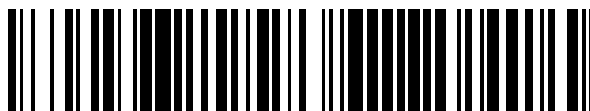


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 727 787**

51 Int. Cl.:

C12N 5/16 (2006.01)

C12N 5/0789 (2010.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **15.11.2010** **PCT/US2010/056744**

87 Fecha y número de publicación internacional: **19.05.2011** **WO11060381**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **15.11.2010** **E 10830872 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **01.05.2019** **EP 2499242**

54 Título: **Métodos para mejorar el suministro y el injerto de células madre incluida la identificación de receptores específicos de prostaglandina E₂**

30 Prioridad:

15.11.2009 US 261352 P

15.11.2009 US 261349 P

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

18.10.2019

73 Titular/es:

**INDIANA UNIVERSITY RESEARCH &
TECHNOLOGY CORPORATION (100.0%)
Office of Technology Transfer,
351 West 10th Street
Indianapolis, IN 46202, US**

72 Inventor/es:

**PELUS, LOUIS M. y
HOGGATT, JONATHAN**

74 Agente/Representante:

SÁEZ MAESO, Ana

ES 2 727 787 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

Métodos para mejorar el suministro y el injerto de células madre incluida la identificación de receptores específicos de prostaglandina E₂

Declaración de derechos gubernamentales

Parte del trabajo durante el desarrollo de esta invención se realizó con el apoyo del gobierno del Instituto Nacional de Salud (NIH) con el número de subvención HL069669. El Gobierno de los Estados Unidos tiene ciertos derechos en la invención.

Campo de la invención

La presente invención se refiere al uso de un agonista de EP₄ de PGE₂ para aumentar la migración o el injerto de células madre o progenitoras hematopoyéticas CD34+ humanas cuando se trasplantan en un paciente. La invención también se refiere a un agonista de EP₄ de PGE₂ que interactúa preferentemente con un receptor EP₄ de PGE₂ en una célula madre o progenitora hematopoyética CD34+ humana, para usar en el aumento de la migración o el injerto de células madre o progenitoras hematopoyéticas CD34+ humanas cuando se trasplantan en un paciente.

Antecedentes de la invención

El trasplante de médula ósea, incluidos los procedimientos más populares de trasplante de células madre de sangre periférica movilizada y el trasplante de sangre de cordón umbilical se usan habitualmente como procedimientos curativos para enfermedades hematológicas malignas y no malignas y trastornos genéticos. Estos procedimientos requieren que los injertos hematopoyéticos que contienen cantidades suficientes de poblaciones de células madre y progenitoras se obtengan de donantes sanos normales o de pacientes en un momento de baja o ausencia de enfermedad y subsecuentemente, se administren a pacientes cuyo sistema hematopoyético y presunta enfermedad del tejido se haya erradicado. Después del trasplante, las células madre apropiadas viajan o "migran" a los nichos microambientales apropiados de la médula ósea. Una vez alojadas dentro de los nichos apropiados, estas células proliferan y producen nuevas células madre, un proceso denominado auto-renovación. Las células también se diferencian en células progenitoras de linaje restringido y células maduras, restaurando de esta manera el sistema hematopoyético que forma la sangre durante la vida del receptor. Se requieren células progenitoras en los injertos para producir también células maduras; sin embargo, dado que no son células madre y no pueden auto-renovarse, su participación está limitada en el tiempo de vida. Los procedimientos de trasplante exitosos requieren que se obtengan suficientes células del donante y se administren al receptor. La necesidad de grandes cantidades de células se ve agravada por el hecho de que los procedimientos de obtención y el proceso de migración y de injerto son estresantes para las células del injerto, lo que resulta en la pérdida de una porción de las células en el injerto. Hoggatt y otros, describieron el uso del agonista de EP₄ de PGE₂ dmPGE₂ para facilitar el trasplante hematopoyético (injerto) al mejorar la migración y supervivencia de la célula madre (Hoggatt y otros, 2009). El documento WO2007/112084 describe el uso del agonista de EP₄ de PGE₂ dmPGE₂ para facilitar el trasplante hematopoyético (injerto) mediante la mejora de la migración, supervivencia y crecimiento de la célula madre. Se contemplan agonistas de PGE₂ adicionales para el mismo propósito. El documento WO2008/070310 describe el uso de los agonistas de EP₄ de PGE₂ L-902,688 y APS-999 en células madre hematopoyéticas usadas en trasplantes. El documento WO2010/108028 describe el tratamiento ex vivo de células madre hematopoyéticas antes del trasplante para mejorar el injerto con agonistas de EP₄ de PGE₂, incluidos dmPGE₂ y agonistas de EP₄ no basados en PGE₂ como ONO-4819, APS-999 Na, AH23848 y ONO-AEI-329.

En particular, los injertos de sangre del cordón umbilical contienen un número limitado de células madre y, por esta razón, por lo general no pueden usarse rutinariamente para el trasplante de adultos. De manera similar, el 10-25 % de los donantes normales y hasta el 75 % de las poblaciones específicas de pacientes, particularmente aquellos expuestos a ciertos agentes quimioterapéuticos, por ejemplo, fludarabina, no logran movilizar suficientes células para usar en procedimientos de trasplante. En general, cuanto mayor sea el número de células viables que puedan trasplantarse, mayores serán las posibilidades de un tratamiento exitoso. Por consiguiente, existe la necesidad de nuevos agentes y/o metodologías que puedan aumentar el número de células madre hematopoyéticas o células progenitoras en el trasplante o alternativamente facilitar o mejorar su migración hacia la médula ósea. Algunos aspectos de la presente invención buscan abordar esta necesidad.

Resumen

En un primer aspecto, la invención se refiere al uso de un agonista de EP₄ de PGE₂ para aumentar la migración o el injerto de células madre o progenitoras hematopoyéticas CD34+ humanas cuando se trasplantan en un paciente humano, que comprende:

poner en contacto células madre o progenitoras hematopoyéticas CD34+ humanas in vitro con una cantidad terapéuticamente eficaz de un agonista de EP₄ de PGE₂, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, que interactúa preferentemente con un receptor EP₄ de PGE₂ en las células en donde el agonista de EP₄ de PGE₂ es 16-(3-Metoximetil)fenil-ω-tetranor-5-tiaPGE₂; 5-{3-[(2S)-2-[(3R)-3-hidroxi-4-[3-(trifluorometil)fenil]butil]-5-oxopirrolidin-1-il]propil]tiofeno-2-carboxilato; (ácido (Z)-7-{(1R,4S,5R)-5-[(E)-5-(3-cloro-benzo[b]tiofeno-2-il)-3-hidroxi-pent-1-enil]-4-

