (oleogel)	1	2	3	4	5	Intervalos
Compuesto activo	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,001-0,5
Alcohol oleílico	30,00	20,00	20,00	15,00	15,00	10,00-40,00
Triglicéridos de cadena media	-	20,00	20,00	15,00	20,00	10,00-30,00
Aceite mineral	5,00	20,00	10,00	20,00	20,00	2,00-25,00
Octanoato de cetearilo	30,00	10,00	20,00	20,00	20,00	5,00-40,00
Aceite de soja	20,00	20,00	20,00	20,00	15,00	10,00-30,00
(aceites vegetales)						
Ciclometicona	-	5,90	4,90	6,90	3,90	1,00-10,00
Dióxido de silicio	5,00	4,00	5,00	-	-	3,00-10,00
Estearato de aluminio	-	-	-	3,00	6,00	2,00-8,00

Ejemplos (crema)	1	2	3	4	5	Intervalos
Compuesto activo	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,001-0,50
Alcohol oleílico	10,00	10,00	10,00	5,00	10,00	3,00-15,00
Triglicéridos de cadena media	-	-	-	5,00	-	2,00-10,00
Aceite mineral	8,00	4,00	4,00	4,00	4,00	2,00-10,00
Octanoato de cetearilo	3,00	10,00	10,00	10,00	10,00	2,00-15,00
Aceite de soja (aceites vegetales)	6,00	4,00	4,00	4,00	4,00	3,00-15,00
Ciclometicona	3,50	2,50	2,50	2,50	2,50	1,00-5,00
Alcohol estearílico	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	1,00-5,00
Hidroxitolueno butilado	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,01-0,20
Glicerol (85%)	8,00	8,00	8,00	8,00	8,00	4,00-10,00
Hidroxiestearato de macrogolglycerol	1,50	1,50	1,50	1,50	1,50	0,50-5,00
Povidona 90	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00	2,00-8,00
Propilenglicol	8,00	8,00	8,00	8,00	8,00	4,00-10,00
Copolímero de ácido acrílico	0,30	-	0,30	0,30	-	0,10-1,00

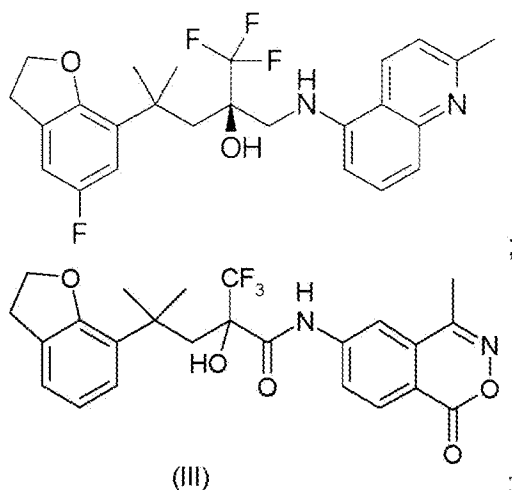
Hidroxietilcelulosa	-	1,50	-	-	-	0,10-1,00
Ácido acrílico	-	-	-	-	1,00	0,50-2,00
Solución de trometamol al 10%	a pH 7	a pH 7	a pH 7	a pH 7	a pH 7	a pH 7,0
Agua purificada	[hasta 100,0]	[hasta 100,0]	[hasta 100,0]	[hasta 100,0]	[hasta 100,0]	[hasta 100,0]
Ejemplos (espuma)	1	2	3	4	5	Intervalos
Compuesto activo	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,001-0,50
Alcohol oleílico	10,00	5,00	3,00	10,00	4,00	2,00-15,00
Triglicéridos de cadena media	-	5,00	10,0	-	6,00	2,00-15,00
Aceite mineral	4,00	-	-	-	-	2,00-6,00
Octanoato de cetearilo	3,00	5,00	3,00	5,00	4,00	2,00-10,00
Aceite de soja (aceites vegetales)	3,00	5,00	2,00	-	5,00	2,00-10,00
Alcohol estearílico	2,00	-	-	-	1,00	0,50-5,00
Alcohol cetoestearílico	-	1,50	1,50	1,50	1,00	0,50-5,00
Estearato de glicerilo	-	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50-2,00
Glicerol (85%)	8,00	-	4,00	8,00	-	2,00-10,00
Hidroxiestearato de macrogolglicerol	1,50	-	-	-	1,50	0,50-5,00
Estearato de macrogol-400	-	2,50	2,00	2,50	1,00	0,50-5,00
Polisorbato 80	-	1,00	1,50	1,00	1,00	0,50-3,00
Povidona 90	2,00	-	-	-	-	0,00-3,00
Propilenglicol	8,00	8,00	8,00	10,00	4,00	2,00-10,00
Metilcelulosa	0,10	0,10	0,10	0,15	0,10	0,05-1,00
Goma xantana	0,30	0,20	0,10	0,20	0,30	0,05-2,00

Continuación de la tabla anterior:

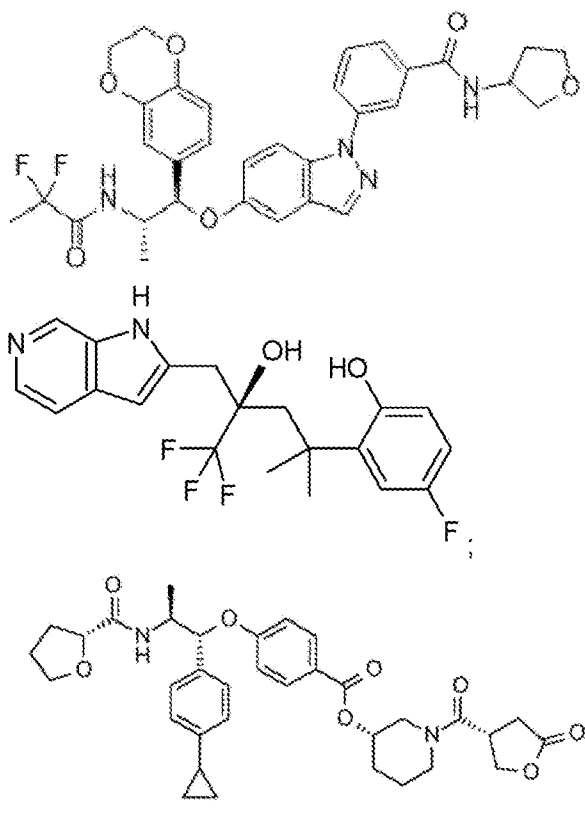
Ejemplos (espuma)	1	2	3	4	5	Intervalos
Trometamol 10%	a pH 7	a pH 7	a pH 7	a pH 7	a pH 7	a pH 7,0
Agua purificada	[hasta 100,0]	[hasta 100,0]	[hasta 100,0]	[hasta 100,0]	[hasta 100,0]	[hasta 100,0]
Propulsor	2,0-10,0 para todos los ejemplos					

5 En otra realización, la presente invención se refiere a un método *in vitro* para identificar que un sujeto que padece cicatrización alterada de heridas en la piel responde al tratamiento con un activador del receptor de glucocorticoides (SEGRA), que es un agonista del receptor de glucocorticoides (GR), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo,

10 en donde el SEGRA, que es un agonista del receptor de glucocorticoides (GR), se selecciona de los siguientes compuestos:



(R)-2-(4-((5-(Etilsulfonil)-1H-pirrólo[2,3-c]piridin-2-il)metil)-5,5,5-trifluoro-4-hidroxi-2-metilpentan-2-il)-5-fluorobenzamida;



5 4-[(1R,2S)-1-(4-ciclopropilfenil)-2-[[2-(R)-tetrahidrofuran-2-carbonil]amino]propoxi]benzoato de [(3S)-1-[(3R)-5-oxotetrahidrofuran-3-carbonil]-3-piperidilo];

5-[(1S,2S)-1-(2-cloro-3-fluoro-4-metoxifenil)-3,3,3-trifluoro-2-hidroxi-2-(metoximetil)propil]amino}-7-fluoro-1H-quinolin-2-ona;

10 5-[(1S,2S)-1-(2-cloro-3-fluoro-4-metoxifenil)-3,3,3-trifluoro-2-hidroxi-2-(hidroximetil)propil]amino}-7-fluoro-1H-quinolin-2-ona, y

5-[(1S,2S)-1-(2-cloro-3-fluoro-4-metoxifenil)-3,3,3-trifluoro-2-hidroxi-2-(hidroximetil)propil]amino}-7-fluoro-1H-quinolin-2-ona,

o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos,

comprendiendo el método llevar a cabo las etapas i) y/o ii):

i) medir la proliferación de células de fibroblastos, y opcionalmente la cantidad de al menos un marcador de citoquina IL-1 en el líquido sobrenadante de células de fibroblastos, en presencia de:

(1) una muestra de exudado de herida o muestra de biopelícula de herida obtenida de la herida en la piel de dicho sujeto, y

5 (2) al menos un activador selectivo del receptor de glucocorticoides (SEGRA) que es un agonista del receptor de glucocorticoides (GR), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;

ii) medir la formación de matriz derivada de fibroblastos por células de fibroblastos en presencia de:

(1) una muestra de exudado de herida o muestra de biopelícula de herida obtenida de la herida en la piel de dicho sujeto, y

10 (2) al menos un activador selectivo del receptor de glucocorticoides (SEGRA) que es un agonista del receptor de glucocorticoides (GR), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;

en donde se identifica que el sujeto responde al tratamiento con un activador selectivo del receptor de glucocorticoides (SEGRA) que es un agonista del receptor de glucocorticoides (GR), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo,

15 en caso de que el valor de proliferación de células de fibroblastos medido en la etapa i) y/o el valor de la formación de matriz derivada de fibroblastos por células de fibroblastos medido en la etapa ii) esté al menos 20% por encima de un valor de control establecido en ausencia del al menos un activador selectivo del receptor de glucocorticoides (SEGRA) que es un agonista del receptor de glucocorticoides (GR), o sal farmacéuticamente aceptable del mismo de (2) y, opcionalmente, en caso de que el valor de la cantidad del al menos un marcador de citoquina IL-1 en el líquido sobrenadante de células de fibroblastos obtenido en la etapa i) esté por debajo de un valor de control establecido en ausencia del al menos un activador selectivo del receptor de glucocorticoides (SEGRA, que es un agonista del receptor de glucocorticoides (GR), o sal farmacéuticamente aceptable del mismo de (2).

25 En una realización preferida del método *in vitro* de la invención, además, se lleva a cabo la etapa iii) y/o una, dos, tres o cuatro de las siguientes etapas iiib) a iiie):

iiia) medir la proliferación de células de queratinocitos en presencia de:

(1) una muestra de exudado de herida, o muestra de biopelícula de herida, obtenida de la herida en la piel de dicho sujeto, y

30 (2) al menos un activador selectivo del receptor de glucocorticoides (SEGRA) que es un agonista del receptor de glucocorticoides (GR), o sal farmacéuticamente aceptable del mismo,

iiib) medir la(s) cantidad(es) de uno o más marcadores M1 y uno o más marcadores M2 en el líquido sobrenadante de macrófagos incubados con

(1) una muestra de exudado de herida o muestra de biopelícula de herida obtenida de dicha herida en la piel, y

35 (2) al menos un activador selectivo del receptor de glucocorticoides r (SEGRA) que es un agonista del receptor de glucocorticoides (GR), o sal farmacéuticamente aceptable del mismo,

en donde los macrófagos están en cocultivo con fibroblastos, y

en donde el uno o más marcadores M1 se seleccionan de CXCL10 e IL-23p19, y el uno o más marcadores M2 se seleccionan de CCL22 y CCL18,

40 iiic) medir la(s) cantidad(es) y/o distribución(es) de frecuencia de uno o más marcadores de superficie celular M1 y uno o más marcadores de superficie celular M2 en macrófagos incubados con

(1) una muestra de exudado de herida o muestra de biopelícula de herida obtenida de dicha herida en la piel, y

45 (2) al menos un activador selectivo del receptor de glucocorticoides (SEGRA) que es un agonista del receptor de glucocorticoides (GR), o sal farmacéuticamente aceptable del mismo,

en donde los macrófagos están en cocultivo con fibroblastos, y

en donde el uno o más marcadores de superficie celular M1 se seleccionan de CD38, CD64 y CD197, y en donde el uno o más marcadores de superficie celular M2 se seleccionan de receptor CD200, CD206 y CD209,

50 iiid) medir el(los) nivel(es) de expresión de uno o más ARNm de marcadores M1 y uno o más ARNm de marcadores M2 en macrófagos incubados con

(1) una muestra de exudado de herida o muestra de biopelícula de herida obtenida de dicha herida en la piel, y

(2) al menos un activador selectivo del receptor de glucocorticoides (SEGRA) que es un agonista del receptor de glucocorticoides (GR), o sal farmacéuticamente aceptable del mismo,

5 en donde los macrófagos están en cocultivo con fibroblastos, y

en donde el uno o más ARNm de marcadores M1 se seleccionan de CD38, CD64, CD197, CXCL10 e IL-23p19, y el uno o más ARNm de marcadores M2 se seleccionan de receptor CD200 (CD200R), CD206, CD209, CCL22 y CCL18,

10 iiiie) medir la(s) cantidad(es) de uno o más marcadores de citoquinas seleccionados de IL-1alfa, IL-1beta y TNF-alfa en el líquido sobrenadante de macrófagos incubados

(1) con una muestra de exudado de herida o muestra de biopelícula de herida obtenida de dicha herida en la piel, y

(2) al menos un activador selectivo del receptor de glucocorticoides (SEGRA) que es un agonista del receptor de glucocorticoides (GR), o sal farmacéuticamente aceptable del mismo,

15 y

en donde se identifica que el sujeto responde al tratamiento con un modulador selectivo del receptor de glucocorticoides (SEGRM) que es un agonista del receptor de glucocorticoides (GR), o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en caso de que el valor de proliferación de células de fibroblastos medido en la etapa i) y/o el valor de formación de matriz derivada de fibroblastos por células de fibroblastos medido en la etapa ii) y/o el valor de proliferación de células de queratinocitos en la etapa iii) esté al menos 20% por encima de un valor de control establecido en ausencia del al menos un activador selectivo del receptor de glucocorticoides (SEGRA) que es un agonista del receptor de glucocorticoides (GR), o sal farmacéuticamente aceptable del mismo de (2), y/o en caso de que se aplique uno o más de los siguientes:

25 - la relación de la(s) cantidad(es) de uno o más marcadores M1 a la(s) cantidad(es) de uno o más marcadores M2 obtenidas en iiib) esté/estén por debajo de un valor de control establecido en ausencia del al menos un activador selectivo del receptor de glucocorticoides (SEGRA), que es un agonista del receptor de glucocorticoides (GR), o sal farmacéuticamente aceptable del mismo de (2),

30 - la relación de la(s) cantidad(es) y/o distribución(es) de frecuencia de uno o más marcadores de superficie celular M1 a la(s) cantidad(es) y/o distribución(es) de frecuencia de uno o más marcadores de superficie celular M2 obtenidas en iiic) esté/estén por debajo de un valor de control establecido en ausencia del al menos un activador selectivo del receptor de glucocorticoides (SEGRA) que es un agonista del receptor de glucocorticoides (GR), o sal farmacéuticamente aceptable del mismo de (2), en particular en donde la relación se selecciona de una relación CD38/CD209, una relación CD197/CD209 y una relación CD197/CD206,

35 - la relación del(de los) nivel(es) de expresión de uno o más ARNm de marcadores M1 al(a los) nivel(es) de expresión de uno o más ARNm de marcadores M2 obtenidos en iiid) esté/estén por debajo de un valor de control establecido en ausencia del al menos un activador selectivo del receptor de glucocorticoides (SEGRA) que es un agonista del receptor de glucocorticoides (GR), o sal farmacéuticamente aceptable del mismo de (2),

40 - el valor obtenido en iiie) esté por debajo de un valor de control establecido en ausencia del al menos un activador selectivo del receptor de glucocorticoides (SEGRA) que es un agonista del receptor de glucocorticoides (GR), o sal farmacéuticamente aceptable del mismo de (2).

En una realización preferida, el método *in vitro* de la invención se caracteriza por las características de las realizaciones preferidas del activador selectivo del receptor de glucocorticoides (SEGRA), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para el uso de la invención. Se describe, pero no forma parte de la invención, un kit o kit de partes que comprende:

45 (a) una composición farmacéutica que comprende al menos un modulador selectivo del receptor de glucocorticoides (SEGRM), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y

(b) un kit de diagnóstico que comprende uno o más de los siguientes:

i) células de fibroblastos,

50 ii) un soporte que tiene una pluralidad de zonas o cavidades definidas, en donde un subconjunto de zonas o cavidades están (i) recubiertas con un agente potenciador de la adhesión, y/o (ii) están llenas con matriz derivada de fibroblastos (FDM),

iii) un suplemento promotor de matriz.

En una descripción, el kit o kit de partes de la invención se caracteriza por las características del modulador selectivo del receptor de glucocorticoides (SEGRM), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para usar en el presente documento.

5 Por consiguiente, se entiende que las realizaciones descritas en el contexto de otras realizaciones también se aplican a esta realización de la descripción.

Las composiciones farmacéuticas, células y suplemento promotor de matriz se pueden proporcionar en recipientes, viales, jeringas, ampollas o similares.

El kit de diagnóstico de b) opcionalmente comprende además uno o más de los siguientes:

iv) células de queratinocitos,

10 v) un suplemento promotor de la matriz,

vi) células de monocitos, y

vii) agentes de unión, preferiblemente anticuerpos, que reconocen específicamente uno o más marcadores M1 y uno o más marcadores M2, y/o agentes de unión, preferiblemente anticuerpos, que reconocen específicamente uno o más marcadores de superficie M1 y uno o más marcadores de superficie M2 y/o sondas
15 que reconocen específicamente uno o más ARNm de marcadores M1 y uno o más ARNm de marcadores M2

viii) agentes de unión, preferiblemente anticuerpos, que reconocen específicamente uno o más, uno o más marcadores de citoquinas seleccionados de IL-1alfa, IL-1beta y TNF-alfa, o sondas de hibridación, que se hibridan específicamente con ARNm de marcadores de citoquinas seleccionados de IL-1alfa, IL-1beta y TNF-alfa.

20 El kit de diagnóstico de b) puede comprender además viii) agentes de unión, preferiblemente anticuerpos, que reconocen específicamente uno o más marcadores de citoquinas seleccionados de IL-1alfa, IL-1beta y TNF-alfa, o sondas de hibridación, que se hibridan específicamente con ARNm de marcadores de citoquinas seleccionados de IL-1alfa, IL-1beta y TNF-alfa.

Los marcadores de citoquinas pueden seleccionarse de IL-1alfa, IL-1beta, en particular IL-1beta.

25 El(los) marcador(es) M1 y M2, marcador(es) de superficie celular y/o ARNm de marcador(es) adecuados se describen anteriormente.

