

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 555 279**

51 Int. Cl.:

**A61K 31/275** (2006.01)

**A61K 38/16** (2006.01)

**A61K 38/21** (2006.01)

**A61K 31/225** (2006.01)

**A61P 25/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **11.02.2011 E 11742896 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **21.10.2015 EP 2533634**

54 Título: **Neuroprotección en enfermedades desmielinizantes**

30 Prioridad:

**12.02.2010 US 304325 P**

**06.04.2010 US 321486 P**

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

**30.12.2015**

73 Titular/es:

**BIOGEN MA INC. (100.0%)**

**250 Binney Street**

**Cambridge, MA 02142, US**

72 Inventor/es:

**GOELZ, SUSAN;**

**DAWSON, KATE;**

**LINKER, RALF y**

**GOLD, RALF**

74 Agente/Representante:

**VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro**

**ES 2 555 279 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

Neuroprotección en enfermedades desmielinizantes

5 **Campo de la invención**

Se proporcionan métodos y composiciones para el tratamiento de trastornos desmielinizantes y trastornos relacionados del sistema nervioso, incluyendo por ejemplo, la esclerosis múltiple.

10 **Antecedentes de la invención**

15 Los ésteres del ácido fumárico han demostrado efectos beneficiosos en la encefalomiелitis autoinmune experimental inducida por la glicoproteína de la mielina del oligodendrocito (MOG-EAE) (Véase por ejemplo, el documento WO 2008/096271A2) así como en parámetros de la MRI de la actividad de la enfermedad en un ensayo de Fase II en esclerosis múltiple recidivante remitente. Los ésteres del ácido fumárico podrían ofrecer un mecanismo de acción novedoso que incluye la protección axonal a través de rutas antioxidantes mediadas por Nrf2.

20 La esclerosis múltiple (EM) es una enfermedad autoinmune con la actividad autoinmune dirigida contra los antígenos del sistema nervioso central (SNC). La enfermedad se caracteriza por una inflamación específica, conocida como lesiones, en el SNC, que conduce a la pérdida de la vaina de mielina alrededor de los axones neuronales (desmielinización), pérdida axonal, y la muerte final de las neuronas, oligodendrocitos y células de la glía. Para una revisión completa de la EM y las terapias actuales, véase, por ejemplo, McAlpine's Multiple Sclerosis, por Alastair Compston *et al.*, 4ª edición, Churchill Livingstone Elsevier, 2006.

25 Se estima que 2.500.000 personas en el mundo padecen EM. Es una de las enfermedades más comunes del SNC en adultos jóvenes. La EM es una enfermedad crónica, progresiva, incapacitante, que generalmente ataca a sus víctimas un tiempo después de la adolescencia, con un diagnóstico hecho generalmente entre los 20 y 40 años de edad, aunque el comienzo puede ocurrir más pronto. La enfermedad no es directamente hereditaria, aunque la susceptibilidad genética desempeña un papel en su desarrollo. La EM es una enfermedad compleja con un fenotipo clínico, patológico e inmunológico heterogéneo.

30 Existen cuatro tipos clínicos principales de EM: 1) EM recidivante-remitente (RR-EM), caracterizada por recaídas claramente definidas con recuperación completa o con secuelas y déficit residual tras la recuperación; periodos entre las recaídas de la enfermedad caracterizados por una falta de progresión de la enfermedad; 2) EM progresiva secundaria (SP-EM), caracterizada por un curso recidivante remitente inicial seguido de una progresión con o sin recaídas ocasionales, remisiones menores, y mesetas; 3) EM progresiva primaria (PP-EM), caracterizada por una progresión de la enfermedad desde el comienzo con mesetas ocasionales y mejoras temporales menores permitidas; y 4) EM progresiva recidivante (PR-EM), caracterizada por un comienzo de la enfermedad progresivo, con recaídas agudas claras, con o sin recuperación completa; periodos entre recaídas caracterizados por la progresión continua.

35 Clínicamente, la dolencia se presenta con más frecuencia como una enfermedad recidivante-remitente y, en un menor grado, como una progresión constante de incapacidad neurológica. La EM recidivante-remitente (RR-EM) se presenta en la forma de ataques recurrentes de disfunción neurológica focal o multifocal. Los ataques pueden ocurrir, remitir, y recurrir, aparentemente de manera aleatoria durante muchos años. La remisión es a menudo incompleta y debido a que un ataque sigue a otro, se sucede una progresión escalonada descendente con el aumento del déficit neurológico permanente. El curso normal de la RR-EM se caracteriza por recaídas repetidas asociadas, por la mayoría de los pacientes, con el comienzo eventual de la progresión de la enfermedad. El curso posterior de la enfermedad es impredecible, aunque la mayoría de los pacientes con una enfermedad recidivante-remitente finalmente desarrollarán una enfermedad progresiva secundaria. En la fase recidivante-remitente, las recaídas se alternan con periodos de inactividad clínica y pueden estar marcados o no por secuelas dependiendo de la presencia de déficits neurológicos entre episodios. Los periodos entre las recaídas durante la fase recidivante-remitente son estables clínicamente. Por otro lado, los pacientes con EM progresiva muestran un aumento constante en déficits, como se ha explicado anteriormente y o bien desde el comienzo o tras un periodo de episodios, pero esta denominación no descarta la ocurrencia adicional de nuevas recaídas.

45 La patología de la EM, en parte, se refleja por la formación de lesiones desmielinizantes inflamatorias focales en la materia blanca, que son los distintivos en los pacientes con enfermedad aguda y recidivante. En los pacientes con enfermedad progresiva, el cerebro está afectado en un sentido más global, con un daño difuso pero generalizado (principalmente axonal) en la apariencia normal de la materia blanca y la desmielinización masiva también en la materia gris, particularmente, en el córtex.

50 La mayoría de las terapias actuales para la EM se dirigen a la reducción de la inflamación y la supresión o modulación del sistema inmune. Varios ensayos clínicos han mostrado que la supresión de la inflamación en la EM crónica raramente limita significativamente la acumulación de incapacidad a lo largo de la progresión sostenida de la enfermedad, lo que sugiere que el daño neuronal y la inflamación son patologías independientes. Por lo tanto, en la

EM, la neurodegeneración parece progresar incluso en ausencia de una inflamación significativa. Por lo tanto, el enlentecimiento de la desmielinización, o la promoción de la remielinización del SNC como un mecanismo reparador, o por otro lado la prevención de la pérdida axonal y la muerte neuronal son algunas de los objetivos importantes para el tratamiento de la EM, especialmente, en el caso de las formas progresivas de la EM tales como la SP-EM.

5 Actualmente existen varios tratamientos aprobados para la EM recidivante-remitente (RREM). Algunos de estos tratamientos incluyen los productos de interferón (por ejemplo, Avonex<sup>®</sup>, Betaseron<sup>®</sup> y Rebif<sup>®</sup>), y acetato de glatiramer [GA] (Copaxone<sup>®</sup>). Los interferones y el GA cada uno proporciona un beneficio clínico modesto, pero importante; cada uno de ellos ha demostrado una reducción media en la tasa de recaída aproximadamente del 29 % al 33 % durante 2 años (IFN-beta Multiple Sclerosis Study Group [Sin listado de autores] Interferon beta-1b is effective in relapsing-remitting multiple sclerosis. I. Clinical results of a multicenter, randomized, double-blind, placebo controlled trial. The IFN-beta Multiple Sclerosis Study Group. Neurolog. 1993;43(4):655-61; PRISMS. Randomised double-blind placebo-controlled study of interferon  $\beta$ -1a in relapsing/remitting multiple sclerosis. PRISMS (Prevention of Relapses and Disability by Interferon  $\beta$ -1a Subcutaneously in Multiple Sclerosis) Study Group. Lancet. 1998;352:1498-504; Jacobs L, Cookfair D, Rudick R, et al. Intramuscular interferon  $\beta$ -1a for disease progression in relapsing multiple sclerosis. The Multiple Sclerosis Collaborative Research Group (MSCRG). Ann Neurol. 1996;39:285-94; Johnson KP, Brooks BR, et al. Copolymer 1 reduces relapse rate and improves disability in relapsing-remitting multiple sclerosis: results of phase III multicentre, double-blind, placebo controlled trial. Neurology 1995;45:1268-1276). Aunque los interferones y el GA tienen perfiles de eficacia aceptables, también poseen características que reducen el cumplimiento del paciente. Estas terapias aprobadas para la EM requieren frecuentes inyecciones y a menudo causan efectos secundarios que limitan el cumplimiento y dan lugar a la suspensión. Además, los pacientes que continúan teniendo actividad de la enfermedad en el curso de la monoterapia con uno de estos tratamientos podrían beneficiarse de las terapias de combinación. Se necesitan terapias que puedan combinarse con seguridad con tratamientos aprobados para la EM para mejorar el cumplimiento y la eficacia total. Las terapias de combinación también pueden proporcionar una alternativa a las terapias con perfiles de riesgo más alto, tales como natalizumab.

Los ésteres del ácido fumárico, tales como fumarato de dimetilo (DMF), se han propuesto previamente para el tratamiento de la EM (véase, por ejemplo, Schimrigk *et al.*, Eur. J. Neurol., 2006, 13(6):604-10; Drugs R&D, 2005, 6(4):229-30; Patente de Estados Unidos nº. 6.436.992). Las combinaciones de un antagonista del receptor NMDA tal como memantina, rimantadina y amantadina con un agente fumarato, tal como DMF también se han propuesto previamente para el tratamiento de la EM (véase, por ejemplo, la Publicación de Estados Unidos nº. 2008/0089861). El DMF puede ejercer efectos neuroprotectores tales como la reducción en la desmielinización y el daño axonal en un modelo de ratón con EM con rasgos característicos de los estadios avanzados de las formas crónicas de la EM.

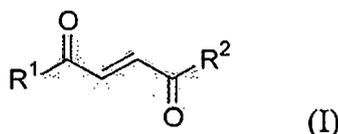
### Breve resumen de la invención

Dado el buen perfil de seguridad de los ésteres del ácido fumárico, se garantizan las terapias de combinación con ésteres del ácido fumárico, por ejemplo, DMF, en combinación con acetato de glatiramer (o copolímeros relacionados) o interferón beta para el tratamiento de trastornos neurológicos, tales como la EM.

### Método I:

Una realización de la invención es una terapia de combinación que consiste en (a) fumarato de dimetilo (DMF) y/o fumarato de monometilo (MMF), y (b) acetato de glatiramer para su uso en el tratamiento de un sujeto que tiene esclerosis múltiple (EM).

Se describe en el presente documento un uso médico para el tratamiento de un sujeto que tiene un trastorno neurológico (por ejemplo, EM), en el que el uso incluye administrar al sujeto: (a) una cantidad terapéuticamente eficaz de al menos un compuesto de Fórmula I:



55 en la que R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> se seleccionan independientemente de OH, O<sup>-</sup>, y alcoxi (C<sub>1-6</sub>), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo; y (b) una cantidad terapéuticamente eficaz de acetato de glatiramer. Los trastornos neurológicos se caracterizan por la desmielinización y/o pérdida axonal. En la invención, el trastorno neurológico es EM.

60 Como se describe en el presente documento, el compuesto de Fórmula I se selecciona de fumaratos monoalquílicos (es decir, al menos uno de entre R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> es alcoxi), fumaratos de dialquilo (es decir, R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> son ambos alcoxi), y combinaciones de los mismos. En algunas realizaciones de acuerdo con la invención, al menos un compuesto de Fórmula I se escoge de fumarato de dimetilo (DMF), fumarato de monometilo (MMF), y combinaciones de los

mismos. En algunas realizaciones de acuerdo con la invención, al menos un compuesto de Fórmula I se escoge de fumarato de dimetilo (DMF) y fumarato de monometilo (MMF). En algunas realizaciones de acuerdo con la invención, al menos un compuesto de Fórmula I es DMF. En algunas realizaciones de acuerdo con la invención, al menos un compuesto de Fórmula I es MMF. En algunas realizaciones de acuerdo con la invención, al menos un compuesto de Fórmula I es una combinación de DMF y MMF. Los compuestos adicionales de Fórmula I útiles en cualquiera de los usos anteriores se describen en la Patente de Estados Unidos 6.509.376 por Joshi *et al.*

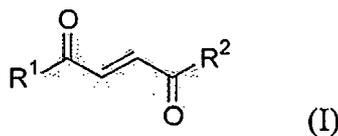
En algunas realizaciones de acuerdo con la invención el DMF y/o MMF y el acetato de glatiramer se administran en cantidades y durante periodos de tiempo suficientes para reducir la desmielinización y/o muerte axonal en el sujeto. En algunas realizaciones de acuerdo con la invención el DMF y/o MMF y el acetato de glatiramer se administran en cantidades y durante periodos de tiempo suficientes para reducir la tasa de recaída en el sujeto.