- hidroxi-3,3-dimetil-2-oxo-ciclopentil]-hept-5-enoico) y 5-[(1E,3R)-4,4-difluoro-3-hidroxi-4-fenil-1-buten-1-il]-1-[6-(2H-tetrazol-5R-il)hexil]-2-pirrolidinona o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos; en donde las células madre o progenitoras hematopoyéticas CD34+ humanas puestas en contacto han aumentado la migración o el injerto cuando se trasplantan en un paciente en comparación con las células madre o progenitoras hematopoyéticas humanas no puestas en contacto y en donde la cantidad terapéuticamente eficaz del agonista de EP₄ de PGE₂ o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, está entre aproximadamente 0,001 µM a aproximadamente 10 µM.
- En un segundo aspecto, la invención se refiere a un agonista de EP₄ de PGE₂ que interactúa preferentemente con un receptor EP₄ de PGE₂ en una célula madre o progenitora hematopoyética CD34+ humana, en donde el agonista de EP₄ de PGE₂ es 16-(3-Metoximetil)fenil-ω-tetranor-5-tiaPGE; 5-{3-[(2S)-2-[(3R)-3-hidroxi-4-[3-(trifluorometil)fenil]butil]-5-oxopirrolidin-1-il]propil]tiofeno-2-carboxilato; (ácido (Z)-7-[(1R,4S,5R)-5-[(E)-5-(3-cloro-benzo[b]tiofeno-2-il)-3-hidroxi-pent-1-enil]-4-hidroxi-3,3-dimetil-2-oxo-ciclopentil]-hept-5-enoico) y 5-[(1E,3R)-4,4-difluoro-3-hidroxi-4-fenil-1-buten-1-il]-1-[6-(2H-tetrazol-5R-il)hexil]-2-pirrolidinona o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, para usar en el aumento de la migración o injerto de células madre o progenitoras hematopoyéticas CD34+ humanas cuando se trasplantan en un paciente humano, en donde el agonista de EP₄ de PGE₂, o la sal farmacéuticamente aceptable del mismo, se proporciona en una cantidad terapéuticamente eficaz que incrementa la migración o el injerto de células madre o progenitoras hematopoyéticas CD34+ humanas cuando las células se trasplantan en un paciente humano y en donde la cantidad terapéuticamente eficaz de agonista de EP₄ de PGE₂ o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, está entre aproximadamente 0,001 µM a aproximadamente 10 µM.
- En una modalidad, el agonista de EP₄ de PGE₂ es 5-[(1E,3R)-4,4-difluoro-3-hidroxi-4-fenil-1-buten-1-il]-1-[6-(2H-tetrazol-5R-il)hexil]-2-pirrolidinona (L-902,688) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.
- En otra modalidad, el paciente es un receptor de un injerto que comprende las células madre o progenitoras hematopoyéticas.
- En otra modalidad, las células madre y progenitoras hematopoyéticas se obtuvieron de un donante.
- En otra modalidad, la cantidad terapéuticamente eficaz del agonista de EP₄ de PGE₂ o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo es de aproximadamente 1,0 x 10⁶ por ml a aproximadamente 1,0 x10⁷ por ml de las células madre o progenitoras hematopoyéticas.
- En otra modalidad las células madre o progenitoras hematopoyéticas se obtuvieron de médula, cordón umbilical o sangre periférica.
- En otra modalidad el donante y el receptor de las células madre o progenitoras hematopoyéticas son el mismo paciente humano.
- En la presente descripción también se describen métodos para tratar un donante o células donantes o un receptor de células madre o progenitoras hematopoyéticas, que comprende las etapas de proporcionar al menos un compuesto que interactúa preferentemente con el receptor EP₄ de PGE₂ en células madre o progenitoras hematopoyéticas o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y administrar una dosis terapéuticamente aceptable del compuesto a un paciente que lo necesite. Estos compuestos pueden seleccionarse del grupo que consiste en: ácido 2-[3-(1R,2S,3R)-3-hidroxi-2-[(E,3S)-3-hidroxi-5-[2-(metoximetil)fenil]pent-1-enil]-5-oxociclopentil]sulfanilpropilsulfanil]acético; metil 4-[2-[(1R,2R,3R)-3-hidroxi-2-[(E,3S)-3-hidroxi-4-[3-(metoximetil)fenil]but-1-enil]-5-oxociclopentil]etilsulfanil]butanoato; 16-(3-metoximetil)fenil-ω-tetranor-5-tiaPGE; 5-{3-[(2S)-2-[(3R)-3-hidroxi-4-[3-(trifluorometil)fenil]butil]-5-oxopirrolidin-1-il]propil]tiofeno-2-carboxilato; ácido [4'-[3-butil-5-oxo-1-(2-trifluorometil-fenil)-1,5-dihidro-[1,2,4]triazol-4-ilmetil]-bifenil-2-sulfónico (3-metil-tiofeno-2-carbonil)-amida]; y (ácido (Z)-7-[(1R,4S,5R)-5-[(E)-5-(3-cloro-benzo[b]tiofeno-2-il)-3-hidroxi-pent-1-enil]-4-hidroxi-3,3-dimetil-2-oxo-ciclopentil]-hept-5-enoico).
- El paciente puede ser un receptor de un injerto, en donde el injerto incluye al menos un tipo de célula que se selecciona del grupo que consiste en células madre hematopoyéticas y células progenitoras que se han tratado con un agonista que se une preferentemente al receptor EP₄.
- Los métodos descritos en la presente descripción pueden incluir el tratamiento de un donante, células donantes o un receptor de células madre o progenitoras hematopoyéticas, que comprende las etapas de: proporcionar al menos un compuesto que interactúa preferentemente con el receptor EP₄ de PGE₂, en células madre o progenitoras hematopoyéticas, o un sal farmacéuticamente aceptable del mismo; y administrar una dosis terapéuticamente aceptable del compuesto a un paciente en el que el paciente es un donante o un receptor de células madre o progenitoras hematopoyéticas. En muchos de estos métodos el compuesto aumenta la migración y/o el injerto de las células madre o progenitoras hematopoyéticas.
- Los compuestos que interactúan con el receptor EP₄ de PGE₂ incluyen compuestos que se seleccionan de los grupos que consisten en: ácido 2-[3-(1R,2S,3R)-3-hidroxi-2-[(E,3S)-3-hidroxi-5-[2-(metoximetil)fenil]pent-1-enil]-5-oxociclopentil]sulfanilpropilsulfanil]acético; metil 4-[2-[(1R,2R,3R)-3-hidroxi-2-[(E,3S)-3-hidroxi-4-[3-(metoximetil)fenil]but-