Los agentes de unión, preferiblemente anticuerpos de vii) anteriores pueden ser agentes de unión, preferiblemente anticuerpos, que reconocen específicamente uno o más marcadores de superficie celular M1 y uno o más marcadores de superficie celular M2, en donde el uno o más marcadores de superficie celular M1 se seleccionan de CD38, CD64 y CD197, y en donde el uno o más marcadores de superficie celular M2 se seleccionan
30 de receptor CD200, CD206 y CD209, y, opcionalmente:

agentes de unión, preferiblemente anticuerpos, que reconocen específicamente uno o más marcadores M1 y uno o más marcadores M2, y/o sondas que reconocen específicamente uno o más ARNm de marcadores M1 y uno o más ARNm de marcadores M2, en donde el uno o más marcadores M1 se seleccionan de CXCL10 e IL-23p19, y el uno o más marcadores M2 se seleccionan de CCL22 y CCL18, y en donde el uno o más ARNm de
35 marcadores M1 se seleccionan de CD38, CD64, CD197, CXCL10 e IL-23p19, y el uno o más ARNm de marcadores M2 se seleccionan de receptor CD200 (CD200R), CD206, CD209, CCL22 y CCL18.

El uno o más marcadores de superficie celular M1 se pueden seleccionar de CD38 y el uno o más marcadores de superficie celular M2 se seleccionan de CD209, o el uno o más marcadores de superficie celular M1 se seleccionan de CD197 y el uno o más marcadores de superficie celular M2 se seleccionan de CD209 y
40 CD206.

Las células de queratinocitos se pueden seleccionar de células HaCaT y células de queratinocitos primarios, en particular células de queratinocitos primarios humanos.

Las células de queratinocitos utilizadas pueden ser células HaCaT.

45 La matriz derivada de fibroblastos (FDM) se puede obtener (i) sembrando células de fibroblastos dérmicos humanos primarios sobre un soporte, que está recubierto previamente con un agente potenciador de la adhesión, tal como gelatina, (ii) cultivando las células sobre el soporte, preferiblemente hasta que se alcance la confluencia y (iii) poniendo en contacto las células con un suplemento promotor de matriz, tal como vitamina C o una sal fisiológicamente aceptable de la misma, o ácido 2-fosfo-L-ascórbico o una sal fisiológicamente aceptable del mismo, o una combinación de EGF e insulina. La FDM puede formarse *in situ* o puede transferirse al soporte
50 después de la formación.

Además, se pueden utilizar soportes, tales como chips, que permitan realizar los métodos *in vitro* de la invención o las etapas del método de los usos médicos de la invención. Por ejemplo, se puede proporcionar un chip que permita identificar sujetos que responden a un tratamiento de la cicatrización alterada de heridas con un

SEGRM o la sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

Por lo tanto, se describe, pero que no forma parte de la invención, un kit o un kit de partes, en donde el soporte ii) del kit de diagnóstico (b) es adecuado para realizar un método de la presente invención o etapas del método de los usos médicos de la invención, en donde el soporte comprende una pluralidad de zonas o cavidades definidas y en donde:

a) un subconjunto de zonas o cavidades está recubierto con un agente potenciador de la adhesión,
b) un subconjunto de zonas o cavidades está recubierto con un agente potenciador de la adhesión y/o se llenan con una matriz derivada de fibroblastos (FDM),

c) un subconjunto de zonas o cavidades no están tratadas,

d) opcionalmente:

d1) un subconjunto de zonas o cavidades contiene agentes de unión, preferiblemente anticuerpos, que reconocen específicamente uno o más marcadores M1, y

d2) un subconjunto de zonas o cavidades contiene agentes de unión, preferiblemente anticuerpos, que reconocen específicamente uno o más, uno o más marcadores M2,

e) opcionalmente:

e1) un subconjunto de zonas o cavidades contiene agentes de unión, preferiblemente anticuerpos, que reconocen específicamente uno o más marcadores de superficie M1, y

e2) un subconjunto de zonas o cavidades contiene agentes de unión, preferiblemente anticuerpos, que reconocen específicamente uno o más marcadores de superficie M2,

f) opcionalmente:

f1) un subconjunto de zonas o cavidades contiene sondas que reconocen específicamente uno o más ARNm de marcadores M1, y

f2) un subconjunto de zonas o cavidades contiene sondas que reconocen específicamente uno o más ARNm de marcadores M2, y

g) opcionalmente: un subconjunto de zonas o cavidades contiene agentes de unión, preferiblemente anticuerpos, que reconocen específicamente uno o más marcadores de citoquinas seleccionados de IL-1alfa, IL-1beta y TNF-alfa.

en donde los subconjuntos a) a g) no se superponen,

preferiblemente

(x) al menos algunas de las zonas o cavidades de acuerdo con a) contienen además células de fibroblastos, y/o

(xi) al menos algunas de las zonas o cavidades de acuerdo con (x) o b) contienen además células de monocitos, y/o

(xii) al menos algunas de las zonas o cavidades de acuerdo con c) contienen además células de fibroblastos, y/o

(xiii) al menos algunas de las zonas o cavidades de acuerdo con c) contienen además células de queratinocitos,

en donde las zonas o cavidades de acuerdo con (xii) y (xiii) no se superponen.

El uno o más marcadores M1 se pueden seleccionar de CXCL10 e IL-23p19, y el uno o más marcadores M2 se pueden seleccionar de CCL22 y CCL18.

El uno o más marcadores de superficie celular M1 se pueden seleccionar de CD38, CD64 y CD197, y en donde el uno o más marcadores de superficie celular M2 se seleccionan de receptor CD200, CD206 y CD209.

El uno o más ARNm de marcadores M1 se pueden seleccionar de CD38, CD64, CD197, CXCL10 e IL-23p19, y el uno o más ARNm de marcadores M2 se pueden seleccionar de receptor CD200 (CD200R), CD206, CD209, CCL22 y CCL18.

El soporte del kit o kit de partes puede ser un chip, matriz, tal como una micromatriz o una nanomatriz, una placa, tal como una placa multipocillo, o un plato, y/o el soporte es un soporte de plástico.

El soporte sólido del kit o kit de partes puede contener una pluralidad de cavidades definidas. Las cavidades permiten llenar el espacio y, por lo tanto, permiten un cultivo celular 3D. Por ejemplo, se puede usar una placa multipocillo o una micromatriz o nanomatriz que comprende una pluralidad de cavidades definidas. En los ejemplos se utilizó con éxito una placa multipocillo. El soporte sólido puede no interferir sustancialmente con la viabilidad de las células y/o es adecuado para cultivar células, por ejemplo el soporte puede ser un soporte plástico. Para el cultivo celular 3D, el soporte sólido puede contener una pluralidad de pocillos definidos. Por ejemplo, se pueden usar placas multipocillo. En una realización preferida, el soporte comprende 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 o más zonas o cavidades definidas, tales como 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o de 10 a 10^5 , 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o de 10 a 10^4 , 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o de 10 a 10^3 , o 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o de 10 a 10^2 zonas o cavidades definidas.

"Cantidad eficaz" se refiere a la cantidad suficiente para inducir un resultado biológico, farmacológico o terapéutico deseado en un sujeto. Se puede emplear una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto en forma de un ion híbrido o como una sal farmacéuticamente aceptable. Una cantidad terapéuticamente eficaz significa una cantidad suficiente del compuesto para tratar o prevenir la cicatrización alterada de heridas en la piel con una relación beneficio/riesgo razonable aplicable a cualquier tratamiento médico. Se entenderá, sin embargo, que el uso diario total de los compuestos y composiciones de la presente invención lo decidirá el médico tratante basado en el buen criterio médico. El nivel de dosis terapéuticamente eficaz específico para cualquier paciente en particular dependerá de una variedad de factores que incluyen el trastorno que se está tratando y la gravedad del trastorno; actividad del compuesto específico empleado; la composición específica empleada, la edad, el peso corporal, estado de salud general, sexo y dieta del paciente; el momento de administración, vía de administración y velocidad de excreción del compuesto específico empleado; la duración del tratamiento; fármacos utilizados en combinación o coincidentes con el compuesto específico empleado; y factores similares bien conocidos en la técnica médica. Por ejemplo, está dentro de los conocimientos de la técnica comenzar con dosis del compuesto a niveles inferiores a los requeridos para lograr el efecto terapéutico deseado y aumentar gradualmente la dosis hasta que se logre el efecto deseado.

Leyendas de las figuras

Figura 1: muestra el perfil del compuesto SEGRM activo BI-653048 en comparación con su análogo inactivo BI-3047 en el ensayo de proliferación de fibroblastos dérmicos humanos (2D) con o sin exudado de herida de los pacientes 1 - 3 (1A - 1C). La proliferación de fibroblastos en medio en ausencia de WE se muestra en 1D. Círculos negros: concentraciones escalonadas de BI-653048; triángulos blancos: concentraciones escalonadas de BI-3047. El compuesto activo revirtió la inhibición de la proliferación de fibroblastos inducida por el exudado de herida (WE), mientras que el análogo inactivo no tenía efecto.

Figura 2: muestra los efectos del compuesto SEGRM activo BI-653048 en comparación con su análogo inactivo BI-3047 en presencia de WE-1 en la proliferación de fibroblastos (2A), así como la secreción de IL-1 β en el líquido sobrenadante (2B). Círculos negros: concentraciones escalonadas de BI-653048; triángulos blancos: concentraciones escalonadas de BI-3047. El compuesto activo revirtió de forma dependiente de la dosis la inhibición de la proliferación de fibroblastos inducida por el exudado de herida (WE) e inhibió la secreción de IL-1 β en las mismas concentraciones. El análogo inactivo no tenía efecto en la proliferación y mucho menos efecto en la secreción de IL-1 β .

Figura 3: muestra los efectos del compuesto SEGRM activo BI-653048 en comparación con su análogo inactivo BI-3047 en presencia de WE-2 en la expresión de ARNm para colágenos 1 y 3 en el ensayo de proliferación de fibroblastos. Símbolos negros (3A y 3B): incubación de 72 horas realizada en presencia de WE-2; símbolos blancos (3C y 3D): incubación de 72 horas realizada en medio en ausencia de WE. Ambos compuestos se usaron a 1 μ M. El compuesto activo mejoró la expresión de ARNm de colágeno 1 y colágeno 3 en presencia de WE, pero no en medio.

Figura 4: muestra el efecto de concentraciones escalonadas de SEGRM BI-653048, tanto en presencia como en ausencia del antagonista del receptor de glucocorticoides mifepristona (concentración 1 μ M) en cultivo de fibroblastos 3D con respecto a la formación de matriz derivada de fibroblastos con WE-1. Los efectos promotores de matriz de BI-653048 pueden anularse mediante la adición de mifepristona, lo que indica que estos efectos son mediados por el receptor de glucocorticoides.

Figura 5: muestra los efectos de los compuestos SEGRM mapracorat y BI-53048 en presencia de WE-4 en la proliferación de fibroblastos. Círculos negros: concentraciones escalonadas de BI-53048; Cuadrados negros: concentraciones escalonadas de mapracorat. Ambos compuestos revirtieron de forma dependiente de la dosis la inhibición de la proliferación de fibroblastos inducida por el exudado de herida (WE), aunque en diferentes concentraciones.

Figura 6: muestra los efectos de concentraciones escalonadas de mapracorat en presencia de WE-1 sobre la expresión de ARNm de colágeno 1 en el ensayo de proliferación de fibroblastos. Símbolos negros (6A): incubación de 72 horas realizada en presencia de WE-1; símbolos blancos (6B): incubación de 72 horas realizada en medio en ausencia de WE. Mapracorat mejoró la expresión de ARNm de colágeno 1 de forma dependiente de la dosis en presencia de WE, pero no en medio.

Figura 7: muestra los efectos de concentraciones escalonadas de mapracorat en presencia de WE-1 en

la expresión de ARNm de colágeno 3 en el ensayo de proliferación de fibroblastos. Símbolos negros (7A): incubación de 72 horas realizada en presencia de WE-1; símbolos blancos (7B): incubación de 72 horas realizada en medio en ausencia de WE. Mapracorat inhibió de forma dependiente de la dosis la expresión de ARNm del colágeno 3 en presencia de WE, pero no en medio.

5 Figura 8: muestra los efectos de concentraciones escalonadas de mapracorat en presencia de WE-1 en la expresión de los ARNm para IL-1 β en el ensayo de proliferación de fibroblastos. Símbolos negros (8A): incubación de 72 horas realizada en presencia de WE-1; símbolos blancos (8B): incubación de 72 horas realizada en medio en ausencia de WE. Mapracorat inhibió de forma dependiente de la dosis la expresión de ARNm de IL-1 β en presencia de WE. No hubo inducción de IL-1 β en medio.

10 Figura 9: muestra los efectos de los compuestos SEGRM ZK216348 y HY14234 en presencia de WE-1 en la proliferación de fibroblastos (9A), así como la secreción de IL-1 β en el líquido sobrenadante (9B). Círculos negros: concentraciones escalonadas de HY14234; triángulos negros: concentraciones escalonadas de ZK216348. Todos los compuestos ensayados condujeron a una reversión parcial dependiente de la dosis de la inhibición de la proliferación de fibroblastos inducida por el exudado de herida (WE) e inhibieron la secreción de IL-1 β en las mismas concentraciones. La eficacia de ZK216348 no era tan alta como la de HY14234.

15 Figura 10: muestra los efectos de los compuestos SEGRM ZK216348 y HY14234 en presencia de WE-2 en la proliferación de fibroblastos (10A), así como la secreción de IL-1 β en el líquido sobrenadante (10B). Círculos negros: concentraciones escalonadas de HY14234; triángulos negros: concentraciones escalonadas de ZK216348. Todos los compuestos ensayados revirtieron de forma dependiente de la dosis la inhibición de la proliferación de fibroblastos inducida por el exudado de herida (WE), mientras que en el contexto de WE-2, la inhibición de la secreción de IL-1 β era insignificante.

20 Figura 11: muestra los efectos de los compuestos SEGRM ZK216348 y HY14234 en presencia de WE-3 en la proliferación de fibroblastos (11A), así como la secreción de IL-1 β en el líquido sobrenadante (11B). Círculos negros: concentraciones escalonadas de HY14234; triángulos negros: concentraciones escalonadas de ZK216348. Todos los compuestos ensayados revirtieron de forma dependiente de la dosis la inhibición de la proliferación de fibroblastos inducida por el exudado de la herida (WE) e inhibieron la secreción de IL-1 β en las mismas concentraciones. La eficacia de ZK216348 no fue tan alta como la de HY14234.

25 Figura 12: muestra el efecto de una pluralidad de SEGRM en cultivo de fibroblastos 3D con WE del paciente n.º 92. AZD7594 era el más activo de los SEGRM ensayados en cultivo 3D, seguido de mapracorat y BI653048. Esto está en línea con sus potencias para la activación del receptor de glucocorticoides (valores de EC₅₀ de 0,9 nM, 1,9 nM y 55 nM, respectivamente). El compuesto inactivo BI3047 no indujo la formación de matriz. Rombos negros: AZD7594; círculos negros: mapracorat; cuadrados negros: HY14234; triángulos negros: BI653048; triángulos blancos: BI3047; x: ZK216348.

30 Figura 13: muestra el efecto de mapracorat en un modelo de cerdo de cicatrización retardada de heridas. Se indujeron heridas durante 5 días en el lomo de cerdos usando exudados de heridas crónicas humanas WE-01 y WE-02 o suero humano normal en presencia del agonista de TLR7/8 R848 como inductor de inflamación (Figuras 13A - C) o suero humano solo como control (Figura 13D). El tratamiento con compuesto comenzó el día 6 y continuó hasta el día 10. La puntuación total de la herida (aparición de la herida, tamaño, contenido, pus, costras, eritema, anchura del eritema, hinchazón, necrosis) se determinó diariamente hasta el día 12.

35 Mapracorat (MAPRA) 10 mM y 1 mM redujo la puntuación de la herida de los días 6 a 12 con WE-01 (Figura 13A), WE-02 (Figura 13B) y R848 (Figura 13C) como inductores de la cicatrización retardada de la herida. Mapracorat no tenía ningún efecto negativo sobre la cicatrización de las heridas de control en presencia de suero humano (Figura 13D).

40 Aunque el efecto general de mapracorat era similar en ambos cerdos, el grado de reducción de la puntuación de la herida difería dependiendo del cerdo individual y del estímulo (WE y/o R848) utilizado. El cerdo n.º 2 respondió mejor que el cerdo n.º 1, y el efecto de mejora del mapracorat fue mejor para WE-02 que para WE-01. En una realización preferida, se puede realizar un enfoque de medicina personalizada para pacientes individuales, llevando a cabo métodos descritos en el presente documento, que incluyen ensayos previos de los exudados de los pacientes frente a fármacos específicos, como se describió anteriormente.

45 Figura 14: muestra la translocación del receptor de glucocorticoides desde el citoplasma (C) de los fibroblastos al núcleo (N) como una medida de actividad. Las células se incubaron con concentraciones escalonadas del compuesto y la localización del receptor de glucocorticoides intracelular se determinó mediante inmunofluorescencia indirecta, utilizando un anticuerpo dirigido contra el receptor.

50 Tanto mapracorat como el BI653048 activo muestran translocación nuclear en concentraciones bajas (1-10 nM), mientras que BI3047, el estereoisómero inactivo de BI653048, es inactivo hasta 100 nM. Clobetasol como control positivo también muestra tinción nuclear.

55 Figura 15: la tabla muestra los efectos de mapracorat 1 μ M en la proliferación de fibroblastos en presencia de un gran número de exudados de heridas diferentes de heridas crónicas en la piel que no cicatrizan de pacientes

humanos. El nivel de proliferación en presencia del respectivo WE se fijó en 100% y sirvió de base para el cálculo del efecto de mapracorat. Todos los valores >120% (media del control de WE + 2 SD) se consideran promotores del crecimiento. En una realización preferida de la presente invención, se preseleccionan pacientes usando métodos de la presente invención que tienen más probabilidades de responder eficazmente a la terapia de forma personalizada, como se describió anteriormente.

Figura 16: muestra la inhibición de la secreción de IL-8 inducida por LPS en células U937 (A) y de la secreción espontánea de IL-8 en monocitos humanos (B) en respuesta al SEGRM mapracorat activo (círculos negros), HY14234 (triángulos negros) y BI653048 (cuadrados negros), el compuesto inactivo BI3047 (cuadrados blancos) y, como comparador, el glucocorticoide dexametasona (rombos negros). El SEGRM activo inhibió la secreción de IL-8 tanto inducida por LPS como espontánea en U937 y monocitos humanos primarios, respectivamente, mientras que el estereoisómero inactivo mostró incluso secreción de IL-8 inducida en las concentraciones más altas. El corticosteroide de comparación, la dexametasona, inhibió la IL-8 de manera similar al SEGRM, confirmando así las propiedades antiinflamatorias de estos compuestos.