En algunas realizaciones de acuerdo con la invención el DMF y/o MMF y el acetato de glatiramer se presentan en una formulación farmacéutica individual.

En algunas realizaciones de acuerdo con la invención se administran 20 mg por día de acetato de glatiramer al sujeto. En algunas realizaciones de acuerdo con la invención, se administran menos de 20 mg por día de acetato de glatiramer al sujeto. Se describen en el presente documento otras dosificaciones útiles para el acetato de glatiramer en los usos médicos de la invención.

#### Método II:

Una realización adicional de la invención proporciona una terapia de combinación que consiste en (a) DMF y/o MMF, y (b) interferón beta, para su uso en el tratamiento de un sujeto que tiene esclerosis múltiple (EM). También se describen los usos médicos para el tratamiento de un sujeto que tiene un trastorno neurológico (por ejemplo, EM), en el que el uso incluye administrar al sujeto: (a) una cantidad terapéuticamente eficaz de al menos un compuesto de Fórmula I:



en la que R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> se seleccionan independientemente de OH, O, y alcoxi (C<sub>1-6</sub>), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo; y (b) una cantidad terapéuticamente eficaz de interferón beta. El trastorno neurológico se caracteriza por al menos una de entre desmielinización y pérdida axonal. En la invención, el trastorno neurológico es EM.

Como se describe en el presente documento, el compuesto de Fórmula I se selecciona de fumaratos de monoalquilo (es decir, al menos uno de entre R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> es alcoxi), fumaratos de dialquilo (es decir, R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> son ambos alcoxi), y combinaciones de los mismos. En algunas realizaciones de acuerdo con la invención, al menos un compuesto de Fórmula I se escoge de entre fumarato de dimetilo (DMF), fumarato de monometilo (MMF), y combinaciones de los mismos. En algunas realizaciones de acuerdo con la invención, al menos un compuesto de Fórmula I se escoge de fumarato de dimetilo (DMF) y fumarato de monometilo (MMF). En algunas realizaciones de acuerdo con la invención, al menos un compuesto de Fórmula I es DMF. En algunas realizaciones de acuerdo con la invención, al menos un compuesto de Fórmula I es MMF. En algunas realizaciones de acuerdo con la invención, al menos un compuesto de Fórmula I es una combinación de DMF y MMF. Compuestos adicionales de Fórmula I útiles en los usos anteriores se describen en la Patente de Estados Unidos 6.509.376 por Joshi *et al.*

En algunas realizaciones de acuerdo con la invención el DMF y/o MMF y el interferón beta se administran en cantidades y durante periodos de tiempo suficientes para reducir la desmielinización y/o muerte axonal en el sujeto. En algunas realizaciones de acuerdo con la invención el DMF y/o MMF y el interferón beta se administran en cantidades y durante periodos de tiempo suficientes para reducir la acumulación de incapacidad en el sujeto. En algunas realizaciones de acuerdo con la invención el DMF y/o MMF y el interferón beta se administran en cantidades y durante periodos de tiempo suficientes para reducir la tasa de recaída en el sujeto.

En algunas realizaciones de la invención, el interferón beta se selecciona de interferón beta-1a e interferón beta-1b. En algunas realizaciones de acuerdo con la invención, el interferón beta es interferón beta-1a. En algunas realizaciones de acuerdo con la invención, el interferón beta-1a se selecciona de AVONEX® y Rebif®. En algunas realizaciones de acuerdo con la invención, el interferón beta es interferón beta-1b. En algunas realizaciones de acuerdo con la invención, el interferón beta-1b se selecciona de Betaseron®, Extavia® y Ziferon®. Otro interferón beta útil en cualquiera de los usos de la invención se proporciona en el presente documento.

El interferón beta (por ejemplo, AVONEX®) se administra a una dosis de 30 µg una vez a la semana. En algunas realizaciones de acuerdo con la invención, el interferón beta (por ejemplo, AVONEX®) se administra a una dosis de

30 µg inyectado por vía intramuscular (IM) una vez a la semana. En algunas realizaciones el interferón beta (por ejemplo, AVONEX®) se administra a una dosis de menos de 30 µg una vez a la semana. En algunas realizaciones el interferón beta (por ejemplo, AVONEX®) se administra a una dosis de menos de 30 µg inyectado por vía intramuscular una vez a la semana. Otras dosificaciones útiles para el interferón beta (por ejemplo, AVONEX®) en los métodos de la invención se describen en el presente documento.

En algunas realizaciones de acuerdo con el Método I y el Método II, el DMF se administra al sujeto en ciertas cantidades: en algunas realizaciones de acuerdo con la invención, se administran 120 mg de DMF al sujeto a la vez. En algunas realizaciones se administran 240 mg de DMF al sujeto a la vez. En algunas realizaciones de acuerdo con la invención se administran 120 mg del DMF al sujeto tres veces por día (TID) equivalente a una dosis diaria total de 360 mg por día. En algunas realizaciones de acuerdo con la invención se administran 120 mg del DMF al sujeto dos veces por día (BID) equivalente a una dosis diaria total de 240 mg por día. En algunas realizaciones de acuerdo con la invención, se administran 240 mg del DMF al sujeto tres veces por día (TID) equivalente a una dosis diaria total de 720 mg por día. En algunas realizaciones de acuerdo con la invención, se administran 240 mg del DMF al sujeto dos veces por día (BID) equivalente a una dosis diaria total de 480 mg por día.

En algunas realizaciones de acuerdo con la invención, el DMF se proporciona al sujeto en una forma de dosificación unitaria que comprende 120 mg de DMF. En algunas realizaciones de acuerdo con la invención una forma de dosificación unitaria que comprende 120 mg de DMF se administra al sujeto una vez por día. En algunas realizaciones de acuerdo con la invención, una forma de dosificación unitaria que comprende 120 mg de DMF se administra al sujeto dos veces por día, equivalente a una dosis diaria total de 240 mg de DMF por día. En algunas realizaciones de acuerdo con la invención, una forma de dosificación unitaria que comprende 120 mg de DMF se administra al sujeto tres veces por día, equivalente a una dosis diaria total de 360 mg de DMF por día.

En algunas realizaciones de acuerdo con la invención, la cantidad de DMF administrada al sujeto está entre 50 mg y 2000 mg por día. En algunas realizaciones de acuerdo con la invención, la cantidad de DMF administrada a un sujeto humano está entre 100 mg y 1000 mg por día. En algunas realizaciones de acuerdo con la invención, la cantidad de DMF administrada a un sujeto humano está entre 100 mg y 800 mg por día.

En algunas realizaciones de acuerdo con la invención, el DMF se administra al menos aproximadamente una hora antes o al menos aproximadamente una hora después de que el sujeto consuma comida.

Como se describe en el presente documento de acuerdo con el Método I y el Método II, el trastorno neurológico se selecciona de esclerosis múltiple (EM), enfermedad de Huntington, enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson, neuritis óptica, enfermedad de Devic, mielitis transversa, encefalomielitis diseminada aguda, adrenoleucodistrofia y adrenomieloneuropatía, polineuropatía desmielinizante inflamatoria aguda (AIDP), polineuropatía desmielinizante inflamatoria crónica (CIDP), mielitis transversa aguda, leucoencefalopatía multifocal progresiva (PML), encefalomielitis diseminada aguda (ADEM) y otros trastornos hereditarios, tales como leucodistrofias, atrofia óptica de Leber, y enfermedad de Charcot-Marie-Tooth. En algunos casos, el trastorno neurológico es una enfermedad autoinmune.

Como se describe en el presente documento de acuerdo con el Método I y el Método II, el trastorno neurológico se selecciona de esclerosis múltiple (EM), enfermedad de Huntington, enfermedad de Parkinson, y enfermedad de Alzheimer. En las realizaciones de acuerdo con cualquiera de las realizaciones anteriores del Método I y el Método II, el trastorno neurológico es EM. En algunas realizaciones de acuerdo con cualquiera de los métodos anteriores, la EM se selecciona de EM recidivante-remitente, EM progresiva secundaria, EM progresiva primaria, EM progresiva recidivante, y el síndrome clínico aislado (CIS).

Como se describe en el presente documento, el sujeto tiene una forma progresiva de un trastorno desmielinizante. En algunas realizaciones de acuerdo con la invención, el sujeto tiene una forma progresiva de EM. En algunas realizaciones de acuerdo con la invención, el sujeto muestra al menos un aumento de 1 punto en la Escala Expandida del Estado de Discapacidad (EDSS) durante un periodo de aproximadamente un año antes del inicio del tratamiento con el compuesto DMF y/o MMF y acetato de glatiramer o el tratamiento con el compuesto DMF y/o MMF e interferón beta. En algunas realizaciones de acuerdo con la invención, el sujeto muestra al menos un 25 % de aumento en la carga de lesión en T1 durante un periodo de aproximadamente un año antes del inicio del tratamiento con el compuesto DMF y/o MMF y acetato de glatiramer o el tratamiento con el compuesto de DMF y/o MMF e interferón beta. En algunas realizaciones de acuerdo con la invención, el sujeto tiene una puntuación en la EDSS de al menos 3. En algunas realizaciones de acuerdo con invención, el sujeto tiene más de 10 lesiones hipointensas en T1. En algunas realizaciones de acuerdo con la invención, el sujeto es un paciente humano.

Otras características y realizaciones serán evidentes a partir de la siguiente descripción y las reivindicaciones.

### Breve descripción de las figuras

La Figura 1 es una representación gráfica que muestra la puntuación clínica media en un modelo de ratón con MOG-EAE para ratones tratados con DMF a 15 mg/kg dos veces diarias a través de una sonda oral (Ejemplo 1).

La Figura 2 contiene dibujos de tejidos de la médula espinal que muestran desmielinización, densidad axonal relativa y gliosis en un modelo de ratón con MOG-EAE (Ejemplo 1).

La Figura 3, es una representación gráfica que compara la puntuación clínica media en un modelo de ratón con MOG-EAE para ratones co-inyectados con acetato de glatiramer y antígeno MOG. Un grupo control recibió solo MOG, mientras que dos grupos experimentales recibieron dosis de 100 o 500 µg de acetato de glatiramer (Ejemplo 2).

La Figura 4 es una representación gráfica que muestra los resultados de una co-terapia con DMF/GA durante la MOG-EAE crónica (Ejemplo 3).

La Figura 5 es una representación gráfica que muestra los resultados de una co-terapia con DMF/GA durante la MOG-EAE crónica y representa los datos agrupados de dos experimentos (n= 12 por grupo) (Ejemplo 3).

La Figura 6 es una representación que muestra los resultados de una co-terapia con DMF/GA durante la MOG-EAE crónica y un análisis histológico de las médulas espinales de ratones para diversos grupos de tratamiento durante la fase crónica (Ejemplo 3).

La Figura 7 es una representación que muestra los resultados de una co-terapia con DMF/GA durante la MOG-EAE crónica con respecto a la infiltración de células T (Ejemplo 3).

La Figura 8 es una representación que muestra los resultados de una co-terapia con DMF/GA durante la MOG-EAE crónica con respecto a la infiltración de macrófagos (Ejemplo 3).

La Figura 9 es una representación que muestra los resultados de una co-terapia con DMF/GA durante la MOG-EAE crónica con respecto a la pérdida y destrucción axonal (Ejemplo 3).

La Figura 10 es una representación que compara la puntuación clínica media en un modelo de ratón con MOG-EAE para ratones sometidos a una co-terapia con DMF/GA durante el curso a corto plazo de la MOG-EAE (Ejemplos 3 y 8). La co-terapia con DMF/GA conduce a una mejora sostenida del curso de la enfermedad clínica. La Figura 10A representa un solo experimento, mientras que la Figura 10B describe un grupo de tres experimentos diferentes.

La Figura 11 es una representación que compara la puntuación clínica media en un modelo de ratón con MOG-EAE para ratones sometidos a una co-terapia con DMF/IFN beta (Ejemplo 4).

La Figura 12 es una representación que muestra los resultados de una co-terapia con DMF/GA durante la MOG-EAE crónica con respecto a la pérdida y destrucción axonal (densidades axonales). La co-terapia con DMF/GA conduce a una conservación de los axones en el día 26 p.i. (Ejemplo 8).

La Figura 13 es una representación que muestra los resultados de una co-terapia con DMF/GA durante la MOG-EAE crónica con respecto a la infiltración de macrófagos. El DMF así como la co-terapia con DMF/GA conduce a la reducción de los macrófagos/microglía en las lesiones de la EAE en el día 26 p.i. (Ejemplo 8).