1-enil]-5-oxociclopentil]etilsulfanil]butanoato; 16-(3-Metoximetil)fenil- ω -tetranor-5-tiaPGE; 5-{3-[(2S)-2-[(3R)-3-hidroxi-4-[3-(trifluorometil)fenil]butil]-5-oxopirrolidin-1-il]propil]tiofeno-2-carboxilato; ácido [4'-[3-butil-5-oxo-1-(2-trifluorometil-fenil)-1,5-dihidro-[1,2,4]triazol-4-ilmetil]-bifenil-2-sulfónico (3-metil-tiofeno-2-carbonil)-amida]; y (ácido (Z)-7-[(1R,4S,5R)-5-[(E)-5-(3-cloro-benzo[b]tiofeno-2-il)-3-hidroxi-pent-1-enil]-4-hidroxi-3,3-dimetil-2-oxo-ciclopentil]-hept-5-enoico) o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos. Otro compuesto más que interactúa con el receptor EP₄ de PGE₂ y que puede usarse es el compuesto 5-[(1E,3R)-4,4-difluoro-3-hidroxi-4-fenil-1-buten-1-il]-1-[6-(2H-tetrazol-5R-il)hexil]-2-pirrolidinona o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

El injerto receptor puede incluir al menos un tipo de célula que se selecciona del grupo que consiste en células madre hematopoyéticas y células progenitoras que se tratan con un agonista de EP₄. Los pacientes humanos o animales pueden tratarse con estos compuestos o con células que se trataron primero con estos compuestos in vivo o in vitro.

En la presente descripción también se describen métodos para tratar a un paciente humano o animal, que comprende las etapas de: proporcionar una cantidad terapéuticamente eficaz de un agonista de EP₄ de PGE₂ o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo; obtener una célula madre o progenitora hematopoyética de un donante; y poner en contacto el agonista de EP₄ de PGE₂ con una célula madre o progenitora hematopoyética, en donde la célula madre o progenitora hematopoyética se obtuvo del donante.

Los compuestos que pueden ponerse en contacto con células madre o progenitoras hematopoyéticas incluyen, compuestos que se seleccionan del grupo que consiste en: ácido 2-[3-(1R,2S,3R)-3-hidroxi-2-[(E,3S)-3-hidroxi-5-[2-(metoximetil)fenil]pent-1-enil]-5-oxociclopentil]sulfanilpropilsulfanil]acético; metil 4-[2-[(1R,2R,3R)-3-hidroxi-2-[(E,3S)-3-hidroxi-4-[3-(metoximetil)fenil]but-1-enil]-5-oxociclopentil]etilsulfanil]butanoato; 16-(3-Metoximetil)fenil- ω -tetranor-5-tiaPGE; 5-{3-[(2S)-2-[(3R)-3-hidroxi-4-[3-(trifluorometil)fenil]butil]-5-oxopirrolidin-1-il]propil]tiofeno-2-carboxilato; ácido [4'-[3-butil-5-oxo-1-(2-trifluorometil-fenil)-1,5-dihidro-[1,2,4]triazol-4-ilmetil]-bifenil-2-sulfónico (3-metil-tiofeno-2-carbonil)-amida]; y (ácido (Z)-7-[(1R,4S,5R)-5-[(E)-5-(3-cloro-benzo[b]tiofeno-2-il)-3-hidroxi-pent-1-enil]-4-hidroxi-3,3-dimetil-2-oxo-ciclopentil]-hept-5-enoico) o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos. Aún otro compuesto que puede usarse es 5-[(1E,3R)-4,4-difluoro-3-hidroxi-4-fenil-1-buten-1-il]-1-[6-(2H-tetrazol-5R-il)hexil]-2-pirrolidinona o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. Tal como se describe en la presente descripción, las células madre o progenitoras hematopoyéticas tratadas con estos compuestos u otro agonista de EP₄ de PGE₂ pueden administrarse a un paciente humano o animal.

Las células madre o progenitoras hematopoyéticas tratadas y usadas para tratar a un receptor humano o animal pueden obtenerse de médula, cordón umbilical o sangre periférica obtenida de un donante humano o animal. El donante y el receptor de las células madre o progenitoras hematopoyéticas pueden ser el mismo paciente humano o animal.

En la presente descripción también se describe un método para cambiar la actividad de una célula, que comprende las etapas de: proporcionar una célula madre o progenitora hematopoyética, en donde las células expresan al menos un receptor EP₄ de PGE₂; suministrando al menos un compuesto que interactúa preferentemente con el receptor EP₄ de PGE₂ o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo; y poner en contacto la célula madre o progenitora hematopoyética con el compuesto. La célula madre o progenitora hematopoyética puede aislarse de la médula ósea, el cordón umbilical o la sangre periférica. Poner en contacto las células con el(los) compuesto(s) puede aumentar la migración de las células y/o el potencial de injerto de las células. Los compuestos en contacto con las células pueden incluir al menos un compuesto que se selecciona del grupo que consiste en: ácido 2-[3-(1R,2S,3R)-3-hidroxi-2-[(E,3S)-3-hidroxi-5-[2-(metoximetil)fenil]pent-1-enil]-5-oxociclopentil]sulfanilpropilsulfanil]acético; metil 4-[2-[(1R,2R,3R)-3-hidroxi-2-[(E,3S)-3-hidroxi-4-[3-(metoximetil)fenil]but-1-enil]-5-oxociclopentil]etilsulfanil]butanoato; 16-(3-Metoximetil)fenil- ω -tetranor-5-tiaPGE; 5-{3-[(2S)-2-[(3R)-3-hidroxi-4-[3-(trifluorometil)fenil]butil]-5-oxopirrolidin-1-il]propil]tiofeno-2-carboxilato; ácido [4'-[3-butil-5-oxo-1-(2-trifluorometil-fenil)-1,5-dihidro-[1,2,4]triazol-4-ilmetil]-bifenil-2-sulfónico (3-metil-tiofeno-2-carbonil)-amida]; y (ácido (Z)-7-[(1R,4S,5R)-5-[(E)-5-(3-cloro-benzo[b]tiofeno-2-il)-3-hidroxi-pent-1-enil]-4-hidroxi-3,3-dimetil-2-oxo-ciclopentil]-hept-5-enoico) o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos. Como se describe en la presente descripción, al menos uno de los compuestos puede ser 5-[(1E,3R)-4,4-difluoro-3-hidroxi-4-fenil-1-buten-1-il]-1-[6-(2H-tetrazol-5R-il)hexil]-2-pirrolidinona o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. Como se describe en la presente descripción, la cantidad de compuesto terapéuticamente eficaz en contacto con las células puede ser de aproximadamente 0,001-10 microMolar. Como se describe en la presente descripción, el número de células tratadas con el compuesto puede ser del orden de aproximadamente 10⁶ a aproximadamente 10⁷ células por ml.

En la presente descripción también se describen métodos para tratar un donante, células donantes o un receptor de células madre o progenitoras hematopoyéticas que comprende la etapa de administrar al donante, células donantes o receptor una cantidad terapéuticamente eficaz de un agonista de EP₄.

Breve descripción de las figuras

Figura 1. Gráfico que ilustra que el tratamiento de células con agonista de EP₄ ex vivo regula positivamente la expresión de CXCR4 en células CD34⁺ de manera específica.

Figura 2. Gráfico que ilustra que la señalización a través del receptor EP₄ es responsable de la regulación positiva de la expresión de CXCR4.