Ejemplos

Ejemplo 1: Ensayos usados en la invención

Abreviaturas

Abreviatura	Descripción
DMSO	Dimetilsulfóxido
FACS	Separación de células activadas por fluorescencia.
FCS	Suero de ternero fetal
FDM	Matrices derivadas de fibroblastos
HeCaT	Línea celular de queratinocitos humanos
HBSS	Solución salina equilibrada de Hank
HDF	Fibroblastos dérmicos humanos
HGF	Factor de crecimiento de hepatocitos
M-CSF	Factor estimulador de colonias de macrófagos
PBS	Solución salina tamponada con fosfato
RPMI	Medio del Roswell Park Memorial Institute
SRB	Sulforrodamina B
TGFbeta	Factor de crecimiento transformante beta (TGF- β)
WE	Exudado de herida

Los ensayos descritos en los Ejemplos 1.1 y 1.2 representan modelos predictivos para la cicatrización de heridas en la piel. La mayoría de los exudados de heridas (WE) que no cicatrizan obtenidos de una variedad de pacientes inhiben la proliferación de fibroblastos humanos primarios (HDF) en el ensayo como se describe en el Ejemplo 1.1 y también inhiben la formación de matrices derivadas de fibroblastos (FDM) en 3D, como se describe en el Ejemplo 1.2.

Ejemplo 1.1: Ensayo de proliferación de fibroblastos: medición de la proliferación de células de fibroblastos y la secreción de IL-1 β en presencia de una muestra de exudado de herida obtenida de una herida en la piel, en particular heridas en la piel humanas crónicas.

Los fibroblastos dérmicos humanos (HDF) primarios se adquirieron de CELLnTEC, Berna. Se cultivaron de forma rutinaria en medio Eagle modificado por Dulbecco (DMEM) que contenía FCS al 10%, glutamina 2 mM y penicilina 100 U/ml / estreptomycin 100 μ g/ml. Se compraron medios, antibióticos y glutamina de Lonza. Las células se utilizaron en los pases 5-15. Las células se tripsinizaron y se sembraron 2500 células/pocillo en 30 μ l en los pocillos interiores de placas de 384 pocillos en ausencia o presencia de concentraciones escalonadas del compuesto con o sin diferentes diluciones de WE esterilizado por filtración en medio. Para las muestras de control, se añadieron 30 μ l de medio en lugar de estímulos específicos. Los pocillos exteriores se cargaron con agua estéril. Las células se incubaron durante 72 horas a 37°C.

Al final del período de incubación, se separaron los líquidos sobrenadantes para la determinación de IL-1 β , y las células se fijaron con paraformaldehído al 4% (Morphisto) durante 15 minutos a temperatura ambiente y

se lavaron 3 veces con PBS. Se fijó una placa de control después de la adherencia de las células durante la noche (día 1) para determinar el número de células inicial.

Se determinó la proteína celular total como una medida del número de células tiñendo las células fijadas con sulforodamina B (SRB, Sigma). Se añadió a los pocillos una solución de SRB al 0,4% en ácido acético al 1% durante 30 minutos. Luego se lavaron los pocillos con ácido acético al 1% hasta que la solución de lavado permaneció incolora. Después de secado, el colorante se eluyó con Tris-HCl 10 mM, pH 8,5, y se midió la absorbancia a 550 o 492 nm para densidades celulares más bajas y más altas, respectivamente. La absorbancia promedio de la muestra que representa el número de células iniciales del día 1 se restó de los valores de absorbancia de las células tratadas con WE.

Los niveles de IL-1 β se determinaron con un kit ELISA comercial. La cantidad de IL-1 β contenida en el exudado de herida añadido a las células se restó de la IL- β total en los líquidos sobrenadantes con el fin de determinar la citoquina secretada por las células.

Todos los experimentos se llevaron a cabo por triplicado para cada muestra y concentración, y las medias $\pm$ desviación estándar (SD) se utilizaron para la evaluación del experimento. Los resultados se expresan como porcentaje de los valores de control para células no estimuladas.

La tabla en la Figura 15 muestra los efectos de mapracorat 1 μ M en la proliferación de fibroblastos en presencia de un número alto de diferentes exudados de heridas, de heridas en la piel crónicas que no cicatrizan de pacientes humanos. El nivel de proliferación en presencia del respectivo WE se fijó en 100%, y formó la base para el cálculo del efecto de mapracorat. Todos los valores >120% (media del WE de control + 2 SD) se consideran promotores del crecimiento.

Se muestran resultados adicionales en la Tabla 1 a continuación:

Tabla 1

	WE	AZD1594
WE-04	100	1139
WE-05	100	203
WE-37	100	171
WE-03	100	161
WE-02	100	196
WE-77	100	128

La tabla muestra los efectos de AZD7594 1 μ M en la proliferación de fibroblastos en presencia de una pluralidad de exudados de heridas diferentes. El nivel de proliferación en presencia del respectivo WE se fijó en 100% y formó la base para el cálculo del efecto de AZD7594, que se da en % de proliferación de los respectivos controles de WE. Todos los valores >120% (media del WE de control + 2 SD) se consideran promotores del crecimiento. La eficacia de AZD7594 era comparable al efecto de mapracorat (véase, Figura 15).

Ejemplo 1.2: Medición de la formación de matriz derivada de fibroblastos (FDM) por células de fibroblastos: medición de la formación de matriz derivada de fibroblastos por células de fibroblastos en presencia de una muestra de exudado de herida obtenida de una herida en la piel, en particular herida en la piel humana crónica

Se sembraron células de fibroblastos dérmicos humanos (HDF) a 1250 células/pocillo el día -3 en placas de cultivo de tejidos de 384 pocillos, que se habían recubierto previamente durante 1 hora a 37°C con solución de gelatina al 0,2% (Sigma). Cuando las células alcanzaron la confluencia (= día 0), se añadió un suplemento promotor de matriz (vitamina C: sal trisódica del ácido 2-fosfo-L-ascórbico, 100 μ g/ml; Sigma) junto con muestras de ensayo que contenían TGF- β 1 o concentraciones escalonadas de compuestos +/- WE como se describe para el ensayo de proliferación de HDF. Después de 4 días, el medio se reemplazó por medio nuevo que contenía vitamina C y estímulo, así como compuesto, manteniendo las condiciones iniciadas el día 0. Se incluyó TGF- β 1 como control positivo para promover la formación de FDM. Después de un tiempo total de incubación de 7 a 8 días, se midió la producción de FDM en cultivos fijados mediante tinción con SRB y se evaluó como se describe anteriormente. En algunos casos, el experimento se detuvo y se evaluó ya el día 4.

Los resultados experimentales se muestran, por ejemplo, en la Figura 12. La Figura 12 muestra el efecto de una pluralidad de SEGRM en cultivo de fibroblastos 3D con WE del paciente n.º 92. AZD7594 era el más activo de los SEGRM ensayados en cultivo 3D, seguido de mapracorat y BI653048. Esto está en consonancia con sus

potencias para la activación del receptor de glucocorticoides (valores de EC₅₀ de 0,9 nM, 1,9 nM y 55 nM, respectivamente). El BI3047 inactivo, que no es un SEGRM, no indujo la formación de matriz.

Ejemplo 1.3: Ensayo de proliferación de queratinocitos: medición de la proliferación de células de queratinocitos en presencia de una muestra de exudado de herida obtenida de una herida en la piel, en particular de una herida en la piel humana crónica.

La línea celular de queratinocitos HaCaT se cultivó de forma rutinaria en DMEM que contenía FCS al 10%, glutamina 2 mM y penicilina 100 U/ml/estreptomicina 100 µg/ml. El ensayo de proliferación se llevó a cabo como se describe para las células HDF. Los queratinocitos humanos primarios se cultivaron en medio KBM (Lonza) que contenía calcio 0,06 mM y suplementado con factores de crecimiento (Lonza) sobre plástico recubierto con colágeno de cola de rata (40 µg/ml; Gibco) o gelatina (0,2%; Sigma). No se utilizaron antibióticos. El ensayo de proliferación se llevó a cabo como se describe para las células HDF.

Ejemplo 1.4: Ensayo de estimulación de macrófagos humanos primarios: medición de la producción de citoquinas

Se diferenciaron macrófagos humanos primarios a partir de monocitos, que se habían aislado de células mononucleares de sangre periférica (PBMC). Se aislaron PBMC de capas leucocitarias obtenidas de la Cruz Roja de Viena, utilizando LymphoPrep (Technoclone). Se diluyeron 30 ml de concentrado leucocitario 1:2 con PBS, se puso una subcapa con cuidado de 15 ml de Lymphoprep en un tubo Falcon de 50 ml y se centrifugaron durante 25 minutos a 1800 rpm a 21°C. La interfase se transfirió cuidadosamente a un tubo Falcon nuevo y se llenó hasta 50 ml con PBS helado. Después de otra etapa de centrifugación (10 minutos, 1200 rpm, 4°C), el sedimento celular se lavó 3 veces con PBS, se resuspendió en medio RPMI que contenía FCS al 20% y DMSO al 10% y se congeló en nitrógeno líquido. Los monocitos se generaron a partir de partes alícuotas congeladas usando selección positiva con el Kit CD14 Beads (Miltenyi) en un autoMACS-Sorter (Miltenyi) según las instrucciones del fabricante.

Para el cultivo y la diferenciación en macrófagos, se sembraron monocitos a $3-5 \times 10^6$ monocitos/pocillo en placas de 6 pocillos (Nunc) y se incubaron con M-CSF 20 ng/ml (R&D Systems) en RPMI suplementado con FCS al 10%, glutamina 2 mM y penicilina 100 U/ml / estreptomicina 100 µg/ml en un volumen total de 5 ml por pocillo. Después de 2 días, se separaron 2 ml del líquido sobrenadante y se reemplazaron por 2,5 ml/pocillo de medio nuevo que contenía M-CSF 20 ng/ml. Al tercer día, el examen microscópico puso de manifiesto la diferenciación en células adherentes, frecuentemente alargadas.

Los macrófagos se recogieron y se volvieron a sembrar en 200 µl o 50 µl de medio exento de suero en placas de 96 pocillos o 384 pocillos, respectivamente, combinando células con concentraciones escalonadas de compuestos de ensayo en ausencia o presencia de diversas diluciones de WE esterilizados por filtración.

Una combinación de LPS 100 ng/ml (Sigma) e IFN-γ 50 ng/ml (PeproTech) sirvió como control positivo para la inducción de la secreción de citoquinas. Para las muestras de control negativo, se añadió medio en lugar de estímulos específicos.

Después de 24 horas, los líquidos sobrenadantes se transfirieron a placas nuevas y se congelaron a -20°C para futuros análisis de citoquinas (IL-1α, IL-1β, TNF-α). Las concentraciones de citoquinas del WE de entrada se restaron de los niveles del líquido sobrenadante para calcular la estimulación de citoquinas inducida por WE.

Ejemplo 1.5: Cocultivos de monocitos humanos-fibroblastos dérmicos como modelos *in vitro* que reflejan el comportamiento de los macrófagos en la piel humana: medición de (a) la(s) cantidad(es) de uno o más marcadores M1 y uno o más marcadores M2 en el líquido sobrenadante de macrófagos incubados con una muestra de exudado de herida obtenida de una herida en la piel, en donde los macrófagos están en cocultivo con fibroblastos, y (b) medición de la(s) cantidad(es) y/o distribución(es) de frecuencia de uno o más marcadores de superficie celular M1 y uno o más marcadores de superficie celular M2 en macrófagos incubados con una muestra de exudado de herida obtenida de una herida en la piel, en donde los macrófagos están en cocultivo con fibroblastos, (c) medición del(de los) nivel(es) de expresión de uno o más ARNm de marcadores M1 y uno o más ARNm de marcadores M2 en macrófagos incubados con una muestra de exudado de herida obtenida de una herida en la piel, en donde los macrófagos están en cocultivo con fibroblastos y (d) la(s) cantidad(es) de uno o más marcadores de citoquina seleccionados de IL-1alfa, IL-1beta y TNF-alfa en el líquido sobrenadante de macrófagos incubados con una muestra de exudado de herida obtenida de una herida en la piel, en donde los macrófagos están en cocultivo con fibroblastos

Se incubaron monocitos CD14⁺, aislados de PBMC de donantes sanos mediante separación con perlas magnéticas, solos o en presencia de fibroblastos dérmicos humanos primarios (CellNTec) o matrices derivadas de fibroblastos (FDM). La FDM se había generado a partir de fibroblastos dérmicos humanos primarios mediante una incubación de 3 semanas con los suplementos de crecimiento vitamina C o insulina y EGF (vitamina C: sal trisódica del ácido 2-fosfo-L-ascórbico, 100 µg/ml; EGF humano, 5 ng/ml; insulina humana, 5 µg/ml). Alternativamente, también se pueden utilizar cultivos en monocapa de fibroblastos. Después de 4 días a una semana para permitir la diferenciación de macrófagos en presencia o ausencia de M-CSF (25 ng/ml), los cultivos se estimularon durante la noche con concentraciones escalonadas de compuestos de ensayo en ausencia o presencia de diversas

diluciones de WE esterilizado por filtración. El IFN- γ (50 ng/ml), LPS (100 ng/ml) e IL-4 (25 ng/ml) o combinaciones de los mismos sirvieron como controles para la inducción de macrófagos M1 y M2. Para las muestras de control negativo, se añadió medio en lugar de estímulos específicos. Se añadieron WE con y sin compuestos al medio de cultivo para estimulación durante la noche en diluciones que variaban de 1:25 a 1:100.

5 Los líquidos sobrenadantes se recogieron y se congelaron para la determinación de citoquinas mediante ELISA, y las células se recogieron y se sometieron a análisis FACS, seleccionando la población de monocitos. Se utilizaron medias geométricas o intensidades medias de fluorescencia (MFI) para cuantificar la expresión del marcador de superficie.

10 Hay 2 posibilidades de evaluación: a) el % de células positivas para un marcador determinado dentro de una población, que es la lectura más comúnmente utilizada en el análisis FACS, o b) la cantidad de expresión en la superficie celular (como sustituto del número de moléculas marcadas en la superficie celular por célula individual), medida por la intensidad media de fluorescencia.

Los niveles de ARNm específicos se determinan como relaciones en comparación con un gen de mantenimiento; los valores obtenidos son "expresión respecto al gen de mantenimiento".

15 Se utilizaron las siguientes lecturas:

FACS: CD38, CD64 y CD197 para macrófagos M1, receptor CD200 (CD200R), CD206 y CD209 para macrófagos M2, CD163 como un marcador de diferenciación de macrófagos. Se calcularon las relaciones de expresión de marcadores de superficie celular M1/M2.

20 ELISA: CXCL10 e IL-23p19 para macrófagos M1 y CCL22 y CCL18 como marcadores de macrófagos M2, IL-1 α , IL-1 β y TNF- α como marcadores proinflamatorios indicativos de un fenotipo M1.

ARNm: CD38, CD64 CD38, CD64 y CD197 para macrófagos M1, receptor CD200 (CD200R), CD206 y CD209 para macrófagos M2, CD163 como marcador de diferenciación de macrófagos.

Ejemplo 1.6: Determinación de CCL18

25 CCL18 en WE y en líquidos sobrenadantes de macrófagos en placas F96 Maxisorp Nunc Immuno (Nunc, n.º 439454) usando el kit ELISA hCCL18/PARC DuoSet de R&D Systems (n.º DY394) según las instrucciones del fabricante. La reacción enzimática y la medición se realizaron como se describe para IL-1 α .

Ejemplo 1.7: Análisis de marcadores de superficie de macrófagos por citometría de flujo

30 Las células se recogieron y se resuspendieron en tampón FACS (PBS que contiene FCS al 2%). La unión de anticuerpos no específicos se evitó mediante la incubación con solución de bloqueo de FCR Trustain humano (Biolegend, n.º 422302) en hielo durante 10 minutos. Se utilizaron los siguientes anticuerpos conjugados con fluorocromo de eBioscience (ahora ThermoFisher Scientific) para detectar marcadores de superficie específicos mediante tinción en hielo durante 30 minutos: CD38-PerCPeFluor710 (n.º 46-0388-42), CD197-APC (n.º 17-1979-42), CD206-AF488 (n.º 53-2069-42), CD209-PerCP Cy5.5 (n.º 45-2099-42). Se utilizó la tinción conjunta con CD45 eFluor (n.º 506 69-0459-42) para distinguir los macrófagos de los fibroblastos humanos primarios cuando se
35 analizaron de los cocultivos. Después de lavar las células con tampón FACS, se fijaron con paraformaldehído al 1% en PBS y se almacenaron a 4°C en la oscuridad hasta que se adquirieron los datos en un citómetro de flujo Gallios de Beckman Coulter y se analizaron con el software de análisis Kaluza 1.3.

Ejemplo 1.8: Análisis de la expresión de ARNm en cultivos de fibroblastos

40 Se sembraron células en placas de 24 pocillos y se incubaron con compuestos en presencia o ausencia de exudados de la herida durante 72 horas. El ARN total se aisló utilizando el kit RNeasy Mini (QIAGEN n.º 74106) según el protocolo del fabricante. La integridad y concentración del ARN para cada muestra se confirmaron y midieron con el fluorómetro Qubit. Luego, cada muestra de ARN se diluyó a 2 ng/ μ l en agua doblemente destilada exenta de nucleasas.

45 Se transcribieron de forma inversa 20 ng de ARN total en ADNc y se sometieron inmediatamente a amplificación por PCR utilizando el sistema de RT-PCR cuantitativa de una sola etapa SuperScript III Platinum con ROX (Invitrogen n.º 11745). Las amplificaciones por qRT-PCR se realizaron en reacciones de 20 μ l que contenían 9 μ l de mezcla de reacción 2X con ROX, 0,4 μ l de mezcla SuperScript III RT/Platinum Taq y 1 μ l de cebador (final: 900 nM, ensayo de expresión genética Taqman, Applied Biosystems).

50 El programa incluía 30 minutos de transcripción inversa a 48°C, una desnaturalización inicial durante 5 minutos a 95°C seguida de 40 ciclos de desnaturalización a 95°C durante 15 segundos y reasociación a 60°C durante 60 segundos. Las reacciones se configuraron en placas de PCR con formato de 96 pocillos (Peglab n.º 732-2879) y se llevaron a cabo en un sistema de detección de PCR en tiempo real Mx3005P (Stratagene).

Se utilizaron ensayos de expresión génica TaqMan (Applied Biosystems), que incluyen conjuntos de cebadores y sondas preoptimizados específicos para los genes que se validan. Las secuencias y números ID se

enumeran a continuación:

EF1a	AATGCTAACATGCCTTGTTCAAG
Hs00265885_g1	
Colágeno 1a	AAGACGAAGACTCCCACCAATCAC
Hs00164004_m1	
Colágeno 3a	GAAGTCAAGAGTGGAGAATACTGGG
Hs00943809_m1	
IL1 β	CAGATGAAGTGCTCCTTCCAGGACC
Hs01555410_m1	

Se usó el factor de elongación del gen de mantenimiento 1a (EF1a) como un gen de referencia. La expresión normalizada se calculó utilizando el método Ct comparativo (o Δ Ct), y los cambios se derivaron de los valores de $2^{-\Delta\Delta$ Ct para cada gen. Los gráficos se prepararon utilizando valores de Ct relativos que se calcularon restando los valores de Ct de EF1a de los valores de Ct correspondientes para el gen que se estaba midiendo.