La Figura 14 es una representación que muestra los resultados de una co-terapia con DMF/GA durante la MOG-EAE crónica con respecto a la infiltración de células T. La co-terapia con DMF/GA conduce a una reducción de células T en las lesiones de la EAE en el día 26 p.i. (Ejemplo 8).

La Figura 15 es una representación que compara la puntuación clínica media de un modelo de ratón con MOG-EAE para ratones sometidos a una co-terapia con DMF/IFN beta. La co-terapia con DMF/IFN beta conduce a una mejora sostenida del curso de la enfermedad clínica (Ejemplo 8).

La Figura 16 es una representación que muestra los resultados de una co-terapia con DMF/IFN beta durante la MOG-EAE crónica con respecto al índice inflamatorio tras la tinción de hematoxilina y eosina (HE). La co-terapia con DMF/IFN beta reduce los focos inflamatorios en la médula espinal en el día 18 de la MOG-EAE (Ejemplo 8).

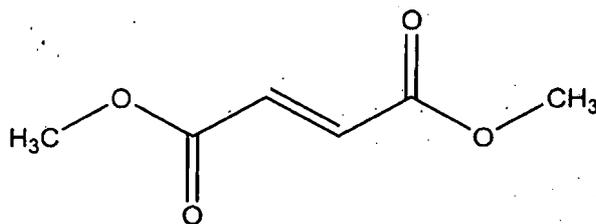
La Figura 17 es una representación que muestra los resultados de una co-terapia con DMF/IFN beta durante la MOG-EAE crónica con respecto a la infiltración de células T. La co-terapia con DMF/IFN beta no conduce a una reducción significativa de las células T en lesiones establecidas en el día 18 p.i. (Ejemplo 8).

## Descripción detallada de la invención

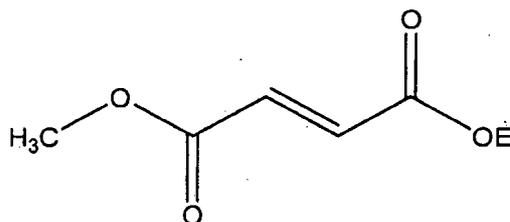
### Definiciones

Se definen ciertos términos en esta sección; se proporcionan definiciones adicionales a lo largo de la descripción. µg = microgramo.

“Fumarato de dimetilo” o “DMF” se refiere al compuesto que tiene la estructura



“Fumarato de hidrógeno de metilo” o “MMF” se refiere al compuesto que tiene la estructura



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la que E es H o una carga negativa. El MMF también puede denominarse ácido (E)-4-metoxi-4-oxobut-2-enoico.

5 El término “alcoxi (C<sub>1-6</sub>)” se usa en su significado generalmente aceptado. Por ejemplo, el término “alcoxi (C<sub>1-6</sub>)” significa un grupo alcoxi que tiene la fórmula, -OR<sup>a</sup>, en la que R<sup>a</sup> es un radical alquilo lineal o ramificado que tiene de 1 a 6 átomos de carbono. Los grupos alcoxi (C<sub>1-6</sub>) ejemplares incluyen metoxi, etoxi, propiloxi, *iso*-propiloxi, *n*-butiloxi, *iso*-butiloxi, *sec*-butiloxi, y *n*-pentiloxi. En algunas realizaciones, el alcoxi (C<sub>1-6</sub>) es metoxi.

10 “Interferón beta” o “IFN beta” incluye cualquier proteína de interferón beta (por ejemplo, cualquier proteína de interferón beta de origen natural), ya sea aislada a partir de un tejido o sangre u obtenida mediante una técnica recombinante. En algunas realizaciones, el interferón beta es interferón beta humano. En algunas realizaciones, el interferón beta humano se produce de manera recombinante en células de mamífero. En algunas realizaciones, el interferón beta humano se produce de manera recombinante en células bacterianas, tales como *E. coli*. En algunas realizaciones el interferón beta es interferón beta-1a. En algunas realizaciones, el interferón beta-1a se produce de manera recombinante en células de mamífero. En algunas realizaciones, el interferón beta-1a se produce de manera recombinante en células bacterianas. En algunas realizaciones, el interferón beta-1a se selecciona de Rebif®, Avonex® y Cinno Vex®, que son formas comercialmente disponibles del interferón beta-1a (por ejemplo, Avonex® y Rebif® se comercializan en los Estados Unidos) pero también se incluyen otras formas. En alguna realizaciones, el interferón beta-1a es una forma biosimilar o biogénica de Avonex® o Rebif®.

25 En algunas realizaciones, la secuencia de aminoácidos del interferón beta-1a es al menos un 50 % idéntica, al menos un 60 % idéntica, al menos un 70 % idéntica, al menos un 80 % idéntica o al menos un 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos del interferón beta-1a humano natural. En algunas realizaciones, la secuencia de aminoácidos del interferón beta-1a es esencialmente idéntica a la secuencia de aminoácidos del interferón beta-1a humano natural.

30 En algunas realizaciones el interferón beta es interferón beta-1b. En algunas realizaciones, el interferón beta-1b se produce de manera recombinante en células bacterianas (por ejemplo, *E. coli* modificado). En algunas realizaciones, el interferón beta-1b se produce de manera recombinante en células de mamífero. En algunas realizaciones, la secuencia de aminoácidos del interferón beta-1b es al menos un 50 % idéntica, al menos un 60 % idéntica, al menos un 70 % idéntica, al menos un 80 % idéntica o al menos un 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos del interferón beta-1b humano natural. En algunas realizaciones, la secuencia de aminoácidos del interferón beta-1b es esencialmente idéntica a la secuencia de aminoácidos del interferón beta-1b humano natural.

40 En algunas realizaciones, el interferón beta-1b se selecciona de Betaseron® (también referido como Betaferon®), Extavia® y ZIFERON®, que son formas comercialmente disponibles del interferón beta-1b (por ejemplo, el Betaseron® se comercializa en los Estados Unidos), pero también se incluyen otras formas. En algunas realizaciones, el interferón beta-1b es una forma biosimilar o biogénica de Betaseron®, Extavia® o ZIFERON®.

45 Las formas modificadas de interferón beta también se incluyen en el término interferón beta. Por ejemplo, un interferón beta puede modificarse mediante la supresión, adición o sustitución de un aminoácido. Por ejemplo, en el Betaseron® la proteína nativa se ha modificado mediante una mutación del C17S. Otras modificaciones incluyen la unión de otra proteína u otras entidades químicas al interferón beta, por ejemplo, los residuos químicos que aumentan la solubilidad en agua del interferón beta; tales como restos de polietilenglicol (PEG) o polipropilenglicol (PPG) lineales o ramificados. En algunas realizaciones, el interferón beta es interferón beta pegilado. En algunas realizaciones, el interferón beta es interferón beta-1a pegilado. En algunas realizaciones, el interferón beta es interferón beta-1b pegilado. En algunas realizaciones, el interferón beta se formula en una formulación líquida para inyección. En algunas realizaciones, el interferón beta se formula para inyección subcutánea. En algunas realizaciones, el interferón beta se formula para inyección intramuscular.

55 La expresión “sal farmacéuticamente aceptable” significa las sales de los compuestos de la presente divulgación, que pueden prepararse con ácidos o bases relativamente no tóxicos, dependiendo de los sustituyentes particulares encontrados en los compuestos descritos en el presente documento. Cuando los compuestos de la presente divulgación contienen funcionalidades relativamente ácidas (por ejemplo, grupo -COOH), pueden obtenerse sales de adición básicas poniendo en contacto el compuesto (por ejemplo, la forma neutra de dicho compuesto) con una cantidad suficiente de la base deseada, ya sea pura o en un disolvente inerte adecuado. Los ejemplos de sales de

adición básicas farmacéuticamente aceptables incluyen sales de litio, sodio, potasio, calcio, amonio, amino orgánico, magnesio y aluminio. Cuando los compuestos de la presente divulgación contienen funcionalidades relativamente básicas (por ejemplo, aminas), las sales de adición ácidas pueden obtenerse, por ejemplo, poniendo en contacto el compuesto (por ejemplo, la forma neutra de dicho compuesto) con una cantidad suficiente del ácido deseado, ya sea puro o en un disolvente inerte adecuado. Los ejemplos de sales de adición ácidas farmacéuticamente aceptables incluyen las derivadas de ácidos inorgánicos como clorhídrico, bromhídrico, nítrico, carbónico, monohidrogenocarbónico, fosfórico, difosfórico, monohidrogenofosfórico, dihidrogenofosfórico, sulfúrico, monohidrogenosulfúrico, yodhídrico así como las sales derivadas de ácidos orgánicos relativamente no tóxicos como fórmico, acético, propiónico, isobutírico, málico, maleico, malónico, benzoico, succínico, subérico, fumárico, láctico, mandélico, ftálico, bencenosulfónico, p-tolilsulfónico, cítrico, tartárico, metanosulfónico, 2-hidroxiethylsulfónico, salicílico, esteárico. También se incluyen las sales de aminoácidos tales como arginato, y las sales de ácidos orgánicos como ácidos glucurónico o galacturónico (véase, por ejemplo, Berge *et al.*, Journal of Pharmaceutical Science, 1977, 66: 1-19). Las formas neutras de los compuestos pueden regenerarse, por ejemplo, poniendo en contacto la sal con un ácido y aislando el compuesto padre de manera convencional. La forma padre del compuesto puede distinguirse de las diversas formas de sal en ciertas propiedades físicas, tales como la solubilidad en disolventes polares, pero por lo demás las sales son equivalentes a la forma padre del compuesto para los propósitos de la presente divulgación. Ciertos compuestos específicos de la presente divulgación contienen ambas funcionalidades, básica y ácida, que permiten a los compuestos convertirse en sales de adición básicas o ácidas.

20 Cuando un sustituyente incluye un átomo de oxígeno cargado negativamente "O-", por ejemplo, en "COO-", entonces se entiende que la fórmula incluye opcionalmente un protón o un contraión catiónico orgánico o inorgánico (por ejemplo, Na+). En un ejemplo, la forma de sal resultante del compuesto es farmacéuticamente aceptable. Además, cuando un compuesto de la presente divulgación incluye un grupo ácido, tal como un grupo ácido carboxílico, por ejemplo, escrito como el sustituyente "-COOH", "CO<sub>2</sub>H", entonces se entiende que la fórmula incluye opcionalmente la correspondiente forma "desprotonada" de ese grupo ácido, por ejemplo, "-COO-" o "-CO<sub>2</sub>-", respectivamente.

Los términos "enfermedad" y "trastorno" se usan de manera intercambiable en el presente documento.

30 La expresión "trastorno neurológico" se refiere a los trastornos del sistema nervioso que resultan en una disfunción de las funciones mediadas neuronalmente e incluye trastornos del sistema nervioso central (por ejemplo, el cerebro, la médula espinal) así como el sistema nervioso periférico. En algunas realizaciones, el trastorno neurológico se caracteriza por al menos una de entre desmielinización y pérdida axonal. La expresión "pérdida axonal" incluye "daño axonal". En otras realizaciones, el trastorno neurológico se caracteriza por ambas, desmielinización y pérdida axonal. En algunas realizaciones, el trastorno neurológico es una enfermedad autoinmune caracterizada por al menos una de entre desmielinización y pérdida axonal (por ejemplo, EM).

40 El término "neuroprotección" se refiere a la prevención o a un enlentecimiento en la degeneración neuronal, que incluye, por ejemplo, la desmielinización y/o pérdida axonal, y opcionalmente, la muerte neuronal y de los oligodendrocitos.

45 La expresión "dosis terapéuticamente eficaz" y "cantidad terapéuticamente eficaz" se refiere a esa cantidad de un compuesto que resulta en la prevención o retraso del comienzo o mejora de los síntomas de un trastorno neurológico en un sujeto o una consecución de un resultado biológico deseado, tal como la reducción de la neurodegeneración (por ejemplo, desmielinización, pérdida axonal, o muerte neuronal) o el enlentecimiento en la acumulación de discapacidad física (por ejemplo, como se indica por, por ejemplo, una tasa reducida de empeoramiento de una puntuación clínica (por ejemplo, la EDSS) u otro parámetro adecuado que indica el estado de la enfermedad. Ejemplarmente los parámetros del estado de la enfermedad incluyen el número de recaídas clínicas, el número de lesiones en T1, el número medio de reducción de lesiones nuevas y totales potenciadas con gadolinio (Gd<sup>+</sup>) en los escáneres de las MRI del cerebro, el número y el volumen de lesiones hiperintensas en T2 nuevas o recién extendidas, el número de lesiones hipointensas en T1 nuevas, el porcentaje de lesiones con Gd<sup>+</sup> que se convierten a lesiones hipointensas en T1, las medidas de atrofia y del índice de transferencia de magnetización).