Descripción

Con el propósito de promover una comprensión de los principios de la tecnología, ahora se hará referencia a las modalidades preferidas de esta y se usará un lenguaje específico para describir las mismas. Sin embargo, se entenderá que tales alteraciones, modificaciones y otras aplicaciones de los principios de la tecnología se contemplan, como ocurriría normalmente, por un experto en la técnica a la que se refiere la tecnología.

A menos que se indique lo contrario el término "cantidad terapéuticamente eficaz" se refiere a una cantidad de un compuesto farmacéuticamente activo, que cuando se administra a un ser humano o a un paciente animal o a una célula o colección de células ya sea solo o en combinación con otros ingredientes farmacéuticamente activos u otros componentes de medicamentos, tiene un efecto conveniente sobre la condición fisiológica de un paciente o la célula o colección de células.

Las dosis terapéuticamente eficaces, beneficiosas o eficientes de varios compuestos que se unen preferentemente a los receptores EP₄ de PGE₂ administrados in vivo a un paciente humano o animal están en el intervalo de aproximadamente 0,1 mg del compuesto por kg de peso corporal del paciente por día a aproximadamente 100 mg del compuesto por kg de peso corporal del paciente por día.

Los compuestos que se unen preferentemente a los receptores EP₄ de PGE₂ son compuestos que tienen una mayor afinidad por el receptor EP₄ que por cualquiera de los otros tres receptores EP, específicamente, EP₁, EP₂ y EP₃.

Los compuestos que pueden usarse para poner en práctica la descripción incluyen los siguientes: 5-[(1E,3R)-4,4-difluoro-3-hidroxi-4-fenil-1-buten-1-il]-1-[6-(2H-tetrazol-5R-il)hexil]-2-pirrolidinona también referida como L-902,688 (Young y otros, 2004); ácido 2-[3-[(1R,2S,3R)-3-hidroxi-2-[(E,3S)-3-hidroxi-5-[2-(metoximetil)fenil]pent-1-enil]-5-oxociclopentil]sulfanilpropilsulfanil]acético también referido como ONO-AE1-329 (Suzawa y otros, 2000); metil 4-[2-[(1R,2R,3R)-3-hidroxi-2-[(E,3S)-3-hidroxi-4-[3-(metoximetil)fenil]but-1-enil]-5-oxociclopentil]etilsulfanil]butanoato también referido como ONO-4819 (Maruyama y otros, 2002; Ohta y otros, 2009); 16-(3-Metoximetil)fenil-ω-tetranor-5-tiaPGE₁ (Maruyama y otros, 2002); 5-{3-[(2S)-2-[(3R)-3-hidroxi-4-[3-(trifluorometil)fenil]butil]-5-oxopirrolidin-1-il]propil]tiofeno-2-carboxilato también referido como PF-04475270 (Luu y otros, 2009); APS-999 Na (El-Nefrawy y otros, 2005); ácido [4'-(3-butyl-5-oxo-1-(2-trifluorometil-fenil)-1,5-dihidro-[1,2,4]triazol-4-ilmetil]-bifenil-2-sulfónico (3-metil-tiofeno-2-carbonil)-amida] (Machwate y otros, 2001); y (ácido (Z)-7-[(1R,4S,5R)-5-[(E)-5-(3-cloro-benzo[b]tiofeno-2-il)-3-hidroxi-pent-1-enil]-4-hidroxi-3,3-dimetil-2-oxo-ciclopentil]-hept-5-enoico) solicitud de patente de Estados Unidos núm. US2005/0164992A1, 28 de julio de 2005, de Donde Y, Nguyen JH, Kedzie KM, Gil DM, Donello JE e Im WB.

A menos que se indique lo contrario el término "aproximadamente" como se usa en la presente descripción se refiere a un intervalo de valor de más o menos 10 %, por ejemplo, "aproximadamente 1,0" incluye valores entre 0,9 y 1,1.

El tratamiento de células de la médula ósea, células del cordón umbilical, células de sangre periférica movilizadas o cualquier injerto de células hematopoyéticas para usarse en el trasplante hematopoyético con Prostaglandina E₂ (PGE₂) o cualquier análogo o metabolito activo de PGE₂ o cualquier prostaglandina de la serie E con especificidad para el receptor EP₄ de PGE₂, mejora la migración, supervivencia y proliferación de las células madre hematopoyéticas trasplantadas. Este tratamiento puede usarse para aumentar el índice de injertos de las células madre y de ese modo mejorar la eficiencia del trasplante de células madre hematopoyéticas.

Según algunas estimaciones el éxito del trasplante de células madre de sangre periférica requiere la administración de aproximadamente 2 millones de células CD34⁺ por kilogramo de peso corporal del paciente receptor. Cualquier agente, combinación de agentes o manipulaciones que aumente el número de células madre que pueda obtenerse, mejora sus índices de supervivencia, aumenta su capacidad de albergar el entorno medular apropiado y/o aumenta su auto-renovación y las índices de proliferación probablemente tendrán un impacto positivo sobre la eficacia de los procedimientos de trasplante hematopoyético. El éxito de estos procedimientos puede medirse en términos de reducción de la morbilidad y mortalidad del paciente. Se han realizado numerosos estudios para tratar de ampliar el número de células madre hematopoyéticas humanas dentro de injertos aislados en entornos ex vivo, con un éxito limitado (Broxmeyer, 2006; Haylock y Nilsson, 2007). Recientemente, se ha demostrado que el antagonista de CXCR4 AMD3100 mejora la movilización de células madre (Broxmeyer y otros, 2005; Liles y otros, 2003) y en ensayos clínicos, (Plerixafor; Mozobil) ha mejorado la obtención de células madre movilizadas cuando se usa en combinación con G-CSF (DiPersio y otros, 2007b; DiPersio y otros, 2007a). El truncamiento de las quimioquinas se ha usado como un método para mejorar la capacidad del cuerpo para movilizar células madre. Algunos de estos métodos han sido patentados, por ejemplo, patentes de Estados Unidos núms. 6080398; 6447766B1; 639053B1; 6713052. También se ha informado sobre su capacidad para movilizar más eficientemente las células madre (King y otros, 2001; Pelus y otros, 2004). Se ha informado un papel para bloquear la actividad de una peptidasa de superficie (CD26) como un método para mejorar la migración de células madre hematopoyéticas (Christopherson y otros, 2004).

Se ha informado que un número de agentes, cuando se usan en combinación con G-CSF, aumentan el número de células progenitoras hematopoyéticas que pueden recuperarse (Pelus y Fukuda, 2007; Herbert y otros, 2007), sin embargo, la capacidad de estos agentes para movilizar a largo plazo la repoblación de células madre, es decir, las células madre con actividad de auto-renovación, no se ha demostrado de manera uniforme. Un estudio reciente ha demostrado que la

exposición al pulso de las células de la médula ósea de ratón a 16,16 dimetil pGE₂ (dmpGE₂) mejora el injerto de células madre hematopoyéticas, sin embargo, este estudio no proporciona evidencia del mecanismo de acción y específicamente establece que el efecto de la PGE₂ no está en la migración celular (North y otros, 2007). Inesperadamente Hoggatt y otros, 2009, demostraron que PGE₂ aumenta el receptor de CXCR4 en las células madre y progenitoras hematopoyéticas y que este incremento es responsable del aumento de la migración al nicho de la médula ósea, lo que resulta en un aumento posterior en el injerto.