Ejemplo 1.9: Cicatrización de heridas retardada en un modelo de cerdo

Los experimentos con animales fueron aprobados por las autoridades gubernamentales. Se anestesiaron dos cerdos de granja jóvenes (10 - 12 kg) y se desarrollaron heridas de escisión de espesor total utilizando un punzón de biopsia de 6 mm. Durante los primeros 5 días después de la herida, las heridas se estimularon con a) R848 al 0,05% (resiquimod) y 50 μ l de exudado de herida humana, b) R848 al 0,05% y suero humano o c) suero humano solo. Se aplicó R848 por las mañanas y exudado y suero 6 horas después, en 50 μ l de soluciones gelificadas mediante la adición de HPMC al 2%. En los días 6 - 10, las heridas se trataron una vez al día con mapracorat o vehículo (PG al 50%/H₂O al 47,5%/Tween 80 al 0,5%/HPMC al 2%). Las heridas se puntuaron clínicamente diariamente. La puntuación total de la herida (puntuación máxima = 21) consistía en la apariencia de la herida (seca frente a húmeda), tamaño, contenido de la herida, pus, costras, intensidad del eritema, ancho del eritema, hinchazón y necrosis. Los valores dados son valores individuales para cada uno de los 2 cerdos.

Ejemplo 1.10: Translocación del receptor de glucocorticoides del citoplasma al núcleo en fibroblastos humanos primarios

Se sembraron fibroblastos humanos primarios en placas de 384 pocillos, como se describe en el Ejemplo 1.1, usando 2500 células/pocillo en un volumen total de 50 μ l. Después de adherencia durante 24 horas, las células se privaron de suero durante la noche y luego se incubaron durante 45 minutos a 37°C con concentraciones escalonadas de SEGRM o corticosteroides como controles positivos. Luego, las células se fijaron con paraformaldehído al 4% durante 10 minutos a temperatura ambiente, seguido de permeabilización con Triton X100 al 0,5% en PBS en BSA al 1%, durante 10 minutos a temperatura ambiente. Se tiñeron con un anticuerpo monoclonal de ratón anti-receptor de glucocorticoides (CellSignaling n.º 47411) o control de isotipo IgG1-kappa de ratón (e-Bioscience n.º 14-4714) y se desarrollaron con anti-IgG de ratón de burro-Alexa Fluor (Molecular Probes n.º A21202). Las células se examinaron en un microscopio de fluorescencia Olympus CKX53 y se evaluaron basándose en la localización del receptor de glucocorticoides: predominantemente nuclear (N), nuclear + citoplasmático (N/C) o predominantemente citoplasmático (C).

Los resultados se muestran en la Tabla 2 a continuación:

Tabla 2

	100 nM	10 nM	1 nM	0,1 nM
AZD7594	N	N	N	N/C
CORT108297	N	N	N/C	C
HY14234	N	N	N	N/C
Mapracorat	N	N	N	N/C
ZK216348	N	N	N	N/C
BI353048	N	N	N	C
BI3047	C/N	C	C	C

La tabla muestra la translocación del receptor de glucocorticoides desde el citoplasma (C) de los fibroblastos al núcleo (N) como una medida de la actividad. Las células se incubaron con concentraciones escalonadas del compuesto y la localización del receptor de glucocorticoides intracelular se determinó mediante

inmunofluorescencia indirecta, utilizando un anticuerpo dirigido contra el receptor. La localización del receptor de glucocorticoides en concentraciones del compuesto que varían de 0,1 a 100 nM se indica por N (núcleo), N/C (núcleo > citoplasma), C/N (citoplasma > núcleo) y C (citoplasma).

Ejemplo 1.11: Ensayo de secreción de citoquinas de monocitos humanos primarios

5 Se prepararon monocitos humanos primarios a partir de células mononucleares de sangre periférica (PBMC). Se aislaron PBMC de capas leucocitarias obtenidas de la Cruz Roja de Viena, utilizando LymphoPrep (Technoclone). Se diluyeron 30 ml de concentrado leucocitario 1:2 con PBS, se puso una subcapa con cuidado con 15 ml de Lymphoprep en un tubo Falcon de 50 ml y se centrifugaron durante 25 minutos a 1800 rpm a 21°C. La interfase se transfirió cuidadosamente a un tubo Falcon nuevo y se llenó hasta 50 ml con PBS helado. Después de otra etapa de centrifugación (10 minutos, 1200 rpm, 4°C), el sedimento celular se lavó 3 veces con PBS, se resuspendió en medio RPMI que contenía FCS al 20% y DMSO al 10% y se congeló en nitrógeno líquido. Los monocitos se generaron a partir de partes alícuotas congeladas usando selección positiva con el Kit CD14 Beads (Miltenyi) en un autoMACS-Sorter (Miltenyi) según las instrucciones del fabricante.

15 Se sembraron células a 8×10^5 /ml en 50 µl/pocillo de una placa de 384 pocillos y se combinaron las células con concentraciones escalonadas de los compuestos de ensayo. Después de 16 horas, los líquidos sobrenadantes se transfirieron a placas nuevas y se congelaron a -20°C para el análisis de IL-8, usando un kit ELISA comercial.

Ejemplo 1.12: Ensayo de estimulación de células U937

20 La línea celular de monocitos humanos U937 (ATCC CRL 1593) se cultivó de forma rutinaria en RPMI 1640 suplementado con FCS al 10% y glutamina 2 mM, y penicilina 100 U/ml / estreptomicina 100 µg/ml. Las células se sembraron a 4×10^5 /ml en 50 µl/pocillo de una placa de 384 pocillos y se combinaron las células con concentraciones escalonadas de los compuestos de ensayo y LPS a 100 ng/ml. Después de 16 horas, los líquidos sobrenadantes se transfirieron a placas nuevas y se congelaron a -20°C para el análisis de IL-8, usando un kit ELISA comercial.

25 Exudados de heridas

Se recogieron exudados de heridas (WE) de úlceras venosas, arteriales, por presión y diabéticas, así como de heridas quirúrgicas, ya sea en recipientes sin gel después de la terapia de presión negativa o mediante hisopos con hisopos flocados de nailon (Copan n.º 502CS01). Se obtuvo el consentimiento informado del paciente según la Declaración de Helsinki.

30 Compuestos de ensayo

Se disolvieron compuestos de bajo peso molecular (véase la lista en la Tabla 3) en DMSO (Bioreactivo para cultivo celular, Sigma) a 10 mM o 100 mM y se diluyeron al menos 1:1000 en medio para ensayos celulares (concentración final en DMSO $\leq 0,1\%$). Los compuestos normalmente se ensayaron en series de diluciones logarítmicas (1:10) o semilogarítmicas (1:3,33), comenzando a 10 µM o 100 µM como la concentración más alta del compuesto.

Las células se incubaron con compuestos durante 72 horas en ensayos de proliferación y hasta 8 días para el ensayo de FDM (renovado después de 4 días). Cuando se ensayó el efecto de los compuestos en la estimulación del WE, la incubación de células con compuestos se inició y finalizó simultáneamente con la incubación con WE.

40 Tabla 3: Lista de compuestos de bajo peso molecular para ensayos celulares

Compuesto	Fuente
21-Acetato de dexametasona	Sigma-Aldrich
BI-653048	Boehringer Ingelheim
BI-3047	Boehringer Ingelheim
Mifepristona	MedChem Express
Prednisolona	Sigma-Aldrich
Mapracorat	MedChem Express
ZK216348	Axón Medchem
HY14234	MedChem Express

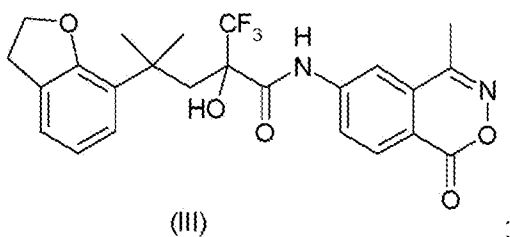
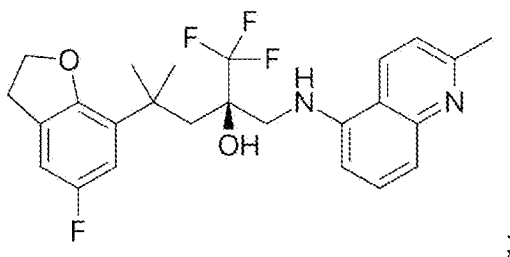
ES 2 980 934 T3

AZD7594	MedChem Express
---------	-----------------

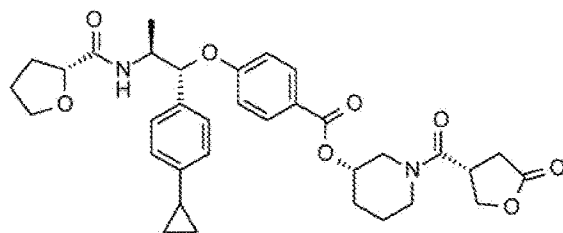
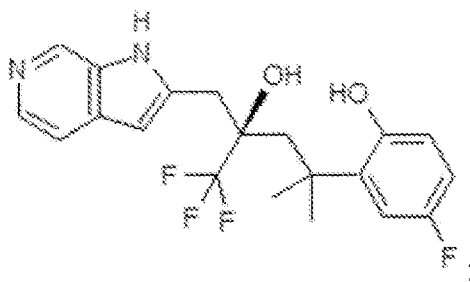
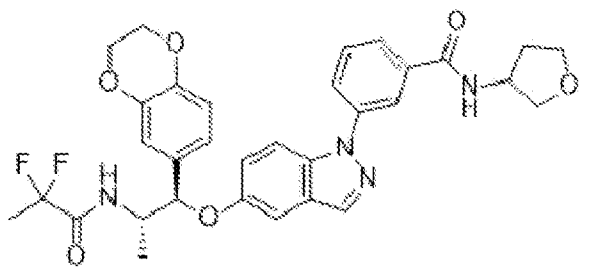
REIVINDICACIONES

1. Un activador selectivo del receptor de glucocorticoides (SEGRA), que es un agonista del receptor de glucocorticoides (GR), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para usar en el tratamiento de la cicatrización alterada de heridas en la piel en un sujeto, en donde el SEGRA, que es un agonista del receptor de glucocorticoides (GR) se selecciona de los siguientes compuestos:

5



(R)-2-(4-((5-(Etilsulfonil)-1H-pirrolo[2,3-c]piridin-2-il)metil)-5,5,5-trifluoro-4-hidroxi-2-metilpentan-2-il)-5-fluorobenzamida;



10

4-[(1R,2S)-1-(4-ciclopropilfenil)-2-[(2R)-tetrahidrofuran-2-carbonil]amino]propoxi]benzoato de [(3S)-1-[(3R)-5-oxotetrahidrofuran-3-carbonil]-3-piperidilo]

5-[[{(1S,2S)-1-(2-cloro-3-fluoro-4-metoxifenil)-3,3,3-trifluoro-2-hidroxi-2-(metoximetil)propil]amino}-7-fluoro-1H-quinolin-2-ona;

5-[[{(1S,2S)-1-(2-cloro-3-fluoro-4-metoxifenil)-3,3,3-trifluoro-2-hidroxi-2-(hidroximetil)propil]amino}-7-fluoro-1H-quinolin-2-ona, y

5 5-[[{(1S,2S)-1-(2-cloro-3-fluoro-4-metoxifenil)-3,3,3-trifluoro-2-hidroxi-2-(hidroximetil)propil]amino}-7-fluoro-1H-quinolin-2-ona,

o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

2. Activador selectivo del receptor de glucocorticoides (SEGRA), que es un agonista del receptor de glucocorticoides (GR), o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para el uso de la reivindicación 1,

10 en donde la herida en la piel se selecciona de una herida de un paciente diabético, una herida en la piel que está infectada por al menos un microorganismo, una herida isquémica, una herida en un paciente que padece suministro sanguíneo deficiente o estasis venosa, una úlcera, tal como una úlcera diabética, úlcera venosa, úlcera arterial, tal como úlcera arterial en la pierna, úlcera mixta o úlcera por presión, una herida neuropática, úlcera en la pierna, herida quirúrgica, quemadura, dehiscencia, úlcera neoplásica, una enfermedad de la piel ampollosa, tal como epidermólisis bullosa, y úlcera rara.

3. Activador selectivo del receptor de glucocorticoides (SEGRA), que es un agonista del receptor de glucocorticoides (GR), o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para uso de cualquiera de las reivindicaciones 1 o 2, en donde el sujeto padece al menos una comorbilidad asociada con la cicatrización alterada de herida en la piel, en particular diabetes, y/o en donde el sujeto se trata con al menos un fármaco inmunosupresor.

20 4. Activador selectivo del receptor de glucocorticoides (SEGRA), que es un agonista del receptor de glucocorticoides (GR), o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para uso de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en donde el sujeto padece diabetes y/o tiene al menos una úlcera diabética, y o en donde el sujeto

(i) se ha sometido a un trasplante de injerto, y/o

25 (ii) recibe terapia inmunosupresora, y opcionalmente padece diabetes.

5. Activador selectivo del receptor de glucocorticoides (SEGRA), que es un agonista del receptor de glucocorticoides (GR), o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para uso de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en donde se identifica que el sujeto responde al tratamiento de la cicatrización alterada de heridas en la piel llevando a cabo las etapas i) y/o ii):

30 i) medir la proliferación de células de fibroblastos, y opcionalmente la cantidad de al menos un marcador de citoquina IL-1 en el líquido sobrenadante de células de fibroblastos, en presencia de:

(1) una muestra de exudado de herida o muestra de biopelícula de herida obtenida de la herida en la piel de dicho sujeto, y

35 (2) al menos un activador selectivo del receptor de glucocorticoides (SEGRA) que es un agonista del receptor de glucocorticoides (GR), o sal farmacéuticamente aceptable del mismo;

ii) medir la formación de matriz derivada de fibroblastos por células de fibroblastos en presencia de:

(1) una muestra de exudado de herida o muestra de biopelícula de herida obtenida de la herida en la piel de dicho sujeto, y

40 (2) al menos un activador selectivo del receptor de glucocorticoides (SEGRA) que es un agonista del receptor de glucocorticoides (GR), o sal farmacéuticamente aceptable del mismo;

en donde se identifica que el sujeto responde al tratamiento de la cicatrización alterada de heridas en la piel con un activador selectivo del receptor de glucocorticoides (SEGRA) que es un agonista del receptor de glucocorticoides (GR), o sal farmacéuticamente aceptable del mismo,

45 en caso de que el valor de proliferación de células de fibroblastos medido en la etapa i) y/o el valor de la formación de matriz derivada de fibroblastos por células de fibroblastos medido en la etapa ii) esté al menos 20% por encima de un valor de control establecido en ausencia del al menos un activador selectivo del receptor de glucocorticoides (SEGRA) que es un agonista del receptor de glucocorticoides (GR), o sal farmacéuticamente aceptable del mismo de (2), y, opcionalmente, en caso de que el valor para la cantidad del al menos un marcador de citoquina IL-1 en el líquido sobrenadante de células de fibroblastos obtenido en la etapa i) esté por debajo de un valor de control establecido en ausencia del al menos un activador selectivo del receptor de glucocorticoides (SEGRA) que es un agonista del receptor de glucocorticoides (GR), o sal farmacéuticamente aceptable del mismo

de (2).

6. Activador selectivo del receptor de glucocorticoides (SEGRA), que es un agonista del receptor de glucocorticoides (GR), o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para el uso de la reivindicación 5, en donde además se llevan a cabo la etapa iiiia) y/o una, dos, tres o cuatro de las siguientes etapas iiib) a iiie):

5 iiiia) medir la proliferación de células de queratinocitos en presencia de:

 (1) una muestra de exudado de herida, o muestra de biopelícula de herida, obtenida de la herida en la piel de dicho sujeto, y

 (2) al menos un activador selectivo del receptor de glucocorticoides (SEGRA) que es un agonista del receptor de glucocorticoides (GR), o sal farmacéuticamente aceptable del mismo,

10 iiib) medir la(s) cantidad(es) de uno o más marcadores M1 y uno o más marcadores M2 en el líquido sobrenadante de macrófagos incubados con

 (1) una muestra de exudado de herida o muestra de biopelícula de herida obtenida de dicha herida en la piel, y

15 (2) al menos un activador selectivo del receptor de glucocorticoides (SEGRA) que es un agonista del receptor de glucocorticoides (GR), o sal farmacéuticamente aceptable del mismo,

 en donde los macrófagos están en cocultivo con fibroblastos, y

 en donde el uno o más marcadores M1 se seleccionan de CXCL10 e IL-23p19, y el uno o más marcadores M2 se seleccionan de CCL22 y CCL18,

20 iiic) medir la(s) cantidad(es) y/o distribución(es) de frecuencia de uno o más marcadores de superficie celular M1 y uno o más marcadores de superficie celular M2 en macrófagos incubados con

 (1) una muestra de exudado de herida o muestra de biopelícula de herida obtenida de dicha herida en la piel, y

 (2) al menos un activador selectivo del receptor de glucocorticoides (SEGRA) que es un agonista del receptor de glucocorticoides (GR), o sal farmacéuticamente aceptable del mismo,

25 en donde los macrófagos están en cocultivo con fibroblastos, y

 en donde el uno o más marcadores de superficie celular M1 se seleccionan de CD38, CD64 y CD197, y en donde el uno o más marcadores de superficie celular M2 se seleccionan de receptor CD200, CD206 y CD209,

 iiid) medir el(los) nivel(es) de expresión de uno o más ARNm de marcadores M1 y uno o más ARNm de marcadores M2 en macrófagos incubados con

30 (1) una muestra de exudado de herida o muestra de biopelícula de herida obtenida de dicha herida en la piel, y

 (2) al menos un activador selectivo del receptor de glucocorticoides (SEGRA) que es un agonista del receptor de glucocorticoides (GR), o sal farmacéuticamente aceptable del mismo,

 en donde los macrófagos están en cocultivo con fibroblastos, y

35 en donde el uno o más ARNm de marcadores M1 se seleccionan de CD38, CD64, CD197, CXCL10 e IL-23p19, y el uno o más ARNm de marcadores M2 se seleccionan de receptor CD200 (CD200R), CD206, CD209, CCL22 y CCL18,

 iiie) medir la(s) cantidad(es) de uno o más marcadores de citoquinas en el líquido sobrenadante de macrófagos incubados

40 (1) con una muestra de exudado de herida o muestra de biopelícula de herida obtenida de dicha herida en la piel, y

 (2) al menos un activador selectivo del receptor de glucocorticoides (SEGRA) que es un agonista del receptor de glucocorticoides (GR), o sal farmacéuticamente aceptable del mismo,

 en donde los macrófagos están en cocultivo con fibroblastos, y

45 en donde el uno o más marcadores de citoquinas se seleccionan de IL-1alfa, IL-1beta y TNF-alfa,

y

en donde se identifica que el sujeto responde al tratamiento con al menos un activador selectivo del receptor de glucocorticoides (SEGRA) que es un agonista del receptor de glucocorticoides (GR), o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en caso de que el valor de proliferación de células de fibroblastos medido en la etapa i) y/o el valor de la formación de matriz derivada de fibroblastos por células de fibroblastos medido en la etapa ii) y/o el valor de la proliferación de células de queratinocitos en la etapa iii) esté al menos 20% por encima de un valor de control establecido en ausencia del al menos un activador selectivo del receptor de glucocorticoides (SEGRA) que es un agonista del receptor de glucocorticoides (GR), o sal farmacéuticamente aceptable del mismo de (2), y, opcionalmente, en caso de que el valor para la cantidad del al menos un marcador de citoquina IL-1 en el líquido sobrenadante de células de fibroblastos obtenido en la etapa i) esté por debajo de un valor de control establecido en ausencia del al menos un activador selectivo del receptor de glucocorticoides (SEGRA) que es un agonista del receptor de glucocorticoides (GR), o sal farmacéuticamente aceptable del mismo de (2),

y/o en caso de que se aplique uno o más de los siguientes:

- la relación de la(s) cantidad(es) de uno o más marcadores M1 a la(s) cantidad(es) de uno o más marcadores M2 obtenidas en iiib) esté/estén por debajo de un valor de control establecido en ausencia del al menos un activador selectivo del receptor de glucocorticoides (SEGRA) que es un agonista del receptor de glucocorticoides (GR), o sal farmacéuticamente aceptable del mismo de (2),

- la relación de la(s) cantidad(es) y/o distribución(es) de frecuencia de uno o más marcadores de superficie celular M1 a la(s) cantidad(es) y/o distribución(es) de frecuencia de uno o más marcadores de superficie celular M2 obtenidas en iiic) esté/estén por debajo de un valor de control establecido en ausencia del al menos un activador selectivo del receptor de glucocorticoides (SEGRA) que es un agonista del receptor de glucocorticoides (GR), o sal farmacéuticamente aceptable del mismo de (2), en particular en donde la relación se selecciona de una relación CD38/CD209, una relación CD197/CD209 y una relación CD197/CD206,

- la relación del(de los) nivel(es) de expresión de uno o más ARNm de marcadores M1 al(a los) nivel(es) de expresión de uno o más ARNm de marcadores M2 obtenidos en iiid) esté/estén por debajo de un valor de control establecido en ausencia del al menos un activador selectivo del receptor de glucocorticoides (SEGRA) que es un agonista del receptor de glucocorticoides (GR), o sal farmacéuticamente aceptable del mismo de (2),

- el valor obtenido en iiie) esté por debajo de un valor de control establecido en ausencia del al menos un activador selectivo del receptor de glucocorticoides (SEGRA) que es un agonista del receptor de glucocorticoides (GR), o sal farmacéuticamente aceptable del mismo de (2).