55 En algunas realizaciones, la dosis terapéuticamente eficaz para el compuesto DMF y/o MMF cuando se usa en la co-terapia que implica acetato de glatiramer o interferón beta (como se describe en el presente documento), es más baja que la dosis terapéuticamente eficaz para el compuesto DMF y/o MMF cuando se usa en monoterapia. En otras realizaciones, la dosis terapéuticamente eficaz para el acetato de glatiramer, cuando se usa en la co-terapia que implica el compuesto DMF y/o MMF (como se describe en el presente documento), es más baja que la dosis terapéuticamente eficaz para el acetato de glatiramer, cuando se usa en monoterapia. En otras realizaciones, la dosis terapéuticamente eficaz para el interferón beta, cuando se usa en la co-terapia que implica el compuesto DMF y/o MMF (como se describe en el presente documento), es más baja que la dosis terapéuticamente eficaz para el interferón beta, cuando se usa en monoterapia.

65 El término "tratar" se refiere a administrar una terapia en una cantidad, manera, y/o modo efectivo para mejorar una afección, síntoma, o parámetro asociado con un trastorno o para prevenir la progresión de un trastorno, a o bien un grado estadísticamente significativo o a un grado detectable por un experto en la materia. En algunas realizaciones,

“tratar” se refiere a la mejora de una condición tal como se mide por un marcador clínico adecuado. Una cantidad, manera, o modo efectivo puede variar dependiendo del sujeto y puede adaptarse al sujeto. Para los trastornos neurológicos referidos en el presente documento, los tratamientos ofrecidos por los métodos divulgados en el presente documento pretenden mejorar las condiciones (o disminuir los efectos perjudiciales) de los trastornos y no necesariamente eliminar o curar por completo los trastornos.

El término “copolímero” se refiere a un polipéptido que consiste esencialmente en ácido L-glutámico, L-alanina, L-tirosina, y L-lisina como los componentes básicos de los aminoácidos, o las sales farmacéuticamente aceptables del mismo. El copolímero puede ser un polipéptido que consiste esencialmente en ácido L-glutámico, L-alanina, L-tirosina, y L-lisina con una fracción molar media de aproximadamente 0,05 a aproximadamente 0,2 para el ácido L-glutámico, de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 1,0 para la L-alanina, de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 0,2 para la L-tirosina, y de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 1,0 para la L-lisina. El copolímero puede ser un polipéptido que consiste esencialmente en ácido L-glutámico, L-alanina, L-tirosina, y L-lisina con una fracción molar media de 0,14 para el ácido L-glutámico, 0,43 para la L-alanina, 0,1 para la L-tirosina, y 0,34 para la L-lisina. El copolímero puede ser un polipéptido que consiste esencialmente en ácido L-glutámico, L-alanina, L-tirosina, y L-lisina con un peso molecular medio de 1 kD a 25 kD. El copolímero puede ser un polipéptido que consiste esencialmente en ácido L-glutámico, L-alanina, L-tirosina y L-lisina con un peso molecular medio de 3 kD a 15 kD. El copolímero puede ser un polipéptido que consiste esencialmente en ácido L-glutámico, L-alanina, L-tirosina y L-lisina con un peso molecular medio de 3 kD a 10 kD. El copolímero puede ser un polipéptido que tiene la fórmula:  $(\text{Glu, Ala, Lys, Tyr})_x \cdot x\text{CH}_3\text{COOH}$ , en la que la relaciones molares de Glu, Ala, Lys y Tyr son como se han descrito anteriormente; y x se selecciona de modo que el copolímero tenga un peso molecular medio entre 1 y 25 kD (por ejemplo, entre 4 kD y 10 kD). El copolímero puede ser acetato de glatiramer (también conocido como copolímero-1). El acetato de glatiramer, el principio activo de COPAXONE®, consiste en las sales de acetato de polipéptidos sintéticos, que contienen cuatro aminoácidos de origen natural: ácido L-glutámico, L-alanina, L-tirosina y L-lisina con una fracción molar media de 0,141, 0,427, 0,095 y 0,338, respectivamente. El peso molecular medio del acetato de glatiramer es 5.000 - 9.000 daltons. El acetato de glatiramer se identifica mediante anticuerpos específicos. Químicamente, el acetato de glatiramer se designa acetato (sal) del polímero de ácido L-glutámico con L-alanina, L-lisina y L-tirosina. Su fórmula estructural a veces se describe como:



CAS -147245-92-9

El COPAXONE® es una solución transparente, de incolora a ligeramente amarilla, estéril, apirógena para inyección subcutánea. Cada 1 ml de solución contiene 20 mg de acetato de glatiramer y 40 mg de manitol. El intervalo de pH de la solución es aproximadamente de 5,5 a 7,0. La actividad biológica del COPAXONE® se determina por su capacidad para bloquear la inducción de encefalomiелitis autoinmune experimental (EAE) en ratones.

El COPAXONE® está indicado para la reducción de la frecuencia de recaídas en pacientes con esclerosis múltiple recidivante-remitente (RRMS), incluyendo pacientes que han experimentado un primer episodio clínico y tienen características en la RMI coherentes con la esclerosis múltiple.

El COPAXONE® se administra por vía subcutánea y la dosis actualmente recomendada de COPAXONE es 20 mg/día. El COPAXONE se suministra como una jeringa precargada de un solo uso que contiene 1 ml de solución con 20 mg de acetato de glatiramer y 40 mg de manitol.

El AVONEX® (Interferón beta-1a) es una glicoproteína de 166 aminoácidos con un peso molecular pronosticado de aproximadamente 22.500 daltons. Se produce mediante tecnología de ADN recombinante utilizando células del ovario de hámster chino diseñadas genéticamente en las que se ha introducido el gen de interferón beta humano. La secuencia de aminoácidos del AVONEX® es idéntica a la del interferón beta humano natural.

Usando el patrón del interferón beta natural de la Organización Mundial de la Salud (OMS), Second International Standard for Interferon, Human Fibroblast (Gb-23-902-531), el AVONEX® tiene una actividad específica de aproximadamente 200 millones de unidades internacionales (UI) de actividad antiviral por mg de interferón beta-1a determinada específicamente mediante un bioensayo del efecto citopático *in vitro* usando células de carcinoma de pulmón (A549) y virus de la Encefalomiocarditis (ECM). 30 µg (microgramos) de AVONEX® contienen aproximadamente 6 millones de UI de actividad antiviral usando este método. La actividad frente a otros patrones no se conoce. La comparación de la actividad del AVONEX® con otro interferón beta no es apropiada, debido a las diferencias en los patrones de referencia y en los ensayos utilizados para medir la actividad.

El AVONEX® se suministra en viales que contienen 30 µg de polvo de blanco a blanquecino liofilizado para la inyección intramuscular tras la reconstitución con un diluyente suministrado (agua estéril para inyección, USP). Cada vial de AVONEX® reconstituido contiene 30 µg de interferón beta-1a; 15 mg de Albumina (Humana), USP; 5,8 mg

de cloruro de sodio, USP; 5,7 mg de fosfato de sodio dibásico, USP; y 1,2 mg de fosfato de sodio monobásico, USP, en 1,0 ml a un pH de aproximadamente 7,3.

5 El AVONEX® también se suministra en jeringas precargadas formuladas como un líquido estéril para inyección intramuscular. Cada 0,5 ml (dosis de 30 µg) de AVONEX® en una jeringa de vidrio precargada contiene 30 µg de interferón beta-1a, 0,79 mg de acetato de sodio trihidrato, USP; 0,25 mg de ácido acético glacial, USP; 15,8 mg de clorhidrato de arginina, USP; y 0,025 mg de polisorbato 20 en agua para inyección, USP a un pH de aproximadamente 4,8.

10 El AVONEX® está indicado para el tratamiento de pacientes con formas recidivantes de esclerosis múltiple para enlentecer la acumulación de discapacidad física y disminuir la frecuencia de exacerbaciones clínicas. Los pacientes con esclerosis múltiple en los que se ha demostrado eficacia incluyen pacientes que han experimentado un primer episodio clínico y tienen características en la MRI coherentes con la esclerosis múltiple. No se ha establecido la seguridad y eficacia en los pacientes con esclerosis múltiple progresiva crónica.

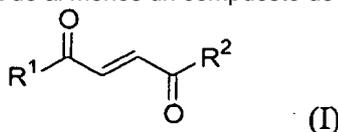
15 La dosificación recomendada de AVONEX® es 30 µg inyectados por vía intramuscular una vez a la semana. El AVONEX® se destina para su uso bajo la orientación y supervisión de un médico. Los pacientes pueden auto-inyectarse solo si sus médicos determinan que es apropiado y con seguimiento médico, según sea necesario, tras una formación adecuada en la técnica de inyección intramuscular. Los lugares para la inyección incluyen el muslo o la parte superior del brazo (véase la guía de medicación). Una aguja de calibre 25, de 2,54 cm (1") para la inyección intramuscular puede sustituirse por la aguja de calibre 23, de 3,175 cm (1" ¼) por el médico que prescribe, si se considera apropiado.

20 Para reconstituir AVONEX® liofilizado, se usa una jeringa estéril y MICRO PIN® para inyectar 1,1 ml del diluyente suministrado, agua estéril para inyección, USP, en el vial de AVONEX®. Girar suavemente el vial de AVONEX® para disolver el fármaco completamente. No agitar. La solución reconstituida debe ser de transparente a ligeramente amarilla sin partículas. Inspeccionar el producto reconstituido visualmente antes de su uso. Desechar el producto si contiene partículas o se decolora. Cada vial de solución reconstituida contiene 30 µg/1,0 ml de interferón beta-1a. Retirar 1,0 ml de la solución reconstituida del vial en una jeringa estéril. Recolocar la cubierta en el MICRO PIN®, fijar la aguja estéril e inyectar la solución por vía intramuscular. Los viales de AVONEX® y diluyente son solo para un solo uso; las partes no usadas deben desecharse.

25 En las realizaciones, la invención proporciona métodos de tratamiento para un sujeto que tiene el trastorno neurológico de la EM. En algunas realizaciones el trastorno neurológico se caracteriza por la desmielinización y/o pérdida axonal.

También se describen en el presente documento los usos médicos que comprenden administrar al sujeto:

(a) una cantidad terapéuticamente eficaz de al menos un compuesto de Fórmula I:



40 en la que R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> se seleccionan independientemente de OH, O<sup>-</sup>, y alcoxi (C<sub>1-6</sub>), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y

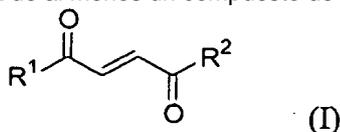
(b) un copolímero, como se describe en el presente documento, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

45 En un ejemplo, en el uso anterior, al menos uno de entre R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> es alcoxi (C<sub>1-6</sub>). En otro ejemplo, en el uso anterior, al menos uno de entre R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> es metoxi. En otro ejemplo, en el uso anterior, el al menos un compuesto de Fórmula I se selecciona de DMF, MMF, y combinaciones de los mismos. En otro ejemplo, en el uso anterior, al menos un compuesto de Fórmula I se selecciona de DMF y MMF. En otro ejemplo, en el uso anterior, al menos un compuesto de Fórmula I es DMF. En otro ejemplo, en el uso anterior, al menos un compuesto de Fórmula I es MMF. En otro ejemplo, en el uso anterior, al menos un compuesto de Fórmula I es una combinación de DMF y MMF. En algunas realizaciones el único compuesto de Fórmula I administrado al sujeto es DMF. En algunas realizaciones el único compuesto de Fórmula I administrado al sujeto es MMF. En las realizaciones de la invención los únicos compuestos de Fórmula I administrados al sujeto son DMF y MMF.

55 En otro ejemplo, en el uso anterior, el copolímero es un polipéptido que consiste esencialmente en ácido L-glutámico, L-alanina, L-tirosina, y L-lisina como los componentes básicos de aminoácidos, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En otro ejemplo, en el uso anterior, el copolímero es acetato de glatiramer.

60 También se describen en el presente documento los usos médicos que incluyen administrar al sujeto:

(a) una cantidad terapéuticamente eficaz de al menos un compuesto de Fórmula I:



en la que R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> se seleccionan independientemente de OH, O<sup>-</sup>, y alcoxi (C<sub>1-6</sub>), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y  
 5 (b) interferón beta.