En general se cree que la PGE₂ interactúa con 4 receptores acoplados a proteína G (GPCR) altamente conservados; EP₁, EP₂, EP₃ y EP₄ que dan cuenta de los efectos múltiples, a veces opuestos, atribuidos a PGE₂ (Breyer y otros, 2001). Los niveles de expresión del receptor EP varían entre los diferentes tejidos, siendo el ARNm de EP₃ y EP₄ el más abundante (Sugimoto y Narumiya, 2007a) y el ARNm de EP₂ expresado a niveles más bajos que el de EP₄ en la mayoría de los tejidos (Katsuyama y otros, 1995). EP₁ activa la fosfolipasa C (PLC) a través de una proteína G no identificada (Tsuboi y otros, 2002), que aumenta el Ca²⁺ intracelular acoplado a fosfatos de inositol que resulta en la activación de la fosfoquinasa C (PKC) (Breyer y otros, 2001). La ligadura del receptor EP₃ da como resultado la inhibición de la adenilato ciclasa y la disminución del AMPc que está ligado a G_i (Sugimoto y otros, 2007). Se han identificado múltiples variantes de empalme de EP₃ y, en dependencia del empalme C-terminal, pueden acoplarse a múltiples proteínas G (Namba y otros, 1993). EP₂ y EP₄ se acoplan a G_s conduciendo a la activación de la adenilato ciclasa y al aumento de AMPc, la activación de la proteína quinasa A (PKA), así como también Rap1, Rac 1 y PKCζ (PKC zeta), una isoforma única implicada en la función HSC (Goichberg y otros, 2006). Se cree que EP₂ y EP₄ tienen funciones parcialmente redundantes en algunos sistemas, mientras que en otros desempeñan funciones distintas (Sugimoto y Narumiya, 2007). EP₄ pero no EP₂ puede activar la vía PI3K/Akt además de la adenilato ciclasa (Fujino y otros, 2003). EP₄ tiene un dominio citosólico más largo que permite una mayor fosforilación dependiente de ligando y una desensibilización más rápida (Nishigaki y otros, 1996) que permite un lazo retroalimentación negativa selectiva (Sugimoto y Narumiya, 2007). Por último, EP₄ se internaliza cuando se activa, mientras que EP₂ no (Desai y otros, 2000). Como consecuencia, EP₂ y EP₄ pueden tener diferentes funciones basadas en la continuación o atenuación de las señales generadas por la activación del receptor (Breyer y otros, 2001). El tratamiento con PGE₂ a menudo muestra una curva de dosis-respuesta "en forma de campana" que sugiere que se activa un repertorio diferente de receptores EP dependiente de la concentración de PGE₂ (Hull y otros, 2004).

La mayoría de las estrategias actuales para mejorar el trasplante hematopoyético utilizando prostaglandina han usado PGE₂ nativo o un derivado de acción prolongada de PGE₂, 16,16 dimetil-prostaglandina E₂ (dmPGE₂). Se cree que estos compuestos de prostaglandina activan los 4 receptores EP, lo que conduce a los numerosos eventos de señalización descendente descritos brevemente con anterioridad. Como se demuestra en la presente descripción, la mejora en la migración y el injerto de las células madre y progenitoras hematopoyéticas se debe a la regulación positiva del receptor de CXCR4 mediante el tratamiento con prostaglandina. El enfoque específico en el receptor EP, que es responsable del aumento en CXCR4, (el receptor EP₄) tiene la ventaja de mejorar el proceso injerto sin activar los receptores que pueden ser perjudiciales para el proceso de injerto y/o tienen otras consecuencias perjudiciales desconocidas.

El tratamiento con un agonista selectivo de E4 afecta la eficiencia de la migración y el injerto.

Los injertos hematopoyéticos no manipulados o las poblaciones de células madre hematopoyéticas purificadas (por ejemplo, células SKL en ratones o células CD34⁺ en humanos) se incuban con un agonista específico de EP₄: 5-[(1E,3R)-4,4-difluoro-3-hidroxi-4-fenil-1-buten-1-il]-1-[6-(2H-tetrazol-5R-il)hexil]-2-pirrolidinona (es decir, L-902,688), en hielo o a temperatura ambiente a concentraciones de agonista 0,001-10 microMolar por 1-10 millones de células en 1 ml de medio de cultivo, por ejemplo, IMDM, durante 15 minutos - 6 h. Después de la incubación, las células se lavan 3 veces en medio estéril o solución salina y se administran a los receptores, por vía intravenosa. L-902,688 fue un generoso regalo de Merck Frosst (Kirkland, Canadá) (Young y otros, 2004).

Con referencia ahora a la Figura 1. Este gráfico ilustra que el tratamiento de células con agonista de EP₄ ex vivo regula positivamente la expresión de CXCR4 en células CD34⁺ de manera positiva. El inserto muestra histogramas de citometría de células CD34⁺ de muestras de sangre de cordón que muestran una regulación positiva significativa de CXCR4 en la superficie de las células CD34⁺ después de la exposición a pulso al agonista de EP₄ (línea clara) y dmPGE₂ (línea oscura) en comparación con el control isotipo (área sombreada en gris). Los datos del indicador del gráfico de barras medidos a partir de tales experimentos representados en función de diferentes compuestos usados dmPGE₂, butaprostona, sulprostona y EP₄.

Con referencia ahora a la Figura 2. Este gráfico ilustra que la señalización a través del receptor EP₄ es responsable de la regulación positiva de la expresión de CXCR4. El inserto muestra datos de 3 muestras de sangre de cordón. El tratamiento con agonista de EP₄ ex vivo regula positivamente la expresión de CXCR4 en células CD34⁺. El gráfico de barras muestra datos combinados para 8 muestras. Los datos del gráfico de barras demuestran que el tratamiento ex vivo con agonista de EP₄ regula positivamente CXCR4 en aproximadamente 3 veces. En el gráfico de barras este esfuerzo se normaliza al 100 %. El pretratamiento de las células con un antagonista específico del receptor EP 1, 2 y 3 antes de la exposición al antagonista de EP₄ no tuvo ningún efecto sobre la regulación positiva de CXCR4, mientras que la preincubación con un antagonista selectivo de EP₄ antes de la exposición al agonista de EP₄ bloqueó significativamente la regulación positiva de CXCR4. El hecho de que la regulación positiva de CXCR4 por un agonista selectivo de EP₄ esté bloqueada por un antagonista selectivo de EP₄, pero no por el antagonista de EP1, 2, 3, proporciona evidencia adicional de que la regulación positiva está mediada a través del receptor EP₄.