7. Activador selectivo del receptor de glucocorticoides (SEGRA) que es un agonista del receptor de glucocorticoides (GR), o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para el uso de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en donde el activador selectivo del receptor de glucocorticoides (SEGRA) que es un agonista del receptor de glucocorticoides (GR), o sal farmacéuticamente aceptable del mismo

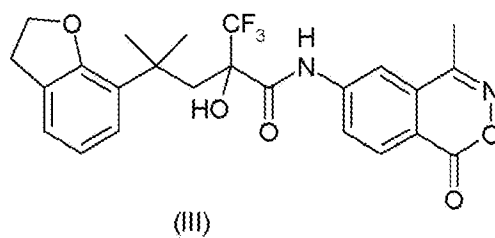
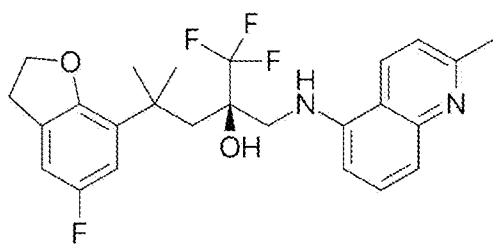
(i) se formula para administración sistémica, preferiblemente oral o intravenosa, o

(ii) se formula para administración local, en particular para administración tópica, en mucosa, ocular, intradérmica o subcutánea.

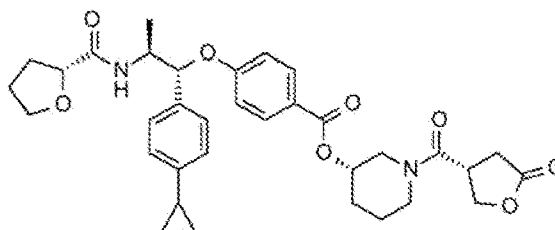
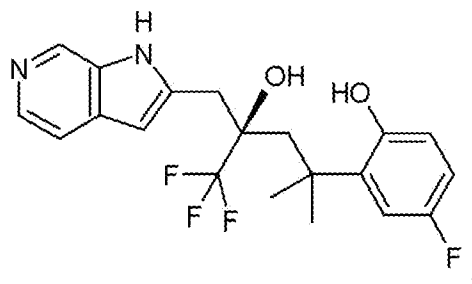
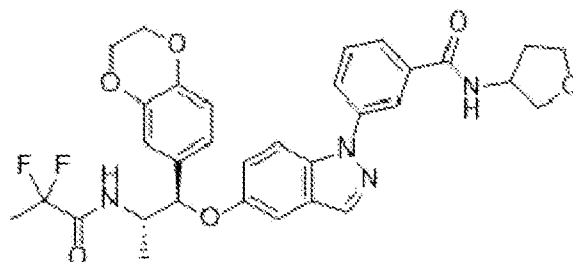
8. Activador selectivo del receptor de glucocorticoides (SEGRA), que es un agonista del receptor de glucocorticoides (GR), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para el uso de la reivindicación 7, en donde el activador selectivo del receptor de glucocorticoides (SEGRA), que es un agonista del receptor de glucocorticoides (GR), o sal farmacéuticamente aceptable del mismo se formula para administración local, en donde dicha formulación farmacéutica comprende al menos un activador selectivo del receptor de glucocorticoides (SEGRA) y a) alcohol oleílico, b) octanoato de cetearilo y c) un aceite vegetal.

9. Un método *in vitro* para identificar que un sujeto que padece cicatrización alterada de heridas en la piel responde al tratamiento con un activador del receptor de glucocorticoides (SEGRA), que es un agonista del receptor de glucocorticoides (GR), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo,

en donde el SEGRA, que es un agonista del receptor de glucocorticoides (GR), se selecciona de los siguientes compuestos:



(R)-2-(4-((5-(Etilsulfonil)-1H-pirrol[2,3-c]piridin-2-il)metil)-5,5,5-trifluoro-4-hidroxi-2-metilpentan-2-il)-5-fluorobenzamida;



5

4-[(1R,2S)-1-(4-ciclopropilfenil)-2-[(2R)-tetrahidrofuran-2-carbonil]amino]propoxi]benzoato de [(3S)-1-[(3R)-5-oxotetrahidrofuran-3-carbonil]-3-piperidilo]

5-[(1S,2S)-1-(2-cloro-3-fluoro-4-metoxifenil)-3,3,3-trifluoro-2-hidroxi-2-(metoximetil)propil]amino]-7-fluoro-1H-quinolin-2-ona;

10

5-[(1S,2S)-1-(2-cloro-3-fluoro-4-metoxifenil)-3,3,3-trifluoro-2-hidroxi-2-(hidroximetil)propil]amino]-7-fluoro-1H-quinolin-2-ona, y

5-[(1S,2S)-1-(2-cloro-3-fluoro-4-metoxifenil)-3,3,3-trifluoro-2-hidroxi-2-(hidroximetil)propil]amino]-7-fluoro-1H-quinolin-2-ona,

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo,

comprendiendo el método llevar a cabo las etapas i) y/o ii):

i) medir la proliferación de células de fibroblastos, y opcionalmente la cantidad de al menos un marcador de citoquina IL-1 en el líquido sobrenadante de células de fibroblastos, en presencia de:

5 (1) una muestra de exudado de herida o muestra de biopelícula de herida obtenida de la herida en la piel de dicho sujeto, y

(2) al menos un activador selectivo del receptor de glucocorticoides (SEGRA) que es un agonista del receptor de glucocorticoides (GR), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;

ii) medir la formación de matriz derivada de fibroblastos por células de fibroblastos en presencia de:

10 (1) una muestra de exudado de herida o muestra de biopelícula de herida obtenida de la herida en la piel de dicho sujeto, y

(2) al menos un activador selectivo del receptor de glucocorticoides (SEGRA) que es un agonista del receptor de glucocorticoides (GR), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;

15 en donde se identifica que el sujeto responde al tratamiento con el activador selectivo del receptor de glucocorticoides (SEGRA), que es un agonista del receptor de glucocorticoides (GR), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo,

20 en caso de que el valor de proliferación de células de fibroblastos medido en la etapa i) y/o el valor de la formación de matriz derivada de fibroblastos por células de fibroblastos medido en la etapa ii) esté al menos 20% por encima de un valor de control establecido en ausencia del al menos un activador selectivo del receptor de glucocorticoides (SEGRA) que es un agonista del receptor de glucocorticoides (GR), o sal farmacéuticamente aceptable del mismo de (2) y, opcionalmente, en caso de que el valor para la cantidad del al menos un marcador de citoquina IL-1 en el líquido sobrenadante de células de fibroblastos obtenido en la etapa i) esté por debajo de un valor de control establecido en ausencia del al menos un activador selectivo del receptor de glucocorticoides (SEGRA) que es un agonista del receptor de glucocorticoides (GR), o sal farmacéuticamente aceptable del mismo de (2).

10. El método *in vitro* de la reivindicación 9, en donde además se llevan a cabo la etapa iiia) y/o una, dos, tres o cuatro de las siguientes etapas iiib) a iiie):

iiia) medir la proliferación de células de queratinocitos en presencia de:

30 (1) una muestra de exudado de herida, o muestra de biopelícula de herida, obtenida de la herida en la piel de dicho sujeto, y

(2) al menos un activador selectivo del receptor de glucocorticoides (SEGRA) que es un agonista del receptor de glucocorticoides (GR), o sal farmacéuticamente aceptable del mismo,

iiib) medir la(s) cantidad(es) de uno o más marcadores M1 y uno o más marcadores M2 en el líquido sobrenadante de macrófagos incubados con

35 (1) una muestra de exudado de herida o muestra de biopelícula de herida obtenida de dicha herida en la piel, y

(2) al menos un activador selectivo del receptor de glucocorticoides (SEGRA) que es un agonista del receptor de glucocorticoides (GR), o sal farmacéuticamente aceptable del mismo,

en donde los macrófagos están en cocultivo con fibroblastos, y

40 en donde el uno o más marcadores M1 se seleccionan de CXCL10 e IL-23p19, y el uno o más marcadores M2 se seleccionan de CCL22 y CCL18,

iiic) medir la(s) cantidad(es) y/o distribución(es) de frecuencia de uno o más marcadores de superficie celular M1 y uno o más marcadores de superficie celular M2 en macrófagos incubados con

45 (1) una muestra de exudado de herida o muestra de biopelícula de herida obtenida de dicha herida en la piel, y

(2) al menos un activador selectivo del receptor de glucocorticoides (SEGRA) que es un agonista del receptor de glucocorticoides (GR), o sal farmacéuticamente aceptable del mismo,

en donde los macrófagos están en cocultivo con fibroblastos, y

en donde el uno o más marcadores de superficie celular M1 se seleccionan de CD38, CD64 y CD197, y

en donde el uno o más marcadores de superficie celular M2 se seleccionan de receptor CD200, CD206 y CD209,

iiid) medir el(los) nivel(es) de expresión de uno o más ARNm de marcadores M1 y uno o más ARNm de marcadores M2 en macrófagos incubados con

5 (1) una muestra de exudado de herida o muestra de biopelícula de herida obtenida de dicha herida en la piel, y

(2) al menos un activador selectivo del receptor de glucocorticoides (SEGRA) que es un agonista del receptor de glucocorticoides (GR), o sal farmacéuticamente aceptable del mismo,

en donde los macrófagos están en cocultivo con fibroblastos, y

10 en donde el uno o más ARNm de marcadores M1 se seleccionan de CD38, CD64, CD197, CXCL10 e IL-23p19, y el uno o más ARNm de marcadores M2 se seleccionan de receptor CD200 (CD200R), CD206, CD209, CCL22 y CCL18,

iiie) medir la(s) cantidad(es) de uno o más marcadores de citoquinas en el líquido sobrenadante de macrófagos incubados

15 (1) con una muestra de exudado de herida o muestra de biopelícula de herida obtenida de dicha herida en la piel, y

(2) al menos un activador selectivo del receptor de glucocorticoides (SEGRA) que es un agonista del receptor de glucocorticoides (GR), o sal farmacéuticamente aceptable del mismo,

y

20 en donde se identifica que el sujeto responde al tratamiento con un activador selectivo del receptor de glucocorticoides (SEGRA) que es un agonista del receptor de glucocorticoides (GR), o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en caso de que el valor de proliferación de células de fibroblastos medido en la etapa i) y/o el valor de la formación de matriz derivada de fibroblastos por células de fibroblastos medido en la etapa ii) y/o el valor de la proliferación de células de queratinocitos en la etapa iiia) esté al menos 20% por encima de un valor de control establecido en ausencia del al menos un activador selectivo del receptor de glucocorticoides (SEGRA) que es un agonista del receptor de glucocorticoides (GR), o sal farmacéuticamente aceptable del mismo de (2),

25 y/o en caso de que se aplique uno o más de los siguientes:

30 - la relación de la(s) cantidad(es) de uno o más marcadores M1 a la(s) cantidad(es) de uno o más marcadores M2 obtenidas en iiib) esté/estén por debajo de un valor de control establecido en ausencia del al menos un activador selectivo del receptor de glucocorticoides (SEGRA) que es un agonista del receptor de glucocorticoides (GR), o sal farmacéuticamente aceptable del mismo de (2),

35 - la relación de la(s) cantidad(es) y/o distribución(es) de frecuencia de uno o más marcadores de superficie celular M1 y la(s) cantidad(es) y/o distribución(es) de frecuencia de uno o más marcadores de superficie celular M2(s) obtenidas en iiic) esté/estén por debajo de un valor de control establecido en ausencia del al menos un activador selectivo del receptor de glucocorticoides (SEGRA) que es un agonista del receptor de glucocorticoides (GR), o sal farmacéuticamente aceptable del mismo de (2), en particular en donde la relación se selecciona de una relación CD38/CD209, una relación CD197/CD209 y una relación CD197/CD206,

40 - la relación del(de los) nivel(es) de expresión de uno o más ARNm de marcadores M1 al(a los) nivel(es) de expresión de uno o más ARNm de marcadores M2 obtenidos en iiid) esté/estén por debajo de un valor de control establecido en ausencia del al menos un activador selectivo del receptor de glucocorticoides (SEGRA) que es un agonista del receptor de glucocorticoides (GR), o sal farmacéuticamente aceptable del mismo de (2),

- el valor obtenido en iiie) esté por debajo de un valor de control establecido en ausencia del al menos un activador selectivo del receptor de glucocorticoides (SEGRA) que es un agonista del receptor de glucocorticoides (GR), o sal farmacéuticamente aceptable del mismo de (2).