En un ejemplo, en el uso anterior, al menos uno de entre R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> es alcoxi (C<sub>1-6</sub>). En otro ejemplo, en el uso anterior, al menos uno de entre R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> es metoxi. En otro ejemplo, en el uso anterior, el al menos un compuesto de Fórmula I se selecciona del uso de DMF, MMF, y combinaciones de los mismos. En otro ejemplo, en el uso anterior, al menos un compuesto de Fórmula I se selecciona de DMF y MMF. En otro ejemplo, en el uso anterior, al menos un compuesto de Fórmula I es DMF. En otro ejemplo, en el uso anterior, al menos un compuesto de Fórmula I es MMF. En otro ejemplo, en el uso anterior, al menos un compuesto de Fórmula I es una combinación de DMF y MMF. En algunas realizaciones el único compuesto de Fórmula I administrado al sujeto es DMF. En algunas realizaciones el único compuesto de Fórmula I administrado al sujeto es MMF. En las realizaciones de la invención los únicos compuestos de Fórmula I administrados al sujeto son DMF y MMF.

En algunas realizaciones en las que se administra DMF al sujeto, el DMF se formula en cápsulas que contienen microcromprimidos recubiertos de manera entérica. En algunas realizaciones, la cubierta de los microcromprimidos se compone de diferentes capas. En algunas realizaciones, la primera capa es una solución de un copolímero de ácido metacrílico - metacrilato de metilo/alcohol isopropílico que aísla los núcleos del comprimido de la potencial hidrólisis de las suspensiones de agua aplicadas a continuación. La cubierta entérica del comprimido se confiere después mediante una suspensión acuosa de copolímero de ácido metacrílico-acrilato de etilo. Una formulación ejemplar para el DMF se describe en el Ejemplo 7. Métodos adicionales de síntesis y formulación del copolímero (por ejemplo, DMF y MMF) se proporcionan, por ejemplo, en los Ejemplos en las columnas 5-7 de la Patente de Estados Unidos n.º. 7.320.999.

Los trastornos neurológicos (por ejemplo, los caracterizados por la desmielinización y/o pérdida axonal) incluyen a modo de ejemplo y sin limitación: esclerosis múltiple, enfermedad de Huntington, enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson, neuritis óptica, enfermedad de Devic, mielitis transversa, encefalomiелitis diseminada aguda, adrenoleucodistrofia y adrenomiелoneuropatía, polineuropatía desmielinizante inflamatoria aguda (AIDP), polineuropatía desmielinizante inflamatoria crónica (CIDP), mielitis transversa aguda, leucoencefalopatía multifocal progresiva (PML), encefalomiелitis diseminada aguda (ADEM) u otros trastornos hereditarios, (por ejemplo, leucodistrofias, atrofia óptica de Leber, y enfermedad de Charcot-Marie-Tooth).

En algunas realizaciones de la divulgación, se trata a un paciente que tiene un trastorno neurológico caracterizado por la desmielinización y/o pérdida axonal. Por ejemplo, el grado de desmielinización y/o pérdida axonal puede ser tal como se presenta en un paciente con una puntuación de 3, 3,5, 4, 4,5, 5, 5,5, 6, 6,5, 7 o más alta en la Escala Expandida del Estado de Discapacidad (EDSS; véase la Tabla 1 a continuación). También pueden usarse otras escalas de medición adecuadas (véase, por ejemplo, pp. 288-291 en McAlpine's Multiple Sclerosis, por Alastair Compston *et al.*, 4ª edición, Churchill Livingstone Elsevier, 2006).

**Tabla 1.** Escala Expandida del Estado de Discapacidad (EDSS)

0	Examen neurológico normal (todos los grados 0 en los sistemas funcionales [FS]: grado cerebral 1 aceptable)
1	Sin discapacidad, signos mínimos en 1 FS (es decir grado 1 excluyendo el grado cerebral 1)
1,5	Sin discapacidad, signos mínimos en > 1FS (>1 grado 1 excluyendo el grado cerebral 1)
2	Discapacidad mínima en 1 FS (1 FS grado 2, otros 0 o 1)
2,5	Discapacidad mínima en 2 FS (2 FS grado 2, otros 0 o 1)
3	Discapacidad moderada en 1 FS (1 FS grado 3, otros 0 o 1), o discapacidad leve en 3-4 FS (3-4 FS grado 2, otros 0 o 1) aunque totalmente ambulante
3,5	Totalmente ambulante pero con discapacidad moderada en 1 FS (1FS grado 3) y 1-2 FS grado 2; o 2 FS grado 3; o 5 FS grado 2 (otros 0 o 1)
4	Totalmente ambulante sin ayuda, autosuficiente, levantado unas 12 horas al día a pesar de la discapacidad relativamente grave que consiste en 1 FS grado 4 (otros 0 o 1), o combinaciones de grados menores que superan los límites de las etapas previas. Capaz de andar sin ayuda o descanso unos 500 m
4,5	Totalmente ambulante sin ayuda, levantado la mayor parte del día, capaz de trabajar un día completo, por otro lado puede tener alguna limitación de la actividad completa o requerir asistencia mínima; caracterizado por discapacidad relativamente grave, que consiste normalmente en 1 FS grado 4 (otros 0 o 1) o combinaciones de grados menores que superan los límites de las etapas previas. Capaz de andar sin ayuda o descanso durante unos 300 m

5	Ambulante sin ayuda o descanso durante aproximadamente 200 m; discapacidad suficientemente grave para afectar a las actividades diarias completas (por ejemplo trabajar el día completo sin disposiciones especiales). (Los equivalentes de FS habituales son 1 grado 5 solamente, otros 0 o 1; o la combinación de grados menores que exceden normalmente las especificaciones para la etapa 4,0)
5,5	Ambulante sin ayuda o descanso durante aproximadamente 100 m; discapacidad suficientemente grave para impedir las actividades diarias completas. (Los equivalentes de FS habituales son 1 grado 5 solamente, otros 0 o 1; o la combinación de grados menores que exceden normalmente los de la etapa 4,0)
6	Asistencia constante intermitente o unilateral (bastón, muleta o abrazadera) requerida para andar aproximadamente 100 m con o sin descanso. (Los equivalentes de FS habituales son combinaciones con > 2 FS grado 3+)
6,5	Asistencia bilateral constante (bastones, muletas o abrazaderas) requerida para andar aproximadamente 20 m sin descanso. (Los equivalentes de FS habituales son combinaciones con > 2 FS grado 3+)
7	Incapaz de caminar más allá de aproximadamente 5 m incluso con ayuda, esencialmente restringido a silla de ruedas; conduce la silla por sí mismo en una silla de ruedas convencional y se traslada solo; levantado en silla de ruedas unas 12 horas al día. (Los equivalentes de FS habituales son combinaciones con > 1 FS grado 4+; muy raramente, piramidal grado 5 solamente)
7,5	Incapaz de caminar más de unos pocos pasos; restringido a la silla de ruedas, puede necesitar ayuda en el traslado; conduce la silla por sí mismo pero no puede continuar en sillas de ruedas convencionales un día completo; puede requerir una silla de ruedas motorizada. (Los equivalentes de FS habituales son combinaciones con > 1 FS grado 4+)
8	Restringido esencialmente a la cama o a la silla o deambulando en silla de ruedas, pero puede estar fuera de la cama la mayor parte del día; conserva muchas funciones de autocuidado; generalmente tiene un uso efectivo de los brazos. (Los equivalentes de FS habituales son combinaciones, generalmente 4+ en varios sistemas)
8,5	Restringido esencialmente a la cama la mayor parte del día; tiene algún uso efectivo del brazo(s); conserva algunas funciones de autocuidado. (Los equivalentes de FS habituales son combinaciones, generalmente 4+ en varios sistemas)
9	Paciente encamado incapaz; puede comunicarse y comer. (Los equivalentes de FS habituales son combinaciones, en su mayoría grado 4+)
9,5	Paciente encamado totalmente incapaz; incapaz para comunicarse efectivamente o comer/tragar. (Los equivalentes de FS habituales son combinaciones, casi todos grado 4+)
10	Muerte debida a esclerosis múltiple

Como otro ejemplo, el grado de desmielinización y/o pérdida axonal puede ser tal como la de en un paciente que tiene más de 10, 12, 15, 20 o más lesiones hipointensas en T1. El número de dichas lesiones puede determinarse, por ejemplo, mediante métodos de MRI de rutina.

5 Como se describe en el presente documento, el sujeto puede tener una forma progresiva de trastorno de desmielinización, por ejemplo, EM (por ejemplo, EM progresiva primaria o EM progresiva secundaria) o enfermedad de Devic. En algunos casos, como por ejemplo, en la EM progresiva secundaria, el sujeto puede tener un trastorno que puede caracterizarse por una inflamación inicial seguida de desmielinización progresiva y/o pérdida axonal. El diagnóstico de la EM puede realizarse según los criterios de McDonald como se describe en, por ejemplo, McDonald *et al.*, Ann. Neurol., 2001, 50:120-127; o el criterio revisado en 2005 como se describe en, por ejemplo, Polman *et al.*, Annals of Neurology, 2005, 58(6):840-846.

15 En algunas realizaciones, el sujeto que se trata tiene la EM progresiva secundaria y una puntuación en la EDSS de más de 5, 5,5, 6, 6,5, 7, o más alta.

20 La progresión de la enfermedad en el sujeto puede ser tal que el sujeto muestre un aumento de al menos 1, 1,5, 2, 2,5, 3, 3,5 puntos o superior en la puntuación en la EDSS en el año anterior y/o al menos un aumento del 25 %, 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, o 100 % en la carga de lesión en T1 durante el año anterior.

Los parámetros adicionales que describen a los sujetos con un trastorno desmielinizante en estado avanzado pueden ser (a) volumen de lesión en T2 de más de 15 cm<sup>3</sup> y/o (b) área del cuerpo calloso de menos de 400 mm<sup>2</sup>.

25 En ciertas realizaciones, las terapias de combinación para su uso en el tratamiento de un sujeto proporcionan a los sujetos tratados efectos de neuroprotección, por ejemplo, protección de las células neuronales o procesos nerviosos (axones) de la muerte o de ser dañados. Estos efectos neuroprotectores no eliminan necesariamente todos los daños o la degeneración, sino más bien, retrasan o incluso detienen el progreso de la degeneración o una prevención del inicio del proceso de degeneración o una mejora de la patología o el trastorno. En algunas realizaciones, las terapias de combinación para el uso en el tratamiento de un sujeto ofrecen neuroprotección a al menos una parte del sistema nervioso, tal como por ejemplo el sistema nervioso central, por ejemplo, hipocampo, cerebelo, médula espinal, córtex (por ejemplo, córtex motor o somatosensorial), cuerpo estriado, prosencéfalo basal (neuronas colinérgicas), mesencéfalo ventral (células de la sustancia negra), y el locus cerúleo (células de

noradrenalina del sistema nervioso central).

En algunas realizaciones de las terapias de combinación para su uso en el tratamiento de un sujeto el sujeto que se trata es un sujeto que necesita neuroprotección, incluyendo sujetos que tienen desmielinización extensa y/o pérdida axonal tal como sujetos que tienen EM progresiva secundaria u otro trastorno desmielinizante como se ha especificado anteriormente. En algunas realizaciones de las terapias de combinación para su uso en el tratamiento de un sujeto los sujetos son mamíferos, por ejemplo, roedores u otro animal de laboratorio, por ejemplo, un primate no humano. En algunas realizaciones, el sujeto es un ser humano. En algunas realizaciones, el sujeto humano es mayor de 55, 57, 60, 65 o 70 años de edad. También se describen en el presente documento terapias de combinación para su uso en el tratamiento de un sujeto que comprenden (A) administrar a un animal de ensayo, es decir, un roedor (por ejemplo, ratón) (a) un compuesto de Fórmula I, como se describe en el presente documento, en la que R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> se seleccionan independientemente de OH, O<sup>-</sup>, y alcoxi (C<sub>1-6</sub>), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y (b) acetato de glatiramer o interferón beta; y (B) medir una puntuación clínica media de acuerdo con un modelo de encefalomiелitis autoinmune experimental, por ejemplo, un modelo de encefalomiелitis autoinmune experimental inducida por glicoproteína de oligodendrocitos crónica (MOG-EAE); por ejemplo, como se describe en el presente documento.

En algunas realizaciones, el DMF y/o MMF y el acetato de glatiramer o el interferón beta se administran en una cantidad y durante un periodo de tiempo suficiente para reducir la desmielinización y/o muerte axonal en el sujeto.