Los métodos adicionales descritos en la presente descripción incluyen la administración de agonistas de EP₄ (por ejemplo, del orden de aproximadamente 0,001-10 microMolar) a pacientes inmediatamente antes y diariamente después de recibir un injerto hematopoyético como un medio de la mejora de la función de las célula madre. Las dosis terapéuticamente eficaces son cantidades del agente farmacéuticamente activo usado solo o en combinación con otro agente farmacéutico o material inerte que tiene un efecto beneficioso en un paciente humano o animal tratado de este modo. Tales beneficios pueden incluir, aumentar la efectividad de otras etapas en un régimen de tratamiento dado.

Referencias

Breyer, R.M., Bagdassarian, C.K., Myers, S.A. y Breyer, M.D. (2001). Prostanoid receptors: subtypes and signaling. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 41, 661-690.

Broxmeyer, H.E. (2006). Cord Blood Hematopoietic Stem and Progenitor Cells. In *Essentials of Stem Cell Biology*, Elsevier, Inc.), pp. 133-137.

Broxmeyer, H.E., Orschell, C.M., Clapp, D.W., Hangoc, G., Cooper, S., Plett, P.A., Liles, W.C., Li, X., Graham-Evans, B., Campbell, T.B., Calandra, G., Bridger, G., Dale, D.C. y Srour, E.F. (2005). Rapid mobilization of murine and human hematopoietic stem and progenitor cells with AMD3100, a CXCR4 antagonist. *J. Exp. Med.* 201, 1307-1318.

Christopherson, K.W., Hangoc, G., Mantel, C.R. y Broxmeyer, H.E. (2004). Modulation of hematopoietic stem cell homing and engraftment by CD26. *Science* 305, 1000-1003.

Desai, S., April, H., Nwaneshiudu, C. y Ashby, B. (2000). Comparison of agonist-induced internalization of the human EP2 and EP4 prostaglandin receptors: role of the carboxyl terminus in EP4 receptor sequestration. *Mol. Pharmacol.* 58, 1279-1286.

DiPersio, J. F., Micallef, I., Stiff, P., Bolwell, B. J., Maziarz, R. T., Angell, J., Bridger, G. y Calandra, G. A phase III, multicenter, randomized, double blind, placebo-controlled, comparative trial of AMD3100 (Pexiafor) + G-CSF vs. G-CSF + placebo for mobilization in Non-Hodgkins Lymphoma (NHL) patients for autologous hematopoietic stem cell (aHSC) transplantation. *Blood* 110, 185a. 2007a.
Tipo de referencia: Resumen

DiPersio, J. F., Stadtmauer, A. P., Nademanee, A. P., Stiff, P., Micallef, I., Angell, J., Bridger, G. y Calandra, G. A phase III, multicenter, randomized, double blind, placebo-controlled, comparative trial of AMD3100 (Pexiafor) + G-CSF vs. G-CSF + placebo for mobilization in multiple myeloma (MM) patients for autologous hematopoietic stem cell (aHSC) transplantation. *Blood* 110, 137a. 2007b.
Tipo de referencia: Resumen

El-Nefiawy, N., Abdel-Hakim, K. y Kanayama, N. (2005). The selective prostaglandin EP4 agonist, APS-999 Na, induces follicular growth and maturation in the rat ovary. *Eur. J. Endocrinol.* 152, 315-323.

Fujino H, Xu W, Regan JW. Prostaglandin E2 induced functional expression of early growth response factor-1 by EP4, but not EP2, prostanoid receptors via the phosphatidylinositol 3-kinase and extracellular signal-regulated kinases. *J. Biol. Chem.* 2003;278:12151-12156.

Goichberg P, Kalinkovich A, Borodovsky N y otros. cAMP-induced PKC ζ activation increases functional CXCR4 expression on human CD34+ hematopoietic progenitors. *Blood* 2006;107:870-879.

Haylock, D.N. y Nilsson, S.K. (2007). Expansion of umbilical cord blood for clinical transplantation. *Curr Stem Cell Res Ther* 2, 324-335.

Herbert, K.E., Walkley, C.R., Winkler, I.G., Hendy, J., Olsen, G.H., Yuan, Y.D., Chandraratna, R.A., Prince, H.M., Levesque, J.P. y Purton, L.E. (2007). Granulocyte colony-stimulating factor and an RAR α specific agonist, VTP195183, synergize to enhance the mobilization of hematopoietic progenitor cells. *Transplantation* 83, 375-384.

Hull, M.A., Ko, S.C. y Hawcroft, G. (2004). Prostaglandin EP receptors: targets for treatment and prevention of colorectal cancer? *Mol. Cancer Ther.* 3, 1031-1039.

Katsuyama, M., Nishigaki, N., Sugimoto, Y., Morimoto, K., Negishi, M., Narumiya, S. e Ichikawa, A. (1995). The mouse prostaglandin E receptor EP2 subtype: cloning, expression, and northern blot analysis. *FEBS Lett.* 372, 151-156.

King, A.G., Horowitz, D., Dillon, S.B., Levin, R., Farese, A.M., MacVittie, T.J. y Pelus, L.M. (2001). Rapid mobilization of murine hematopoietic stem cells with enhanced engraftment properties and evaluation of hematopoietic progenitor cell mobilization in rhesus monkeys by a single injection of SB-251353, a specific truncated form of the human CXC chemokine GRO β . *Blood* 97, 1534-1542.