Figura 1

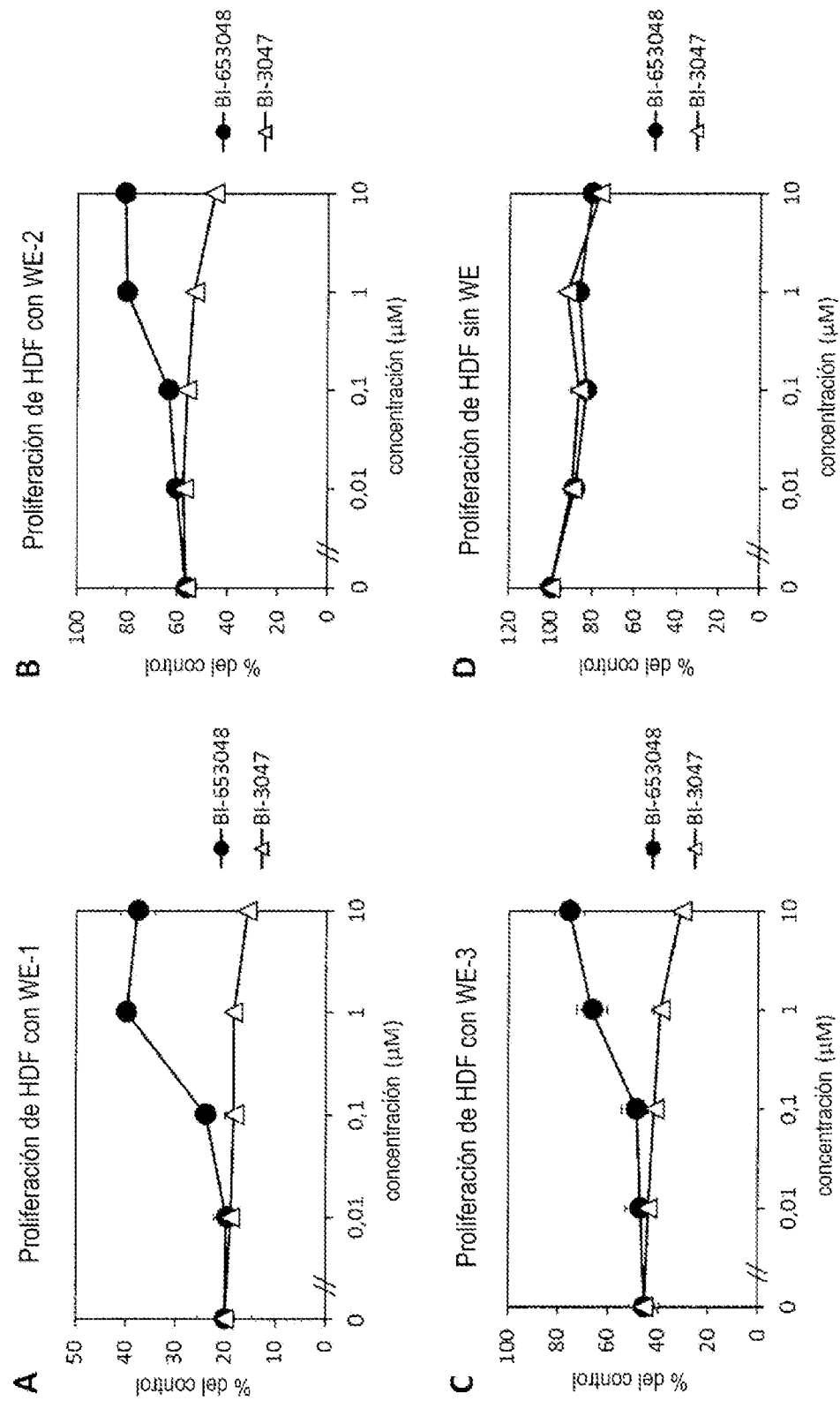


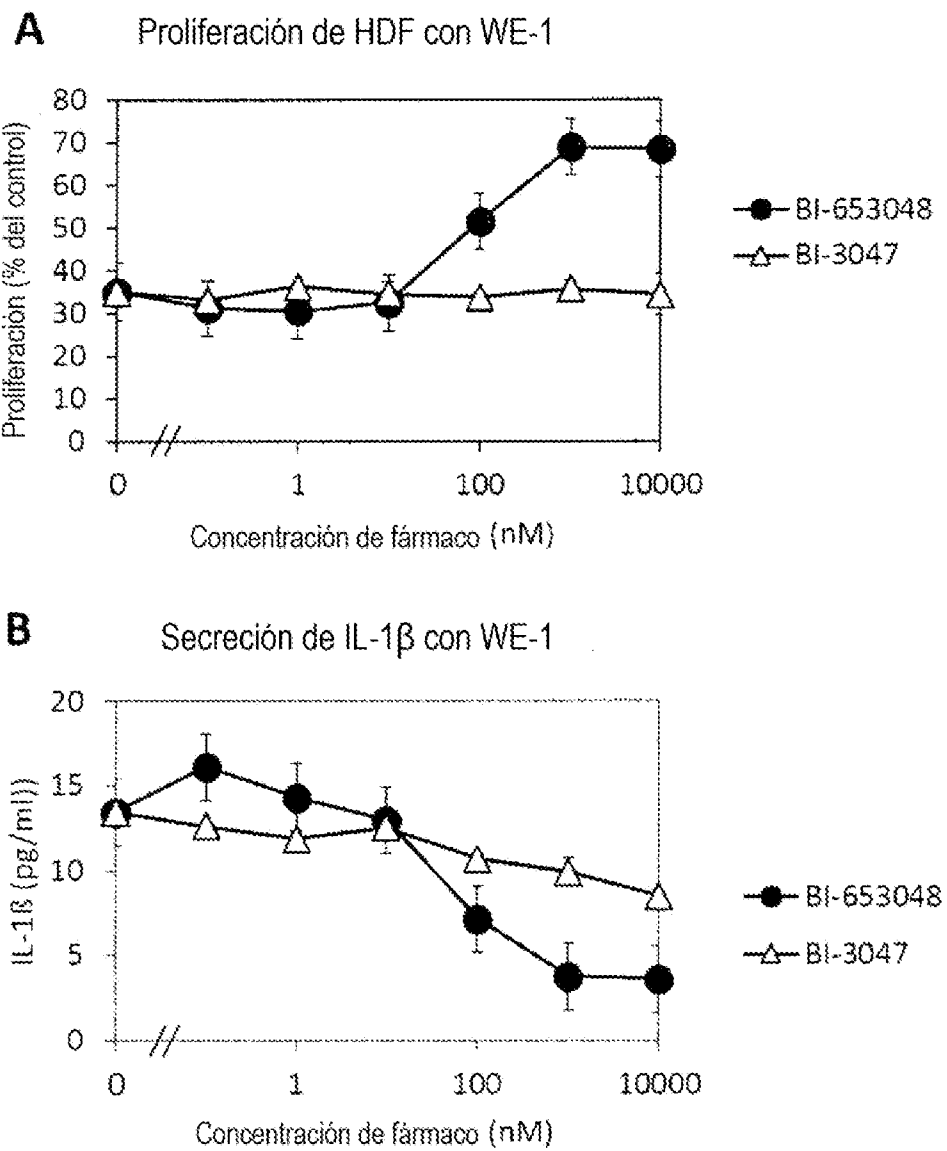
Figura 2

Figura 3

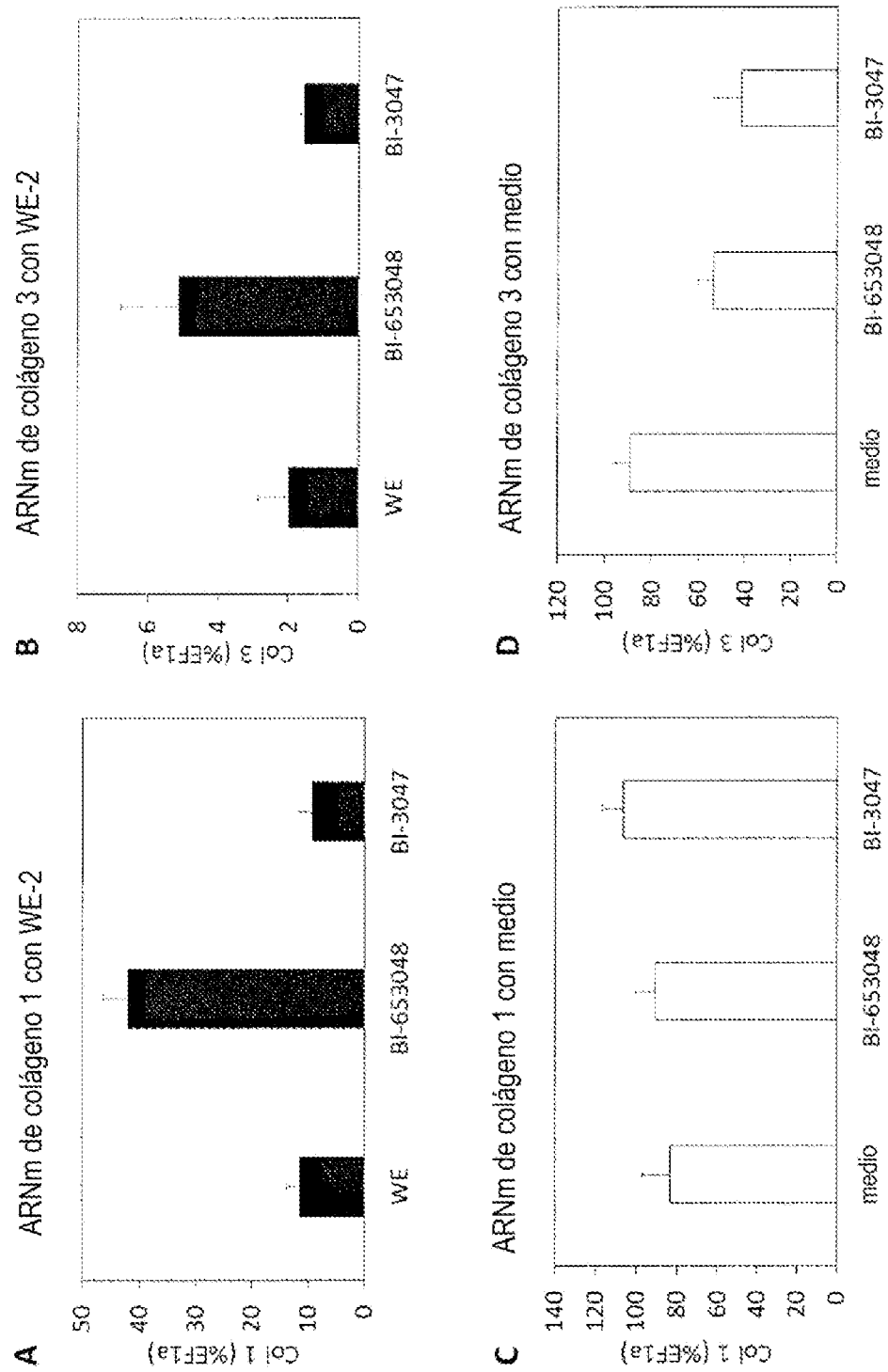


Figura 4

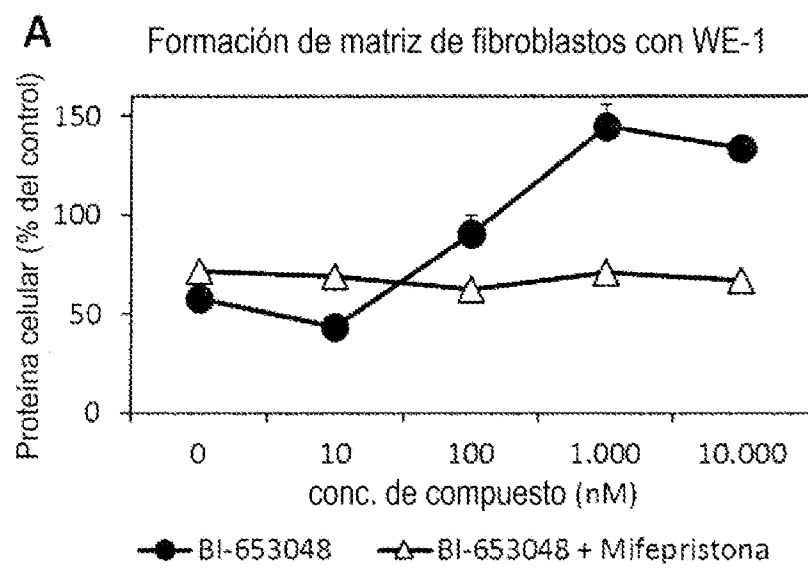


Figura 5

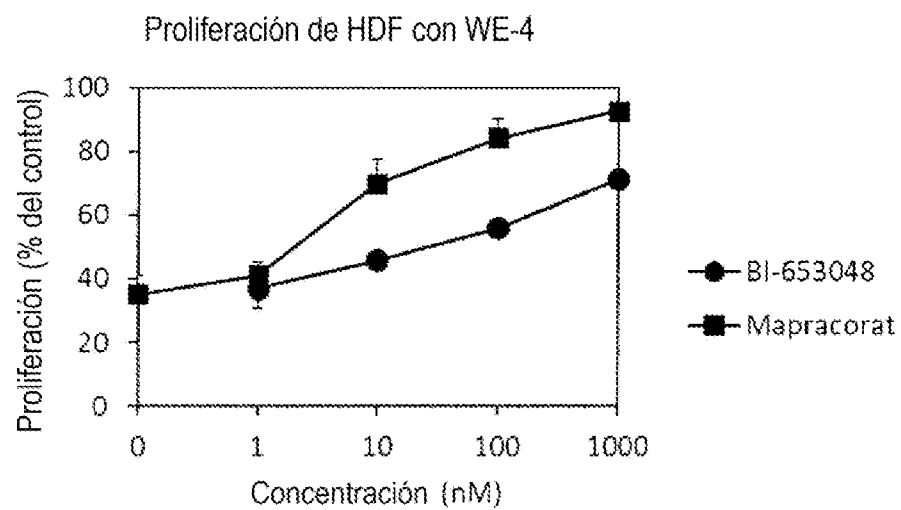


Figura 6

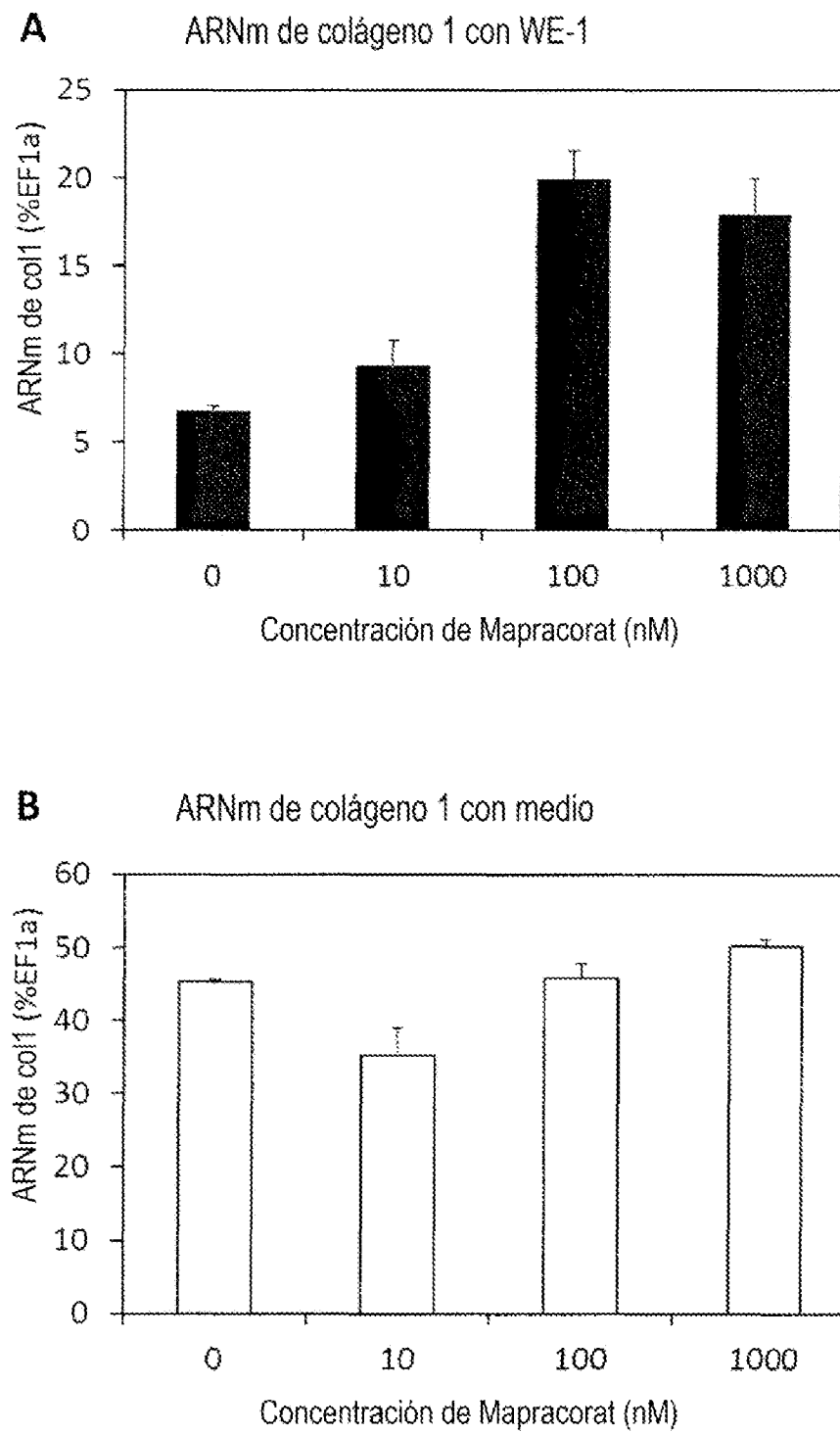


Figura 7

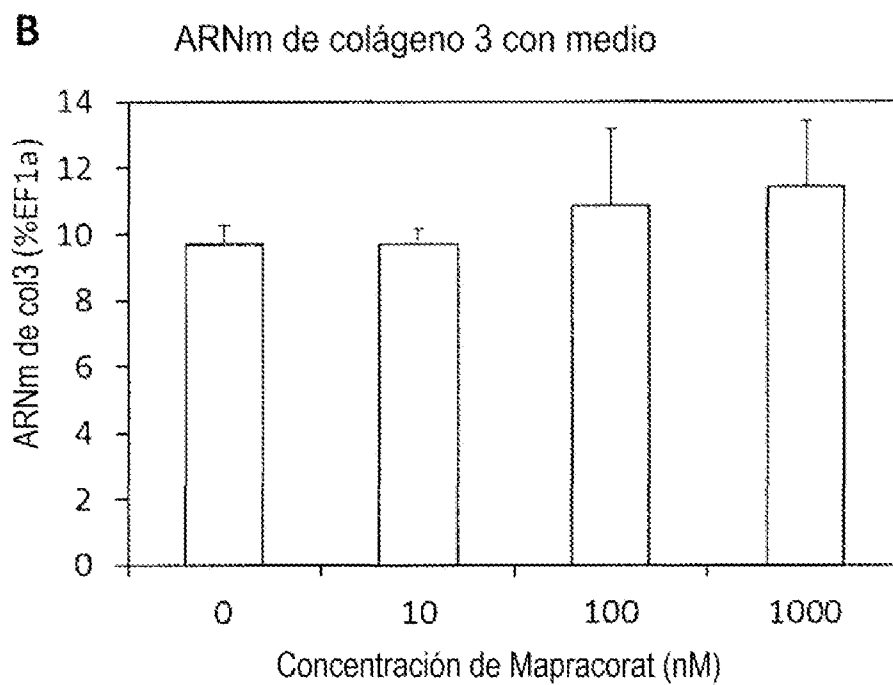
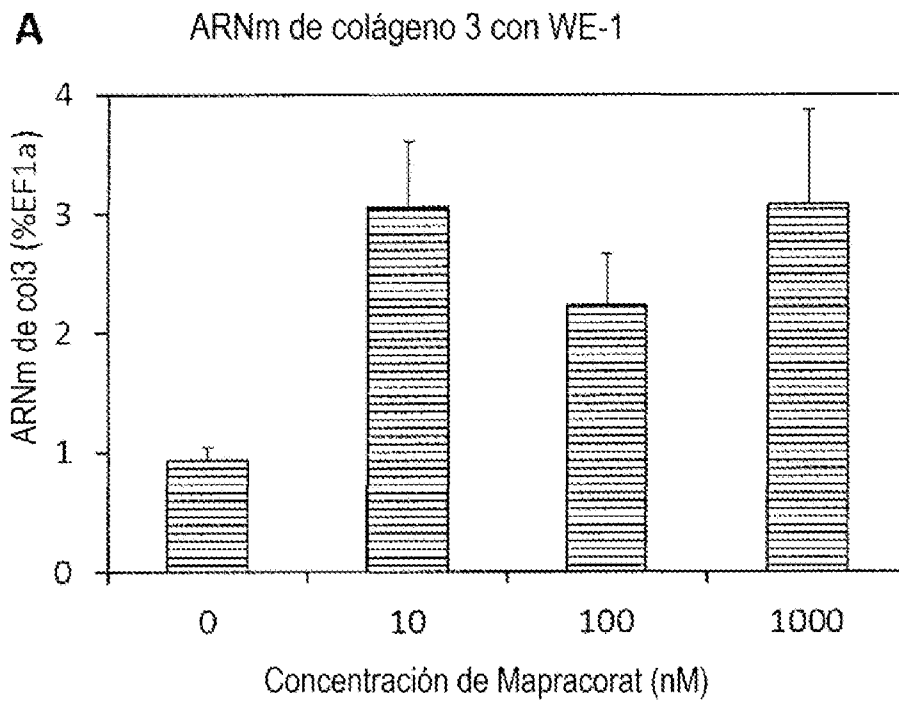