En algunas realizaciones, el DMF y/o MMF y el acetato de glatiramer o el interferón beta se administran en una cantidad y durante un periodo de tiempo suficiente para enlentecer la acumulación de discapacidad, por ejemplo, la progresión en la discapacidad, en el sujeto. En algunas realizaciones, el DMF y/o MMF y el acetato de glatiramer o el interferón beta se administran en una cantidad y durante un periodo de tiempo suficiente para disminuir la tasa de recaída. La acumulación de discapacidad/progresión en la discapacidad se refleja mediante, por ejemplo, un aumento en la puntuación en la EDSS y puede medirse como la duración del tiempo para un aumento de al menos un punto en la puntuación en la EDSS. Por ejemplo, el compuesto de Fórmula I y el acetato de glatiramer o el interferón beta pueden administrarse en una cantidad y durante un periodo de tiempo suficiente para mantener un aumento en la puntuación en la EDSS en 1 punto o menos durante 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 24, 36 meses o más tiempo.

En algunas realizaciones la terapia de combinación para su uso en el tratamiento de un sujeto incluye tratar al sujeto con una cantidad terapéuticamente eficaz de al menos un compuesto escogido de DMF y MMF. Para el DMF o el MMF, la cantidad terapéuticamente eficaz puede variar de 1 mg/kg a 50 mg/kg (por ejemplo, de 2,5 mg/kg a 20 mg/kg o de 2,5 mg/kg a 15 mg/kg). La dosis efectiva también variará, como se reconoce por los expertos en la materia, dependiendo de la vía de administración, el uso de un excipiente, y la posibilidad de la co-utilización con otros tratamientos terapéuticos que incluyen el uso de otros agentes terapéuticos. Por ejemplo, una dosis efectiva de DMF o MMF para administrarse a un sujeto, por ejemplo por vía oral, puede ser de 0,1 g a 1 g por día, por ejemplo de 100 mg a 800 mg por día (por ejemplo, de 120 mg a 740 mg por día, de 240 mg a 720 mg por día; o de 480 mg a 720 mg por día, o 720 mg por día). Una dosis efectiva de DMF o MMF también puede ser, por ejemplo, 100 mg por día, 200 mg por día, 300 mg por día, 400 mg por día, 500 mg por día, 600 mg por día, 700 mg por día, 800 mg por día, 900 mg por día, o 1 g por día. Las dosificaciones pueden administrarse una o más veces por día. Por ejemplo, 720 mg por día puede administrarse todo en una vez o en administraciones separadas de 2, 3, 4, 5 o 6 dosis (por ejemplo iguales).

En algunas realizaciones se usa una cantidad terapéuticamente eficaz de al menos uno de entre DMF o MMF y una cantidad terapéuticamente eficaz de acetato de glatiramer. En algunas realizaciones, la cantidad terapéuticamente eficaz de acetato de glatiramer en el uso de la invención puede variar de 1 mg por día a 100 mg por día. En otras realizaciones, la cantidad terapéuticamente eficaz de acetato de glatiramer puede variar de 5 mg por día a 50 mg por día. En otras realizaciones, la cantidad terapéuticamente eficaz de acetato de glatiramer puede variar de 5 mg por día a 30 mg por día, o de 10 mg por día a 30 mg por día. En otras realizaciones más, la cantidad terapéuticamente eficaz de acetato de glatiramer puede variar de 15 mg por día a 25 mg por día. En otras realizaciones, la cantidad terapéuticamente eficaz de acetato de glatiramer es 20 mg por día. En otras realizaciones, la cantidad terapéuticamente eficaz de acetato de glatiramer es de menos de la cantidad terapéuticamente eficaz cuando se usa en monoterapia (por ejemplo, 20 mg por día). En otras realizaciones, la cantidad terapéuticamente eficaz de acetato de glatiramer es de menos de 20 mg por día. Por ejemplo, la cantidad terapéuticamente eficaz de acetato de glatiramer puede variar de aproximadamente 5 mg por día a 19 mg por día, o de 10 mg por día a 19 mg por día o de 15 mg por día a 19 mg por día. Cualquiera de las cantidades anteriores de acetato de glatiramer puede administrarse todas en una vez o en administraciones separadas de 2, 3, 4, 5 o 6 dosis (por ejemplo iguales).

En algunas realizaciones las terapias de combinación para su uso en el tratamiento de un sujeto incluyen una cantidad terapéuticamente eficaz de al menos un compuesto de DMF o MMF y una cantidad terapéuticamente eficaz de interferón beta. En algunas realizaciones, la cantidad terapéuticamente eficaz de interferón beta en los métodos de la invención puede variar de 10 µg por semana a 500 µg por semana. En otras realizaciones, la cantidad terapéuticamente eficaz de interferón beta puede variar de 20 µg por semana a 300 µg por semana. En otras realizaciones, la cantidad terapéuticamente eficaz de interferón beta puede variar de 20 µg por semana a 200 µg por

semana. En otras realizaciones, la cantidad terapéuticamente eficaz de interferón beta puede variar de 20 µg por semana a 100 µg por semana. En otras realizaciones, la cantidad terapéuticamente eficaz de interferón beta puede variar 20 µg por semana a 80 µg por semana, o de 20 µg por semana a 60 µg por semana. En otras realizaciones, la cantidad terapéuticamente eficaz de interferón beta puede variar de 20 µg por semana a 40 µg por semana. En otras realizaciones, la cantidad terapéuticamente eficaz de interferón beta es 30 µg por semana. En otras realizaciones, la cantidad terapéuticamente eficaz de interferón beta es de menos de la cantidad terapéuticamente eficaz cuando se usa en monoterapia (por ejemplo, 30 µg por semana). En otras realizaciones, la cantidad terapéuticamente eficaz de interferón beta es de menos de 30 µg por semana. Por ejemplo, la cantidad terapéuticamente eficaz de interferón beta puede variar de 5 µg por semana a 29 µg por semana, o de 10 µg por semana a 29 µg por semana, o de 15 µg por semana a 29 µg por semana, o de 20 µg por semana a 29 µg por semana. Cualquiera de las cantidades anteriores de interferón beta puede administrarse todas en una vez o en administraciones separadas de 2, 3, 4, 5 o 6 dosis (por ejemplo iguales). En algunas realizaciones, el interferón beta se administra a una dosis de 5 µg a 80 µg a la vez.

En algunas realizaciones en las que el interferón beta es interferón beta-1a, el interferón beta-1a se administra (por ejemplo, por vía subcutánea o por vía intramuscular) a una dosis de 5 µg a 80 µg a la vez. En algunos ejemplos, el interferón beta-1a se administra a una dosis de 20 µg a 46 µg a la vez. En algunas realizaciones, el interferón beta-1a (por ejemplo, Avonex®) se administra (por ejemplo, por vía intramuscular) una vez a la semana. En algunas realizaciones, el interferón beta-1a (por ejemplo, Avonex®) se administra (por ejemplo, por vía intramuscular) a una dosis de 30 µg una vez a la semana. En algunas realizaciones, el interferón beta-1a (por ejemplo, Avonex®) se administra (por ejemplo, por vía intramuscular) a una dosis de menos de 30 µg una vez a la semana.

En algunas realizaciones, el interferón beta-1a se administra (por ejemplo, por vía subcutánea) dos veces a la semana equivalente a una dosis total de 10 µg a 160 µg por semana, o 40 µg a 92 µg por semana. En algunas realizaciones, el interferón beta-1a (por ejemplo, Rebif®) se administra (por ejemplo, por vía subcutánea) tres veces a la semana equivalente a una dosis total de 15 µg a 240 µg por semana, o 60 µg a 138 µg por semana.

En algunas realizaciones en las que el interferón beta es interferón beta-1b, el interferón beta-1b se administra (por ejemplo, por vía subcutánea o por vía intramuscular) a una dosis de 50 µg a 400 µg a la vez. En algunos ejemplos, el interferón beta-1b se administra a una dosis de 50 µg a 300 µg a la vez. En algunos ejemplos, el interferón beta-1b se administra a una dosis de 200 µg a 300 µg a la vez. En algunas realizaciones, el interferón beta-1b se administra una vez a la semana. En algunas realizaciones, el interferón beta-1b se administra dos veces a la semana equivalente a una dosis total de 100 µg a 800 µg por semana. En algunas realizaciones, el interferón beta-1b se administra tres veces a la semana equivalente a una dosis total de 300 µg a 1200 µg por semana. En algunas realizaciones, el interferón beta-1b (por ejemplo, Betaseron®) se administra (por ejemplo, por vía subcutánea) cada dos días. En algunas realizaciones, el interferón beta-1b (por ejemplo, Betaseron®) se administra (por ejemplo, por vía subcutánea) a una dosis de 200 a 300 µg cada dos días. En algunas realizaciones, el interferón beta-1b (por ejemplo, Betaseron®) se administra (por ejemplo, por vía subcutánea) a una dosis de 250 µg cada dos días. En algunas realizaciones, el interferón beta-1b (por ejemplo, Betaseron®) se administra (por ejemplo, por vía subcutánea) a una dosis de menos de 250 µg cada dos días.

El compuesto terapéutico de Fórmula 1 (DMF y/o MMF) y acetato de glatiramer o interferón beta pueden administrarse mediante cualquier método que permita la liberación de los agentes para el tratamiento de los trastornos neurológicos. Por ejemplo, el compuesto de Fórmula I y el acetato de glatiramer pueden administrarse a través de píldoras, comprimidos, microcomprimidos, gránulos, microgránulos, cápsulas (por ejemplo, que contiene microcomprimidos), supositorios, formulaciones líquidas para la administración oral, y en la forma de suplementos dietéticos. En algunas realizaciones el compuesto de Fórmula I y el acetato de glatiramer se formulan en una dosificación individual para su administración conjunta, mientras que en otras realizaciones el compuesto de Fórmula I y el acetato de glatiramer se formulan en formas de dosificación separadas para la administración por separado o conjunta. En un ejemplo cuando el compuesto de Fórmula 1 y el acetato de glatiramer se administran por separado, se administran a la vez. En otro ejemplo cuando el compuesto de Fórmula 1 y el acetato de glatiramer se administran por separado, se administran en momentos diferentes.

Las composiciones farmacéuticamente aceptables pueden incluir excipientes farmacéuticamente aceptables bien conocidos, por ejemplo, si la composición es una solución acuosa que contiene el agente activo, puede ser una solución salina isotónica, glucosa al 5 %, u otras. Los agentes solubilizantes tales como ciclodextrinas, u otros agentes solubilizantes bien conocidos por los expertos en la materia, pueden utilizarse como excipientes farmacéuticos para el suministro del compuesto terapéutico. Véase, por ejemplo, las Patentes de Estados Unidos nº. 6.509.376 y 6.436.992, incorporados para algunas formulaciones que contienen DMF. En cuanto a la vía de administración, las composiciones pueden administrarse por vía oral, intranasal, transdérmica, subcutánea, intradérmica, vaginal, intraóptica, intraocular, intramuscular, bucal, rectal, transmucosa, o mediante inhalación, o administración intravenosa. En algunas realizaciones el DMF se administra por vía oral.

El interferón beta se puede formular para la administración mediante inyección. Por ejemplo, en algunas

realizaciones el interferón beta se administra mediante inyección intramuscular mientras que en otras realizaciones se administra mediante inyección subcutánea o por vía intravenosa.

5 En algunas realizaciones, el método comprende administrar por vía oral una cápsula que contiene una preparación farmacéutica que esencialmente consiste en 60-240 mg (por ejemplo, 120 mg) de fumarato de dimetilo en la forma de microcomprimidos con cubierta entérica. En algunas realizaciones, el diámetro medio de dichos microcomprimidos es 1-5 mm, por ejemplo, 1-3 mm o 2 mm.

10 El compuesto de Fórmula I puede administrarse en la forma de una formulación farmacéutica de liberación sostenida o controlada. Dicha formulación puede prepararse mediante diversas tecnologías por un experto en la materia. Por ejemplo, la formulación puede contener el compuesto terapéutico, un polímero para el control de velocidad (es decir, un material que controla la velocidad a la que el compuesto terapéutico se libera de la forma de dosificación) y opcionalmente otros excipientes. Algunos ejemplos de estos polímeros para el control de velocidad son composiciones de hidroxil alquil celulosa, hidroxipropil alquil celulosa (por ejemplo, hidroxipropil metil celulosa, hidroxipropil etil celulosa, hidroxipropil isopropil celulosa, hidroxipropil butil celulosa e hidroxipropil hexil celulosa), óxido de poli(etileno), alquil celulosa (por ejemplo, etil celulosa y metil celulosa), carboximetil celulosa, derivados de celulosa hidrófilos, y polietilenglicol, por ejemplo, las descritas en el documento WO 2006/037342.