- Liles, W.C., Broxmeyer, H.E., Rodger, E., Wood, B., Hubel, K., Cooper, S., Hangoc, G., Bridger, G.J., Henson, G.W., Calandra, G. y Dale, D.C. (2003). Mobilization of hematopoietic progenitor cells in healthy volunteers by AMD3100, a CXCR4 antagonist. *Blood* 102, 2728-2730.
- 5 Luu, K.T., Zhang, E.Y., Prasanna, G., Xiang, C., Anderson, S., Fortner, J. y Vicini, P. (2009). Pharmacokinetic-pharmacodynamic and response sensitization modeling of the intraocular pressure-lowering effect of the EP4 Agonist 5-{3-[(2S)-2-[(3R)-3-hydroxy-4-[3-(trifluoromethyl)phenyl]butyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl]propyl}thiophene-2-carboxylate (PF-04475270). *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 331, 627-635.
- 10 Machwate, M., Harada, S., Leu, C.T., Seedor, G., Labelle, M., Gallant, M., Hutchins, S., Lachance, N., Sawyer, N., Slipetz, D., Metters, K.M., Rodan, S.B., Young, R. y Rodan, G.A. (2001). Prostaglandin receptor EP(4) mediates the bone anabolic effects of PGE(2). *Mol. Pharmacol.* 60, 36-41.
- 15 Maruyama, T., Kuwabe, S.I., Kawanaka, Y., Shiraishi, T., Shinagawa, Y., Sakata, K., Seki, A., Kishida, Y., Yoshida, H., Maruyama, T., Ohuchida, S., Nakai, H., Hashimoto, S., Kawamura, M., Kondo, K. y Toda, M. (2002). Design and synthesis of a selective EP4-receptor agonist. Part 4: practical synthesis and biological evaluation of a novel highly selective EP4-receptor agonist. *Bioorg. Med. Chem.* 10, 2103-2110.
- 20 Namba T, Sugimoto Y, Negishi M y otros. Alternative splicing of C-terminal tail of prostaglandin E receptor subtype EP3 determines G-protein specificity. *Nature* 1993;365:166-170.
- Nishigaki, N., Negishi, M. e Ichikawa, A. (1996). Two Gs-coupled prostaglandin E receptor subtypes, EP2 and EP4, differ in desensitization and sensitivity to the metabolic inactivation of the agonist. *Mol. Pharmacol.* 50, 1031-1037.
- 25 North, T.E., Goessling, W., Walkley, C.R., Lengerke, C., Kopani, K.R., Lord, A.M., Weber, G.J., Bowman, T.V., Jang, I.H., Grosser, T., Fitzgerald, G.A., Daley, G.Q., Orkin, S.H. y Zon, L.I. (2007). Prostaglandin E2 regulates vertebrate haematopoietic stem cell homeostasis. *Nature* 447, 1007-1011.
- 30 Ohta, C., Kuwabe, S.I., Shiraishi, T., Shinohara, I., Araki, H., Sakuyama, S., Makiyama, T., Kawanaka, Y., Ohuchida, S. y Seko, T. (2009). An improved synthesis of the selective EP4 receptor agonist ONO-4819. *J. Org. Chem.* 74, 8298-8308.
- Pelus, L.M., Bian, H., King, A.G. y Fukuda, S. (2004). Neutrophil-derived MMP-9 mediates synergistic mobilization of hematopoietic stem and progenitor cells by the combination of G-CSF and the chemokines GRObeta/CXCL2 and GRObetaT/CXCL2delta4. *Blood* 103, 110-119.
- 35 Pelus, L.M. y Fukuda, S. (2007). Chemokine-mobilized adult stem cells; defining a better hematopoietic graft. *Leukemia*.
- Sugimoto, Y. y Narumiya, S. (2007a). Prostaglandin E receptors. *J. Biol. Chem.* 282, 11613-11617.
- 40 Suzawa, T., Miyaura, C., Inada, M., Maruyama, T., Sugimoto, Y., Ushikubi, F., Ichikawa, A., Narumiya, S. y Suda, T. (2000). The role of prostaglandin E receptor subtypes (EP1, EP2, EP3, and EP4) in bone resorption: an analysis using specific agonists for the respective EPs. *Endocrinology* 141, 1554-1559.
- Tsuboi, K., Sugimoto, Y. e Ichikawa, A. (2002). Prostanoid receptor subtypes. *Prostaglandins Other Lipid Mediat.* 68-69, 535-556.
- 45 Young, R. N., Billot, X., Han, Y., Slipetz, D. A., Chauret, N., Belley, M., Metters, K., Mathieu, M. C., Greig, G. M., Denis, D., (2004), Discovery and synthesis of a potent, selective and orally bioavailable EP4 receptor agonist. *Heterocycles* 64: 437-466

REIVINDICACIONES

1. El uso de un agonista de EP₄ de PGE₂ que comprende:
 poner en contacto células madre o progenitoras hematopoyéticas CD34+ humanas in vitro con una cantidad terapéuticamente eficaz de un agonista de EP₄ de PGE₂, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, que interactúa preferentemente con un receptor EP₄ de PGE₂ en las células, en donde el agonista de EP₄ de PGE₂ se selecciona del grupo que consiste en: 16-(3-Metoximetil)fenil-ω-tetranor-5-tiaPGE; 5-{3-[(2S)-2-[(3R)-3-hidroxi-4-[3-(trifluorometil)fenil]butil]-5-oxopirrolidin-1-il]propil]tiofeno-2-carboxilato; (ácido (Z)-7-[(1R,4S,5R)-5-[(E)-5-(3-cloro-benzo[b]tiofeno-2-il)-3-hidroxi-pent-1-enil]-4-hidroxi-3,3-dimetil-2-oxo-ciclopentil]-hept-5-enoico) y 5-[(1E,3R)-4,4-difluoro-3-hidroxi-4-fenil-1-buten-1-il]-1-[6-(2H-tetrazol-5R-il)hexil]-2-pirrolidinona o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos;
 en donde las células madre o progenitoras hematopoyéticas CD34+ humanas puestas en contacto han aumentado la migración o el injerto cuando se trasplantan en un paciente en comparación con las células madre o progenitoras hematopoyéticas humanas no puestas en contacto y en donde la cantidad terapéuticamente eficaz del agonista de EP₄ de PGE₂ o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, está entre aproximadamente 0,001 μM a aproximadamente 10 μM.
2. Un agonista de EP₄ de PGE₂ que interactúa preferentemente con un receptor EP₄ de PGE₂ en una célula madre o progenitora hematopoyética CD34+ humana, en donde el agonista de EP₄ de PGE₂ se selecciona del grupo que consiste en: 16-(3-Metoximetil)fenil-ω-tetranor-5-tiaPGE; 5-{3-[(2S)-2-[(3R)-3-hidroxi-4-[3-(trifluorometil)fenil]butil]-5-oxopirrolidin-1-il]propil]tiofeno-2-carboxilato; (ácido (Z)-7-[(1R,4S,5R)-5-[(E)-5-(3-cloro-benzo[b]tiofeno-2-il)-3-hidroxi-pent-1-enil]-4-hidroxi-3,3-dimetil-2-oxo-ciclopentil]-hept-5-enoico) y 5-[(1E,3R)-4,4-difluoro-3-hidroxi-4-fenil-1-buten-1-il]-1-[6-(2H-tetrazol-5R-il)hexil]-2-pirrolidinona; o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, para usar en el aumento de la migración o el injerto de células madre o progenitoras hematopoyéticas CD34+ humanas cuando se trasplantan en un paciente humano, en donde el agonista de EP₄ de PGE₂ o la sal farmacéuticamente aceptable del mismo, se proporciona en una cantidad terapéuticamente eficaz que incrementa la migración o el injerto de células madre o progenitoras hematopoyéticas CD34+ humanas cuando las células se trasplantan a un paciente humano y donde la cantidad terapéuticamente eficaz del agonista de EP₄ de PGE₂ o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo está entre aproximadamente 0,001 μM a aproximadamente 10 μM.
3. El uso de acuerdo con la reivindicación 1, o el agonista de EP₄ de PGE₂ o la sal farmacéuticamente aceptable del mismo para usar de acuerdo con la reivindicación 2, en donde dicho agonista de EP₄ de PGE₂ es 5-[(1E,3R)-4,4-difluoro-3-hidroxi-4-fenil-1-buten-1-il]-1-[6-(2H-tetrazol-5R-il)hexil]-2-pirrolidinona o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.
4. El uso de acuerdo con la reivindicación 1, o el agonista de EP₄ de PGE₂ o la sal farmacéuticamente aceptable del mismo para usar de acuerdo con la reivindicación 2, en donde el paciente es un receptor de un injerto que comprende las células madre o progenitoras hematopoyéticas.
5. El uso de acuerdo con la reivindicación 1, o el agonista de EP₄ de PGE₂ o la sal farmacéuticamente aceptable del mismo para usar de acuerdo con la reivindicación 2, en donde las células madre y progenitoras hematopoyéticas se obtuvieron de un donante.
6. El uso de acuerdo con la reivindicación 1, o el agonista de EP₄ de PGE₂ o la sal farmacéuticamente aceptable del mismo para usar de acuerdo con la reivindicación 2, en donde la cantidad terapéuticamente eficaz del agonista de EP₄ de PGE₂ o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo es de aproximadamente 1,0 x 10⁶ por ml a aproximadamente 1,0 x 10⁷ por ml de las células madre o progenitoras hematopoyéticas.
7. El uso de acuerdo con la reivindicación 1, o el agonista de EP₄ de PGE₂ o la sal farmacéuticamente aceptable del mismo para usar de acuerdo con la reivindicación 2, en donde las células madre o progenitoras hematopoyéticas se obtuvieron de médula, cordón umbilical o sangre periférica.
8. El uso de acuerdo con la reivindicación 5 o el agonista de EP₄ de PGE₂ o la sal farmacéuticamente aceptable del mismo para usar de acuerdo con la reivindicación 5, en donde el donante y el receptor de las células madre o progenitoras hematopoyéticas son el mismo paciente humano.