Figura 8

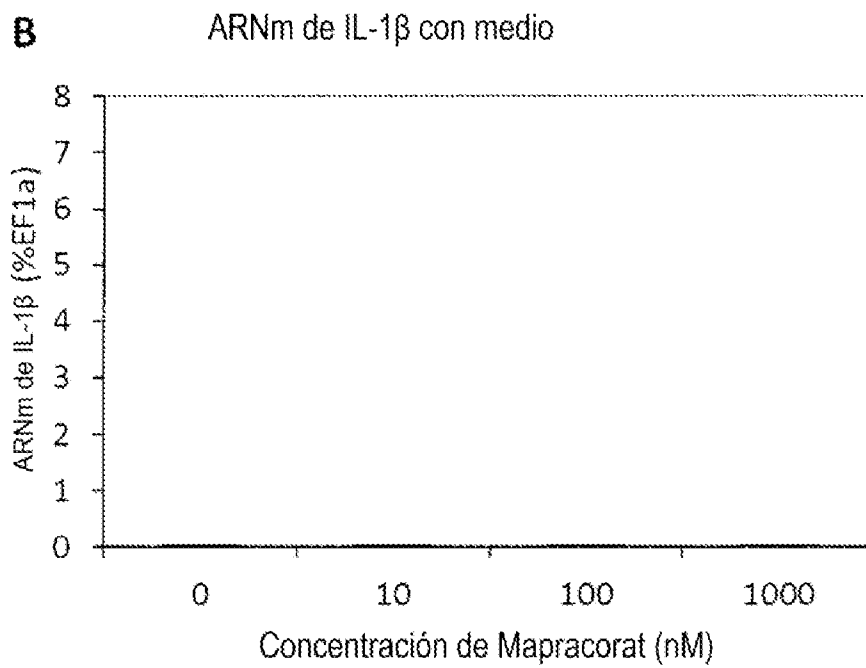
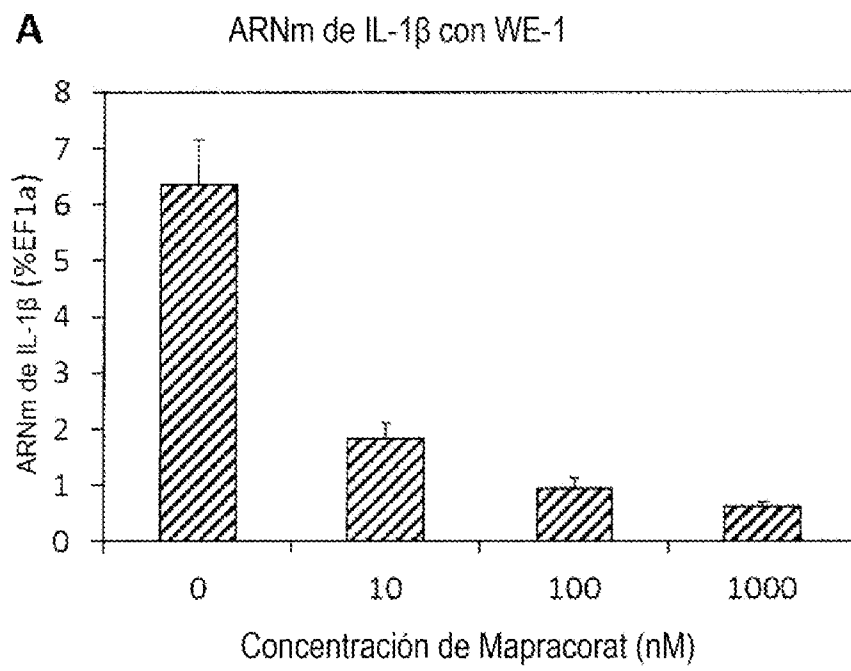


Figura 9

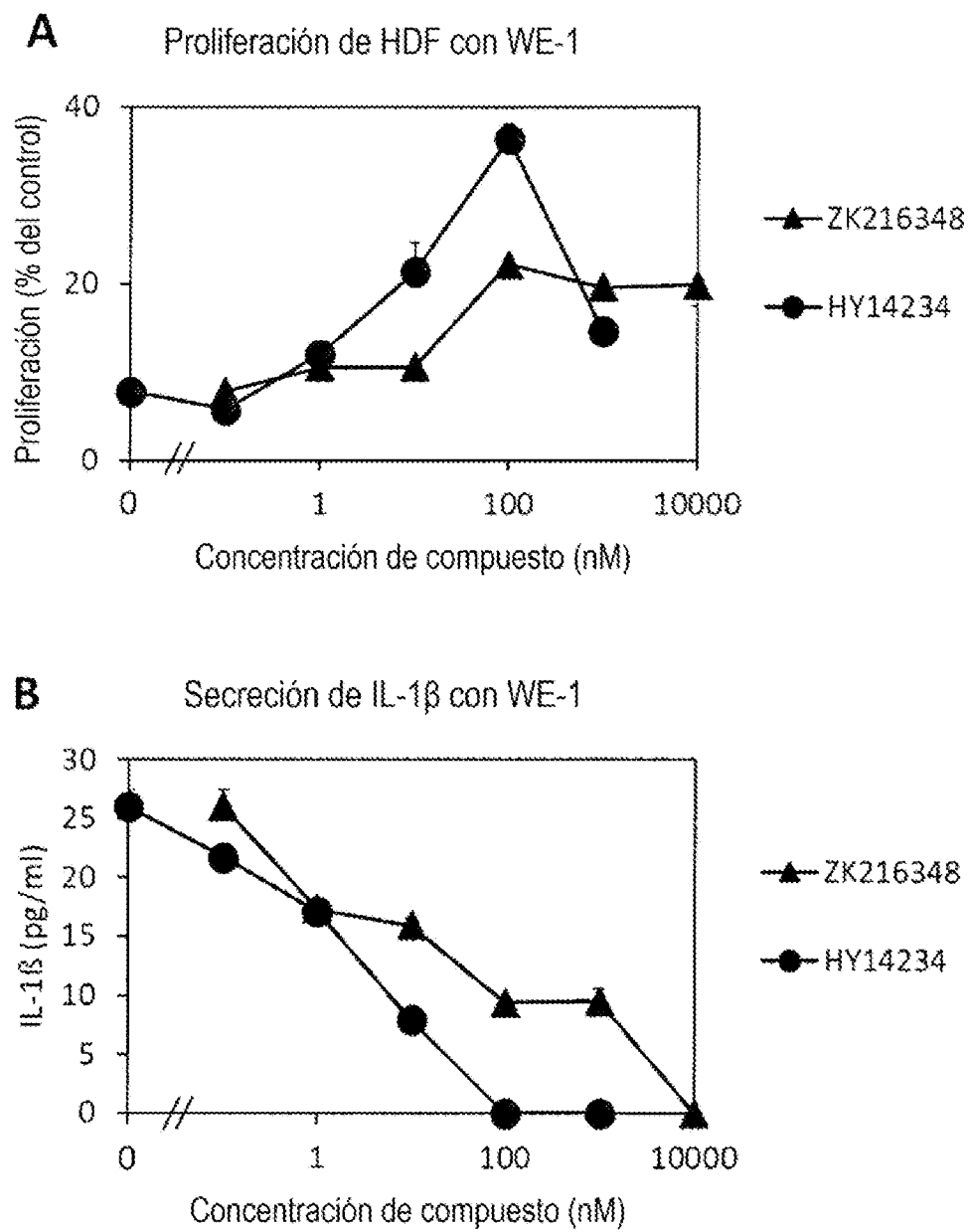


Figura 10

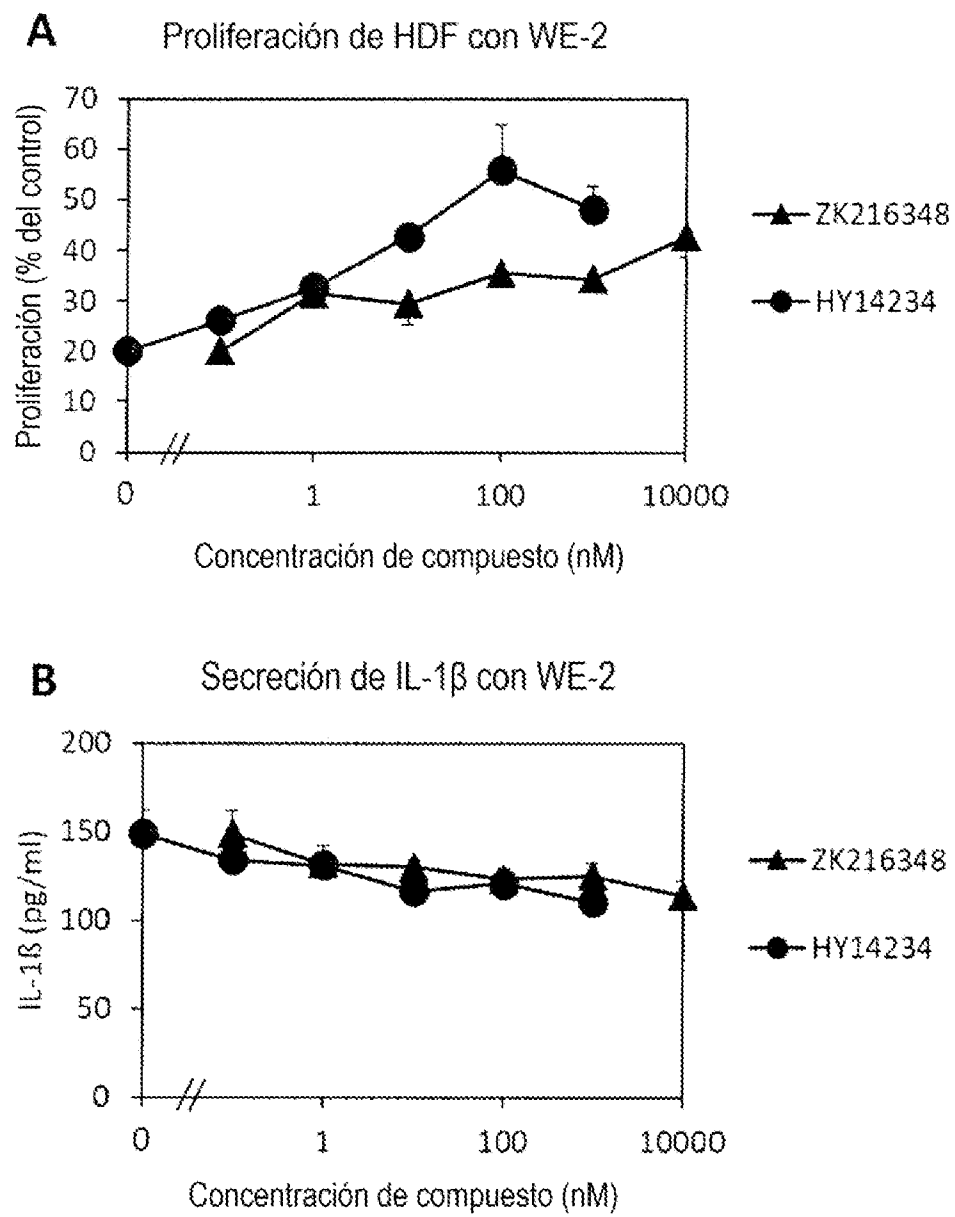


Figura 11

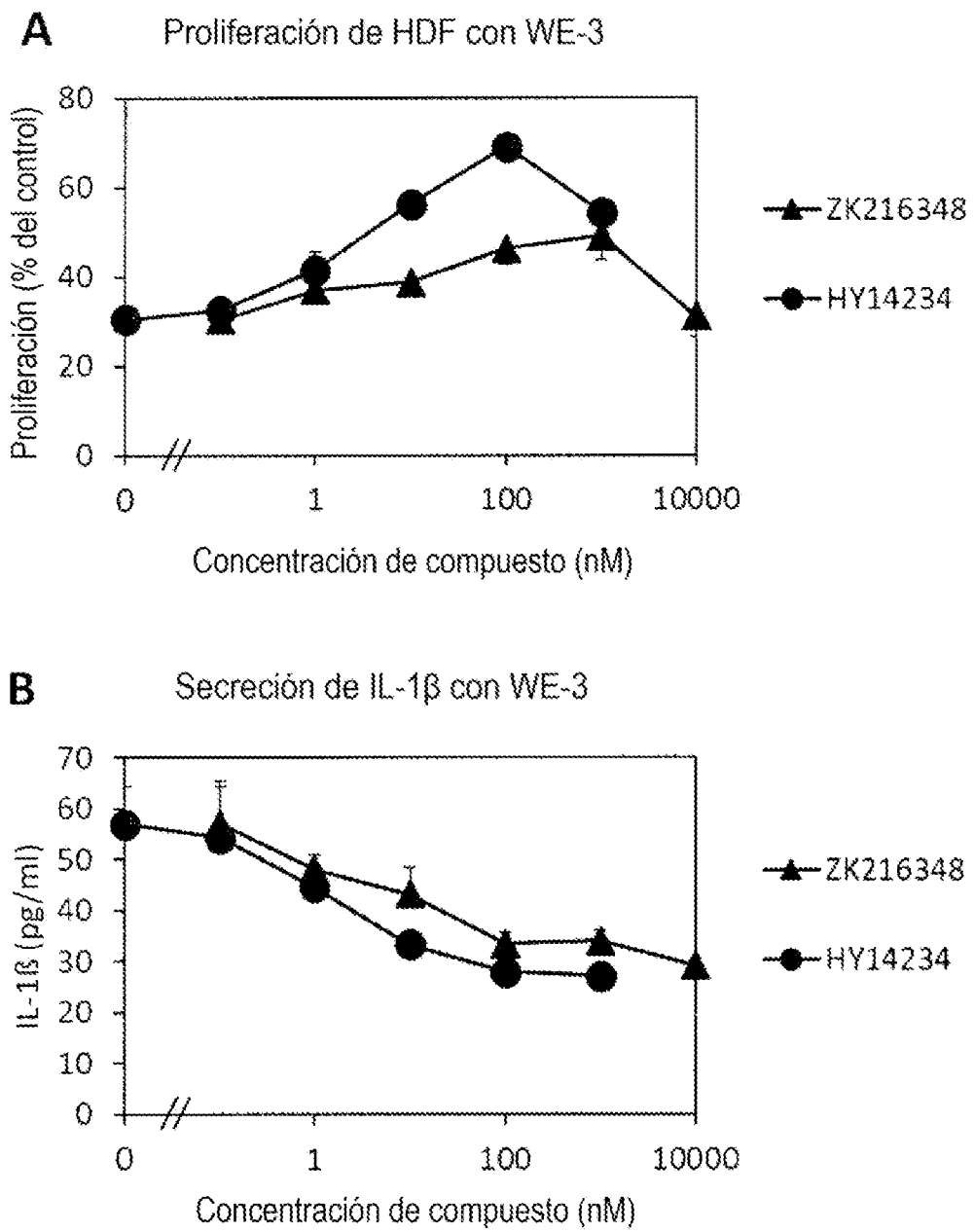


Figura 12

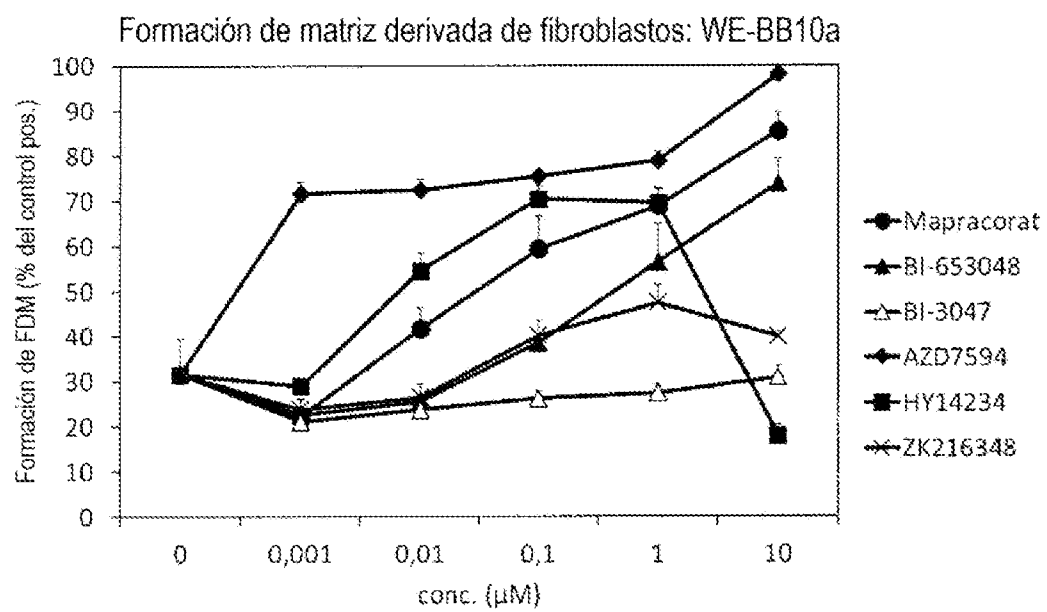


Figura 13

A) Heridas en cerdos con R848 + WE-01

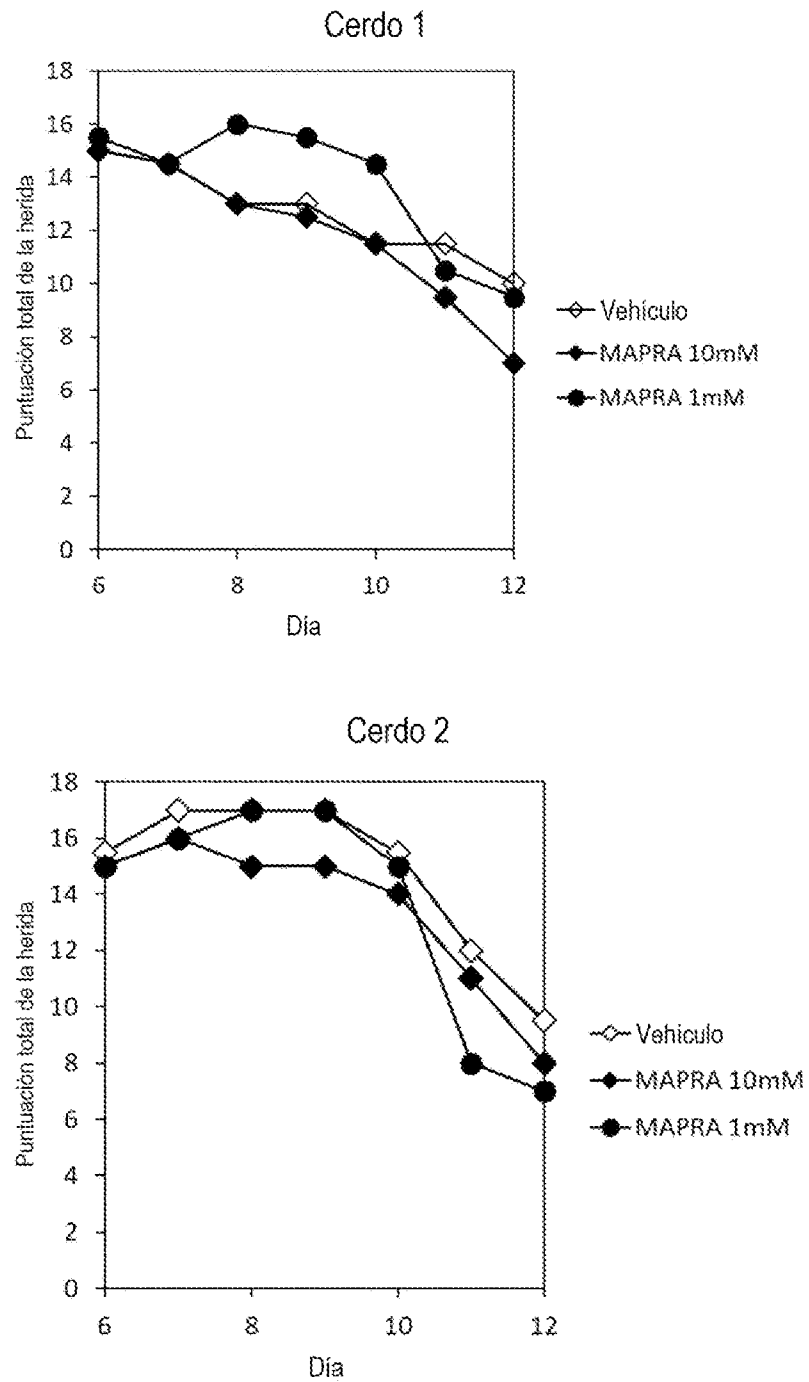


Figura 13 (continuación)