20 Los siguientes ejemplos son ilustrativos y no limitan el alcance de la divulgación o las reivindicaciones.

### Ejemplos

Ejemplo 1:

25 Eficacia del DMF en la MOG-EAE

El DMF se ensayó y se mostró que era efectivo en la encefalomiелitis autoinmune experimental crónica inducida por la glicoproteína de los oligodendrocitos (MOG-EAE) y para suprimir la infiltración de macrófagos sin suprimir la infiltración de células T. Véase también, Schilling *et al.*, "Fumaric Acid Esters Are Effective in Chronic Experimental Autoimmune Encephalomyelitis and Suppress Macrophage Infiltration," *Clinical and Experimental Immunology*, Vol. 145, n.º 1, pp. 101-107 (2006).

35 La Figura 1 compara la puntuación clínica media en 36 ratones tratados con el control (vehículo de methocel) a 42 ratones tratados con 15 mg/kg de DMF dos veces diarias a través de una sonda oral. Como se muestra, la puntuación clínica media se redujo mediante el tratamiento con DMF.

La Figura 2A muestra la desmielinización en un modelo de ratón con MOG-EAE en un ratón control. La Figura 2B muestra que la desmielinización se redujo mediante la administración de DMF.

La Figura 2C muestra el nivel de densidad axonal relativa en un modelo de ratón con MOG-EAE en un ratón control. La Figura 2D muestra que la pérdida axonal se redujo en los animales tratados con DMF.

40 Las Figuras 2E y 2F muestran la gliosis.

Ejemplo 2:

45 Titulación del acetato de glatiramer en la MOG-EAE

El acetato de glatiramer se ensayó y mostró sinergia con la atorvastatina en un sistema modelo de MOG-EAE para prevenir signos clínicos e histológicos de EAE. Véase también, Stüve *et al.*, "Immunomodulatory synergy by combination of atorvastatin and glatiramer acetate in treatment of SNC autoimmunity," *J Clin. Invest.*, Vol. 116, N.º 4, pp. 1037-44 (2006).

50 En este experimento los ratones se co-inyectaron con acetato de glatiramer y el antígeno MOG. Específicamente, un grupo control recibió solamente MOG, mientras que dos grupos experimentales recibieron dosis de 100 o 500 µg de acetato de glatiramer. Como se muestra en la Figura 3, el acetato de glatiramer redujo la puntuación clínica media de los grupos de 100 o 500 µg en forma dosis dependiente. Basado en los resultados de este experimento se escogió una dosis de 50 µg para su uso en experimentos de combinación.

Ejemplo 3:

60 Terapia de combinación de DMF y acetato de glatiramer en ratones

Se ensayó una combinación de DMF y acetato de glatiramer por su efecto en los síntomas de la EAE. Los grupos de tratamiento eran como sigue:

65 1) Ratones inmunizados con 200 µg de MOG/CFA (adyuvante completo de Freund) + 200 ng de PTX (toxina pertussis) + vehículo (methocel).

- 2) Ratones inmunizados con 200 µg de MOG/CFA y 50 µg de GA + vehículo.
- 3) Ratones inmunizados con 200 µg de MOG/CFA; tratamiento con DMF (15 mg/kg de peso).
- 4) Ratones inmunizados con 200 µg de MOG/ 50 µg de GA/CFA; tratamiento con DMF (15 mg/kg de peso).

5 Experimento a largo plazo: refuerzo adicional en el día 28 p.i.

La Figura 4 muestra los resultados de un co-terapia de DMF y GA durante la MOG-EAE crónica. Incidencia: methocel (6/6), methocel/GA (6/6), DMF (6/6), DMF/GA (3/6). Como se muestra, en la figura, a esta dosis ambos GA y DMF retrasaron el comienzo de los síntomas de la EAE. Sin embargo, el DMF tuvo poco o ningún efecto sobre la puntuación clínica media de la EAE durante la fase crónica de la enfermedad, mientras que el GA tuvo un efecto intermedio en esa etapa. En contraste, la combinación de DMF con GA redujo la puntuación clínica media de la EAE por debajo de la observada cuando se administró GA como monoterapia.

15 La Figura 5 presenta datos combinados de los dos experimentos (n= 12 por grupo). Incidencia: methocel (12/12), methocel/GA (11/12), DMF (9/12), DMF/GA (8/12).

20 La Figura 6 muestra el análisis histológico (tinción HE) de las médula espinales de los grupos de los diferentes tratamientos durante la fase de enfermedad crónica. Como se muestra en la figura, la monoterapia con GA reduce los infiltrados (como se refleja por el índice inflamatorio más bajo) mientras que la monoterapia con DMF no. La combinación de DMF con GA muestra incluso una mayor reducción en los infiltrados que la observada con solo GA.

La Figura 7 muestra que ni GA ni DMF reducen la infiltración por las células T.

25 La Figura 8 muestra que la combinación de GA con DMF resulta en una reducción en el número de macrófagos de infiltración, mientras que a las dosis ensayadas ni GA ni DMF solos lo hacen.

La Figura 9 muestra que tanto la monoterapia de GA como de DMF reducen la pérdida y destrucción axonal, mientras que la combinación de GA con DMF lo hacen en un grado aún mayor.

30 La Figura 10 muestra los resultados de una co-terapia de DMF y GA durante el curso a corto plazo de la MOG-EAE. Los datos presentados son para un solo experimento representativo (Figura 10A) y los datos combinados de tres experimentos (Figura 10B). Como se puede ver, la actividad del DMF es mayor que la del GA, mientras que la combinación de DMF con GA conduce a una reducción aún mayor en la aparición y el nivel de la puntuación clínica media de la EAE. Incidencia: methocel (15/18), methocel/GA (13/18), DMF (11/18), DMF/GA (9/9).

35 Ejemplo 4:

Terapia de combinación de DMF e interferón beta en ratones

40 El interferón beta se ha usado para tratar formas recidivantes-remitentes de EM y se sabe que reduce el riesgo de la progresión de la discapacidad. El interferón beta se cree que actúa a través de al menos uno de los siguientes mecanismos: reducción del número y tamaño de lesiones en la RMI activas; inhibición de la migración de las células T (a través de la inhibición de los MMP); inmunomodulación (cambio de una respuesta Th1 proinflamatoria a una Th2 antiinflamatoria); inhibición de la producción de IL-17 en las células CD4+; influencia en las rutas de señalización del NF-κB; y señalización por IFNAR en los monocitos.

Grupos de tratamiento:

- 50 1) Methocel v.o. y NaCl 0,9 % s.c.
- 2) DMF 15 mg/kg v.o. y NaCl 0,9 % s.c.
- 3) Methocel v.o. e IFN beta s.c. (10.000 U cada dos días)
- 4) DMF 15 mg/kg v.o. e IFN beta s.c. (10.000 U cada dos días)

55 La Figura 11 muestra los resultados de la administración de DMF e IFN beta a ratones con MOG-EAE. Incidencia: methocel (5/6), methocel/IFN beta (5/6), DMF (6/6), DMF/IFN beta (3/6). Como se muestra en la figura, durante un curso de corta duración de EAE las dosis ensayadas de DMF e IFN beta ambas agravaban la EAE comparado con los controles de methocel. En contraste, la combinación de DMF con IFN beta retrasó el conjunto de síntomas de la EAE y disminuyó la gravedad de los síntomas, tal como se midió mediante la puntuación clínica media de la EAE.

60 Los datos presentados en el presente documento, véase por ejemplo los ejemplos 3 y 4, muestran que las combinaciones de GA o IFN beta con DMF aumentan el efecto clínico del GA o DMF solos. En las fases aguda y crónica de la MOG-EAE la combinación de GA con DMF conduce a una conservación mejor de los axones que el tratamiento con GA o DMF solos. Los efectos adicionales en la infiltración de las células inmunes son menos prominentes (mediados principalmente por GA). En la fase aguda de la MOG-EAE la combinación de DMF con IFN beta aumenta la eficacia clínica del DMF.

65

Ejemplo 5:

Tratamiento de pacientes con esclerosis múltiple recidivante-remitente con DMF e interferones beta o acetato de glatiramer (GA).

5 En el momento de esta solicitud, se había iniciado un estudio en fase 2, abierto, multicéntrico para realizarse en aproximadamente 100 pacientes con EM recidivante-remitente (RRMS).

10 Se están reclutando sujetos que reciben un IFN beta (Avonex®, Rebif®, o Betaseron®) o GA como monoterapia. Se están evaluando la seguridad, eficacia y farmacodinámicas (PD) durante un periodo de monoterapia (IFN beta o GA) y un periodo de tratamiento de combinación los 6 meses posteriores con 240 mg de DMF TID (240 mg de DMF TID demostraron eficacia y un perfil de seguridad favorable en una fase de estudio 2b, y se está evaluando actualmente en dos grandes estudios en fase 3). Esta dosis permite una evaluación exhaustiva de las señales de seguridad de combinaciones potenciales. Para mejorar la tolerabilidad, el DMF se está administrando a una dosis inicial de 120 mg TID durante 1 semana. Tras una semana, los sujetos reciben 240 mg de DMF TID durante el resto del periodo de combinación.

20 Criterios de inclusión: Edad de 18 a 55 años, inclusive, en el momento del consentimiento informado; debe tener un diagnóstico confirmado de RRMS de acuerdo con los criterios de McDonald nº 1-4 (véase, por ejemplo, Polman *et al.*, Ann Neurol 58(6):840-846 (2005), incorporado en el presente documento como referencia), y tener una lesión o lesiones cerebrales previas que se demuestran por la MRI coherente con EM desde cualquier momento en el tiempo; debe tener una EDSS entre 0,0 y 5,0, inclusive; debe estar tomando la misma dosis de un IFN beta prescrito (cualquiera de Avonex®, Betaseron®, Rebif®) o GA durante al menos 12 meses de manera consecutiva en el tiempo de reclutamiento y permanecer en ese tratamiento durante la duración del estudio. A los sujetos que reciben Rebif deben prescribirseles 44 µg mediante inyección subcutánea tres veces por semana.

30 Criterios de exclusión: EM progresiva primaria, progresiva secundaria, o progresiva recidivante (por ejemplo, como se define por Polman *et al.*, Ann Neurol 58(6):840-846 (2005)); otra enfermedad crónica, del sistema inmune, tumores, enfermedad urológica aguda, pulmonar, gastrointestinal; mujeres embarazadas o lactantes; participación en los seis meses previos al reclutamiento del estudio en cualquier otro estudio de fármaco, biológico o de dispositivo.

35 El objetivo primario del estudio es evaluar la seguridad y la tolerabilidad del DMF administrado en combinación con IFN beta o GA en sujetos con RRMS.

Los objetivos adicionales del estudio son explorar la eficacia del DMF en combinación con IFN beta o GA, y explorar el efecto de la terapia de combinación en los biomarcadores potenciales de DMF y neopterinina para el IFN beta e IFN beta con DMF.

40 El criterio de valoración principal del estudio es evaluar la seguridad y tolerabilidad mediante la incidencia y el tipo de eventos adversos (AE), eventos adversos graves, AE que conducen a la interrupción del tratamiento del estudio, la incidencia y tipo de anomalías de laboratorio, y actividad de la enfermedad EM mediante imagen de resonancia magnética (MRI) en todos los sujetos.

45 Son criterios de valoración:

50 Eficacia: número medio de lesiones aumentadas con gadolinio (Gd+) nuevas y totales en las exploraciones del cerebro por MRI; número y volumen de lesiones hiperintensas en T2 nuevas o de extensión nueva y lesiones hipointensas en T1 nuevas; porcentaje de lesiones con Gd+ que se convierten en lesiones hipointensas en T1; medidas de la relación de atrofia y transferencia de magnetización; número de recaídas clínicas; estado de discapacidad que se evaluará por la Escala Expandida del Estado de Discapacidad (EDSS).

55 Resultados de salud: cambio en la función física medido por la escala de impacto de la esclerosis múltiple (MSIS-29); cambio en la función mental medido por la MSIS-29; cambio en la calidad de vida (QoL) medido por la forma corta del cuestionario de salud (SF-36) y el cuestionario europeo sobre calidad de vida (EQ) de 5 dimensiones (EQ-5D), que incluye la escala visual analógica EQ (EQ-VAS); cambio en la utilización de recursos sanitarios (HRU) medido por: 1) número de hospitalizaciones y visitas a urgencias (ER); 2) número de visitas no programadas al neurólogo debido a una recaída; 3) informes del paciente del formulario de tratamiento y cuidados de salud que incluye el número de otras visitas no programadas al neurólogo por razones no relacionadas con una recaída, el número de visitas a otros médicos (por ejemplo, urólogos) u otros profesionales sanitarios no médicos (por ejemplo, fisioterapeuta).