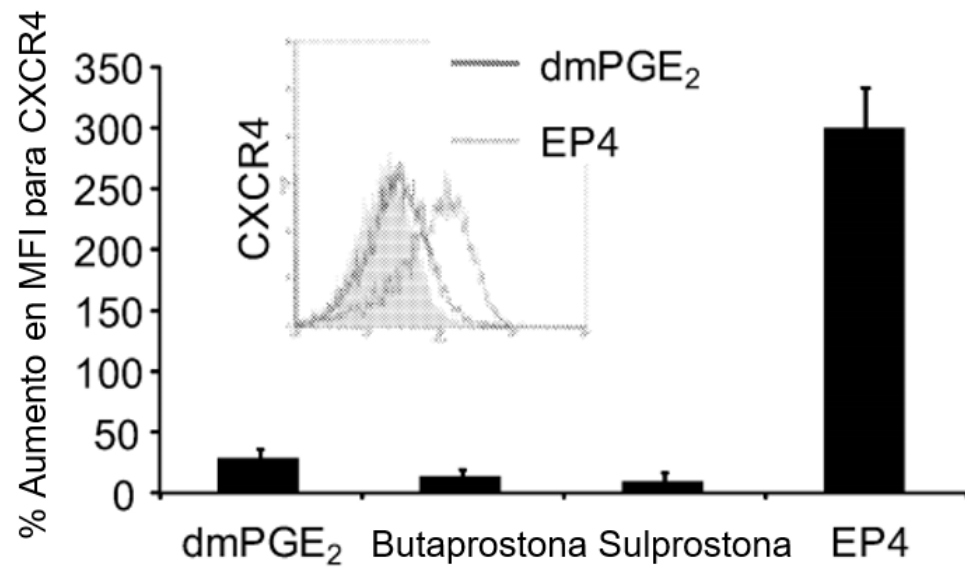


FIG. 1

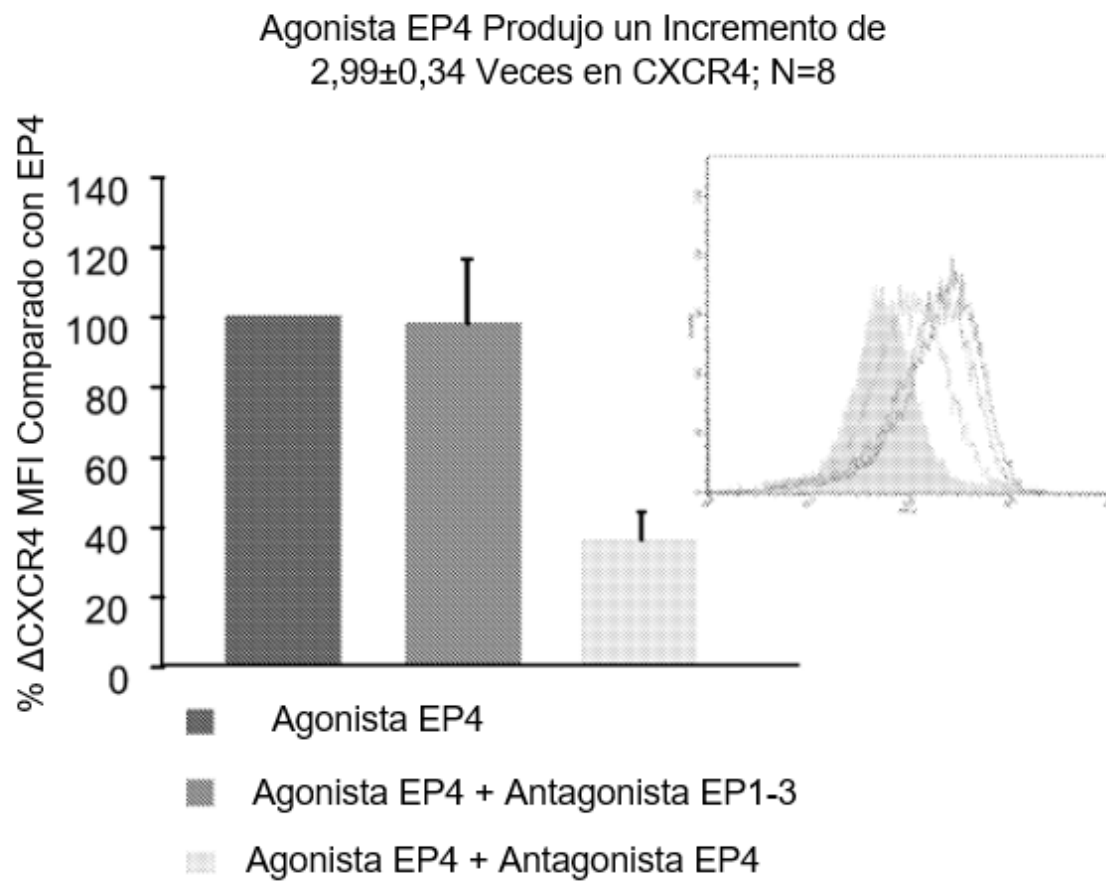


FIG. 2