B) Heridas en cerdos con R848 + WE-02

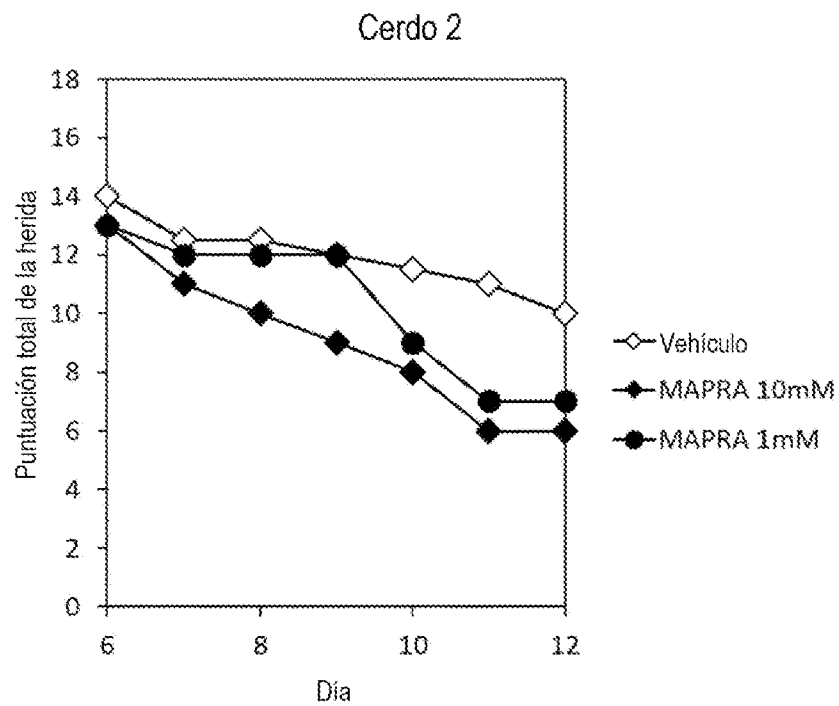
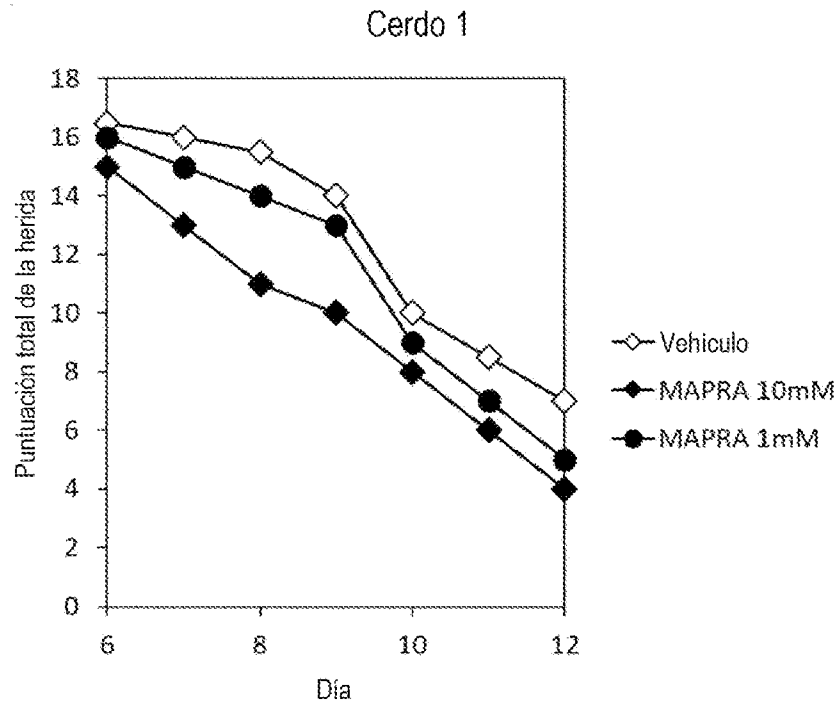


Figura 13 (continuación)

C) Heridas en cerdos con R848 + suero humano

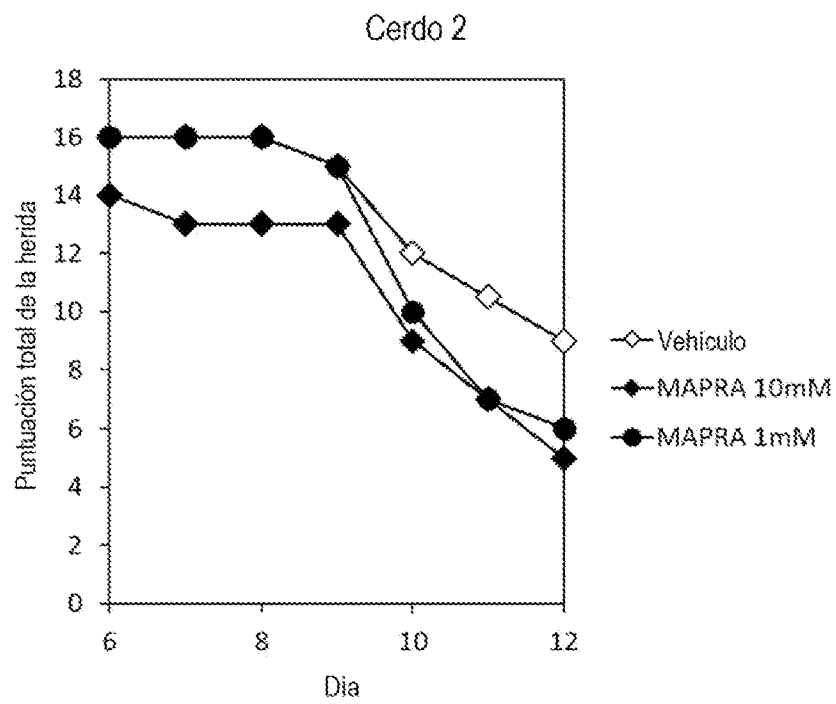
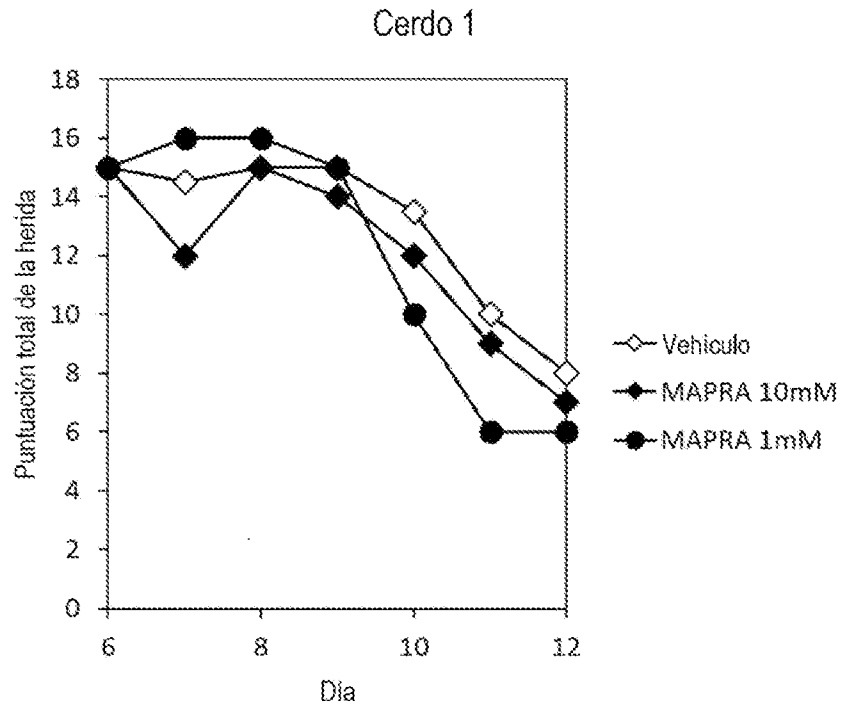


Figura 13 (continuación)

D) Heridas en cerdos con suero humano

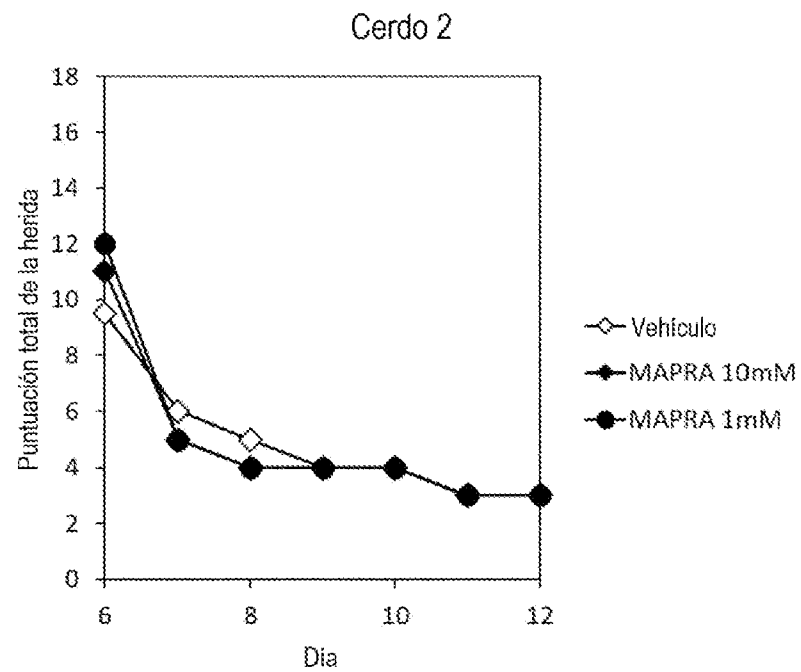
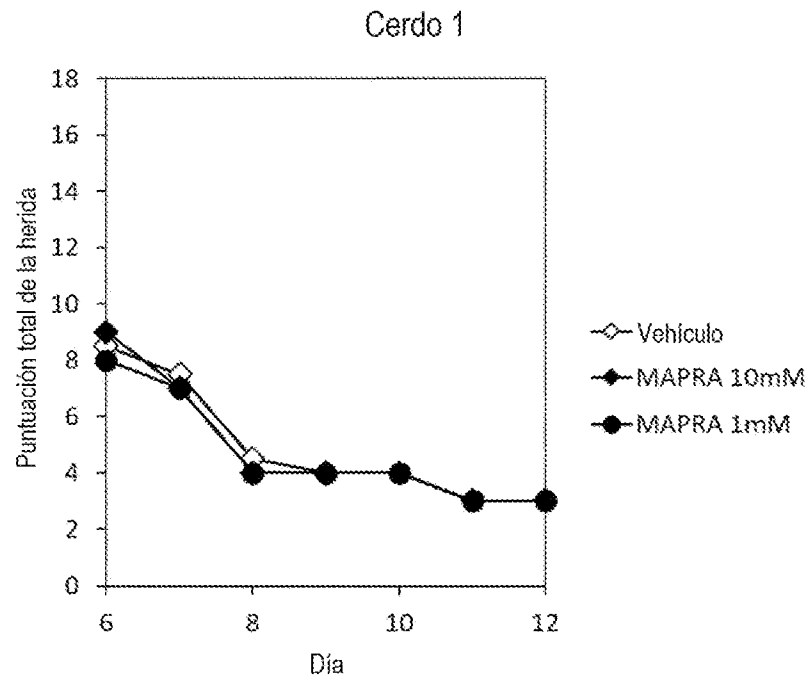


Figura 14

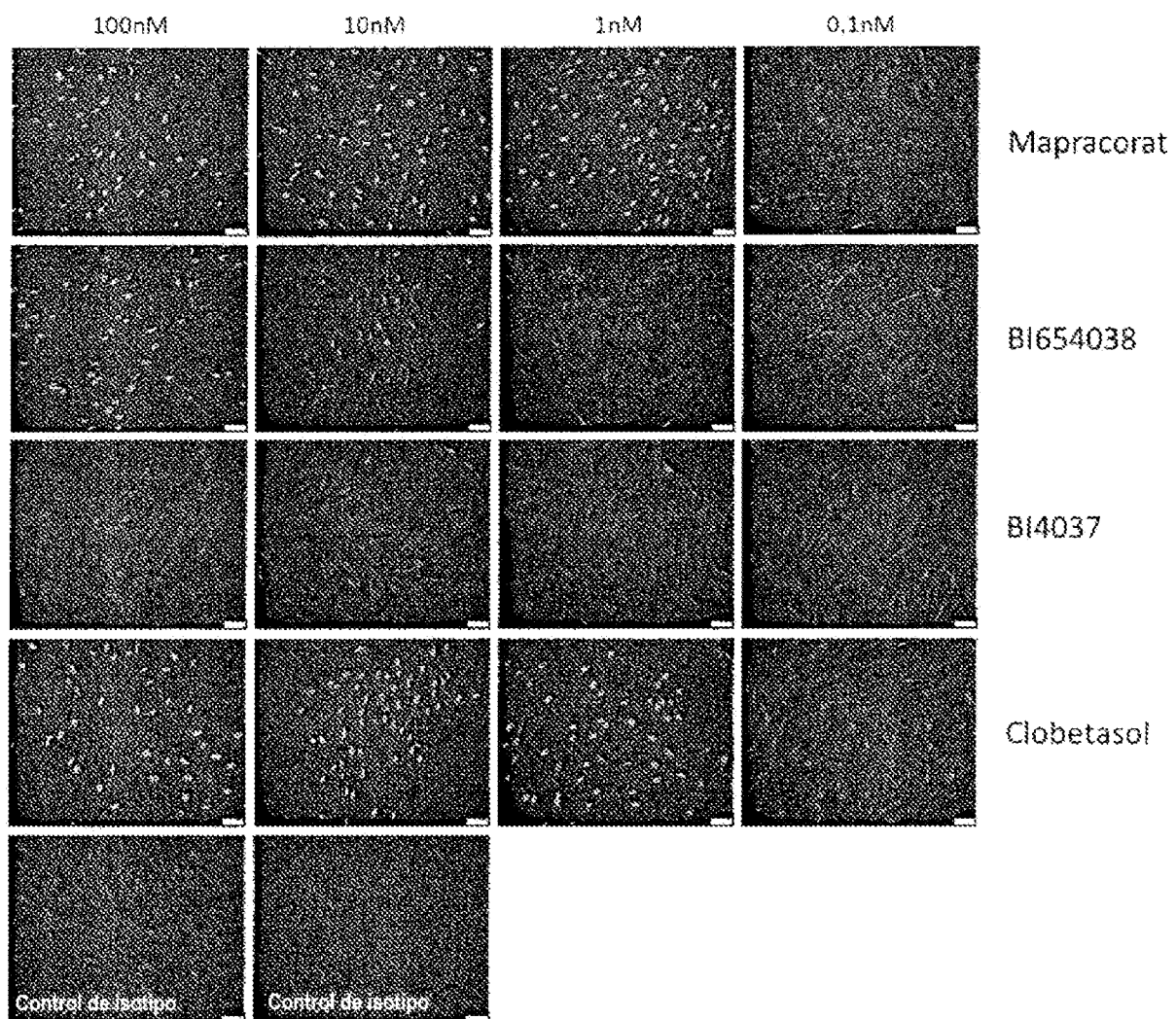


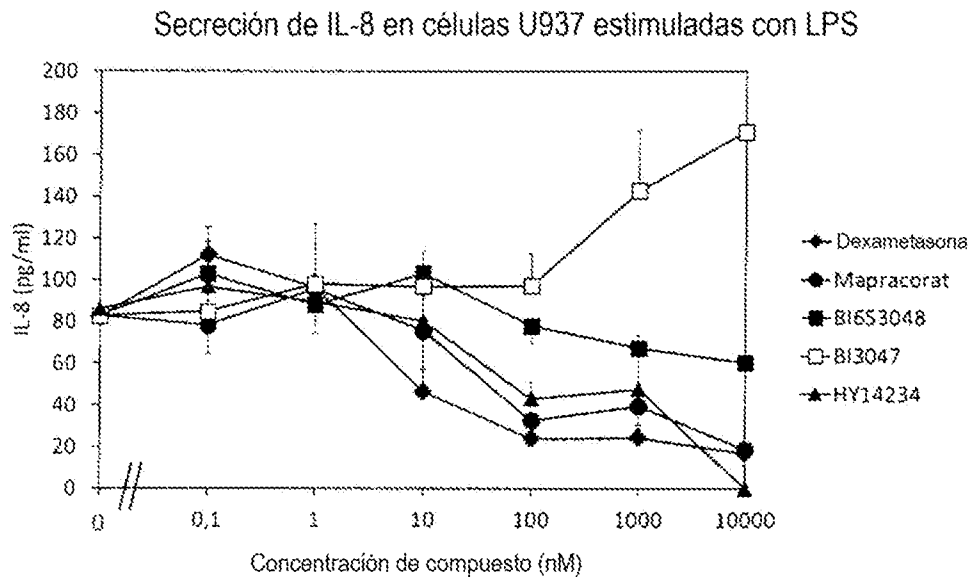
Figura 15

	WE	Mapracorat
WE-04	100	745
WE-05	100	431
WE-06	100	317
WE-07	100	307
WE-08	100	296
WE-09	100	294
WE-10	100	289
WE-11	100	269
WE-12	100	265
WE-13	100	260
WE-14	100	256
WE-15	100	255
WE-16	100	249
WE-17	100	246
WE-18	100	241
WE-19	100	240
WE-20	100	239
WE-21	100	235
WE-22	100	231
WE-23	100	230
WE-24	100	227
WE-25	100	224
WE-03	100	220
WE-26	100	217
WE-27	100	216
WE-28	100	209
WE-29	100	208
WE-02	100	207
WE-30	100	205
WE-31	100	201
WE-32	100	197
WE-33	100	195
WE-34	100	194
WE-35	100	189
WE-01	100	189
WE-36	100	187
WE-37	100	183
WE-38	100	183

	WE	Mapracorat
WE-39	100	182
WE-40	100	182
WE-41	100	182
WE-42	100	179
WE-43	100	178
WE-44	100	173
WE-45	100	173
WE-46	100	166
WE-47	100	166
WE-48	100	165
WE-49	100	159
WE-50	100	158
WE-51	100	151
WE-52	100	150
WE-53	100	150
WE-54	100	148
WE-55	100	147
WE-56	100	146
WE-57	100	146
WE-58	100	142
WE-59	100	141
WE-60	100	140
WE-61	100	138
WE-62	100	136
WE-63	100	135
WE-64	100	134
WE-65	100	132
WE-66	100	132
WE-67	100	131
WE-68	100	130
WE-69	100	128
WE-70	100	127
WE-71	100	127
WE-72	100	125
WE-73	100	125
WE-74	100	124
WE-75	100	123
WE-76	100	122

Figura 16

A)



B)