60 Farmacodinámica: evaluaciones exploratorias de los marcadores de la ruta Nrf2 y otros marcadores antiinflamatorios que pueden responder al tratamiento con DMF a nivel de proteína y/o ácido ribonucleico (ARN); cambios en la concentración de neopterinina para sujetos en terapia con IFN beta e IFN beta con DMF.

65 Los sujetos se agrupan de acuerdo con sus terapias actuales. Hay dos grupos de tratamiento que comprenden aproximadamente 50 sujetos cada uno como sigue: Grupo 1 (IFN beta) y Grupo 2 (GA). Después de la selección y

tras el reclutamiento, estos sujetos continúan en sus tratamientos prescritos durante 2 meses. Tras dos meses de monoterapia, todos los grupos reciben 240 mg de DMF tres veces diarias (TID) en combinación con sus monoterapias para la EM existentes durante 6 meses adicionales. (Durante la primera semana de la administración de una dosis de DMF, se administran 120 mg TID. Tras una semana, la administración de la dosis diaria se incrementa a 240 mg de DMF TID).

La duración total del periodo de tratamiento es aproximadamente 8 meses. El programa de visitas consiste en una visita de examen; visitas mensuales de monoterapia (semana -8 (reclutamiento) y semana -4); visitas mensuales de terapia de combinación (semanas 0 [línea basal], 4, 8, 12, 16, 20 y 24) y una visita de seguimiento (aproximadamente 14 días después de la última dosis de DMF). En caso de que el sujeto experimente una recaída, se produce una visita de evaluación de la recaída (visita no programada de evaluación de una recaída).

Las evaluaciones de seguridad incluyen el examen físico, signos vitales, ECG de 12 derivaciones, química sanguínea, hematología, urianálisis, monitorización de los eventos adversos (AE), y actividad de la enfermedad EM mediante MRI en todos los sujetos.

La eficacia se evalúa en función de los cambios en la MRI del cerebro, con y sin Gd, (lesiones hiperintensas en T2, lesiones hipointensas en T1, lesiones Gd+, atrofia cerebral) y se determina la tasa de recaída clínica. El estado de discapacidad se mide mediante la EDSS.

Ejemplo 6:

Farmacocinética del DMF solo y con IFN Beta-1A o acetato de glatiramer en voluntarios sanos

Para evaluar la potencial interacción de los fármacos por la co-administración de DMF + IFN beta-1a intramuscular (IM) o GA subcutáneo (SC) en dos estudios fase 1, abiertos, de un solo centro, aleatorizados, cruzados en cada uno se reclutaron 26 voluntarios sanos. Las secuencias de administración de la dosis comprendieron dos periodos de administración separados por 7 días. El tratamiento consistía en 240 mg de DMF tid durante 2 o 3 días solo (GA y IFN beta-1a respectivamente) o dado con una única inyección IM de 30 µg de IFN beta-1a o SC de 20 mg de GA administrada en el día 2. Se evaluaron parámetros de farmacocinética (PK), signos vitales, ECG, y eventos adversos (AE).

Veinticinco sujetos completaron el estudio DMF + GA y 24 sujetos completaron el estudio DMF + IFN beta-1a. Las concentraciones del metabolito de DMF (Fumarato de monometilo [MMF]) en todos los grupos de tratamiento eran comparables, lo que sugiere que no hubo efectos clínicamente significativos del IFN beta-1a IM o el GA en la disposición del DMF. Los eventos adversos más comunes eran el sofoco con el DMF solo (ambos estudios) y DMF + GA, y síntomas de tipo gripal con DMF + IFN beta-1a IM. No hubo AE graves o muertes. Un sujeto con aumento moderado de las enzimas hepáticas y neutropenia que seguía el tratamiento con DMF + IFN beta-1a IM se retiró del estudio. En el estudio de DMF + GA, un sujeto no continuó tras recibir DMF solo debido a un nódulo eritematoso facial leve y 1 sujeto no continuó por náuseas leves tras recibir el DMF + GA. Se observó un leve aumento en la temperatura y el pulso solo después de la administración de IFN beta-1a IM; ningún sujeto se retiró por estas razones. Se observaron cambios hematológicos en los sujetos que recibieron DMF solo y DMF + GA (neutropenia leve y anemia); ningún sujeto se retiró por estas razones. No se observaron anomalías clínicamente significativas en el examen físico o el ECG. Por lo tanto, no se plantearon nuevas señales de seguridad en este estudio en los voluntarios sanos a los que se les dio DMF solo o en combinación con IFN beta-1a IM o GA (Tabla 2).

Estos resultados también muestran que el perfil de PK del DMF no se alteró por la coadministración con IFN beta-1a IM o GA, lo que indica que no hubo interacción de los fármacos.

**Tabla 2:** Sumario de los eventos adversos más comunes (AE)

AE (%)	IFN beta-1a		GA	
	DMF solo (n=24)	DMF + IFN beta-1a (n=26)	DMF solo (n=25)	DMF + GA (n=25)
Cualquier AE	71	100	84	92
Sofoco	50	81	76	85
Enfermedad tipo gripal	0	85	0	0
Parestesia	21	23	32	19
Prurito	4	8	28	19
Cefalea	13	8	12	15
Diarrea	0	0	8	15
Náuseas	4	4	8	12

Ejemplo 7:

Formulación ejemplar para el DMF

5 En este ejemplo, el DMF se formula en cápsulas que contienen microcomprimidos recubiertos entéricamente. La cubierta de los microcomprimidos se compone de diferentes capas. La primera capa es una solución de copolímero de ácido metacrílico - metacrilato de metilo/alcohol isopropílico que aísla los núcleos del comprimido de la potencial hidrólisis de las suspensiones de agua aplicadas a continuación. Después la cubierta entérica del comprimido se confiere mediante una suspensión acuosa de copolímero de ácido metacrílico - acrilato de etilo. Los componentes completos y la composición cuantitativa de las cápsulas se exponen en la Tabla 3.

**Tabla 3:** Formulación ejemplar del DMF

Ingredientes	Cantidad/cápsula	Función
<b>Núcleos de los microcomprimidos</b>		
<i>Principios activos:</i>		
Fumarato de dimetilo*	120,00 mg	principio activo
<i>Excipientes:</i>		
Croscarmelosa de sodio	15,00 mg	disgregante
Celulosa microcristalina	131,60	relleno
Estearato de magnesio	5,00 mg	lubricante
Talco	19,80 mg	emoliente
Sílice coloidal anhidra	2,60 mg	emoliente
<i>Masa del núcleo de microcomprimidos</i>	294,00 mg	
<b>Cubierta de los microcomprimidos</b>		
<i>Excipientes:</i>		
Citrato de trietilo **	7,60 mg	plastificante
Copolímero de ácido metacrílico-metil metacrilato (1:1) como solución al 12,5 %** de copolímero de ácido metacrílico-metil metacrilato (1:1)	5,50 mg  (44,00 mg)	agente de recubrimiento de película
Simeticona (correspondiente a Simeticona de la Ph Eur) así como emulsión de simeticona USP**	0,17 mg  (0,53 mg)	agente anti-espumante
Talco micronizado**	13,74 mg	lubricante
Copolímero de ácido metacrílico – acrilato de etilo (1:1) así como dispersión al 30 %** del copolímero de ácido metacrílico - acrilato de etilo (1:1)	33,00 mg  (110,00 mg)	agente de recubrimiento de película
<i>Masa de la cubierta entérica de los microcomprimidos</i>	354,01 mg	
<i>Masa de la gelatina de la cápsula</i>	96,00 mg	
<i>Masa de la cápsula llena</i>	450,01 mg	

10

Los procesos de fabricación y los controles del proceso incluyen lo siguiente:

- 15 A) Los principios activos y no activos se pesan y cada material de partida se identifica con un etiquetado apropiado (denominación, número de lote, cantidad).
- 15 B) Mezclado: Se prepara una mezcla del polvo que contiene el principio activo fumarato de dimetilo y todos los excipientes del núcleo de los microcomprimidos.
- 20 C) Fabricación de comprimidos: Una prensa rotativa se equipa con múltiples herramientas perforadoras, un eliminador de polvo y la mezcla de polvo se comprime de acuerdo con las especificaciones dadas.
- 20 D) Recubrimiento de película: De acuerdo con los métodos de recubrimiento de película comúnmente usados los núcleos del microcomprimido se aíslan mediante la pulverización de una solución de aislamiento usando un equipo de recubrimiento de película. Los núcleos aislados se pulverizan con una suspensión de recubrimiento entérico en el molde de recubrimiento de película. Se controlan la gastrorresistencia de los microcomprimidos y el contenido de principio activo.
- 25 E) Relleno de la cápsula: basándose en el principio activo de los microcomprimidos las cápsulas se llenan con una cantidad correspondiente a 120 mg de principio activo por cápsula. Se controlan el peso del relleno de la cápsula y la longitud de la cápsula.
- F) Envasado: Las cápsulas se envasan en una máquina de formación de blísteres en blísteres de PVC / PE / PVDC termoformado - Aluminio.

30 Ejemplo 8:

Efectos de las terapias de combinación que implican DMF/Acetato de glatiramer así como DMF/IFN beta en ratones

5 Se estudiaron los efectos de la terapia de combinación con dosis subóptimas de GLAT (50 mg s.c. así como la co-  
inmunización con MOG) o interferón beta murino (10.000 U s.c. tres veces semanalmente) y DMF (15 mg/kg de  
peso) en el curso de la MOG-EAE (n=6 por grupo). En la fase de enfermedad aguda (día 26 o día 18 p.i.,  
respectivamente), se analizaron los parámetros de inflamación así como la integridad del tejido del SNC. Para este  
fin, los ratones C57BL/6 o del tipo salvaje de 12 semanas se inmunizaron activamente con 200 mg del péptido MOG  
35-55 y la toxina pertussis. En el día 18 o 26 p.i., se realizó una histoquímica para identificar células T  
10 (inmunohistoquímica de CD3), macrófagos/microglía (Mac-3), desmielinización (tinción azul rápido de Luxol), y  
pérdida axonal (impregnación con plata de Bielschowsky). Los cambios histológicos se cuantificaron por un  
observador ciego contando seis campos visuales en las secciones transversales de la médula espinal que  
comprenden la médula espinal cervical, torácica y lumbar. Las evaluaciones estadísticas se realizaron mediante el  
ensayo de Kruskal-Wallis o ensayo t. \*\* p < 0,01; \*\*\* p < 0,001.

15 Resultados: El tratamiento con ambos DMF y GA o DMF e IFN beta resultó en efectos beneficiosos en el curso de la  
MOG-EAE aguda (Figura 10A y Figura 15).

20 La combinación de DMF y GA condujo a una conservación significativa del axón en el día 26 p.i. (Figura 12) y  
también en la fase crónica de la enfermedad (datos no mostrados).

Mientras que el DMF solo reduce eficientemente los números de macrófagos/microglía, la combinación de DMF y  
GA también conduce a números significativamente más bajos de células T en lesiones de la EAE (Figura 13 y Figura  
14).

25 En cambio la co-terapia DMF/IFN beta reduce principalmente los números totales de infiltrados sin alterar la cantidad  
de células de infiltración una vez las lesiones se establecen (Figura 16 y Figura 17).

En todos los experimentos, la terapia de combinación era bien tolerada.

30 Conclusión: El DMF puede actuar en sinergia con otros agentes inmunomoduladores en el tratamiento de la  
autoinmunidad del SNC. Estos datos proporcionan una razón para ensayar terapias de combinación que incluyan el  
DMF en los ensayos clínicos de la EM.

35 Habiendo descrito ahora totalmente esta invención, se entenderá por los expertos en la materia que la misma se  
puede realizar dentro de un intervalo amplio y equivalente de condiciones, formulaciones y otros parámetros sin  
afectar al alcance de la invención o cualquier realización de la misma.

40 Otras realizaciones de la invención serán evidentes para los expertos en la materia a partir de la consideración de la  
memoria descriptiva y la práctica de la invención descrita en el presente documento. Se pretende que la memoria  
descriptiva y los ejemplos se consideren solamente como de ejemplo.

**REIVINDICACIONES**

- 5 1. Una terapia de combinación que consiste en (a) fumarato de dimetilo (DMF) y/o fumarato de monometilo (MMF) y (b) acetato de glatiramer, para su uso en el tratamiento de un sujeto que tiene esclerosis múltiple (EM).
2. La terapia de combinación para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en la que se han de administrar al sujeto 20 mg/día de acetato de glatiramer.
- 10 3. La terapia de combinación para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en la que se han de administrar al sujeto menos de 20 mg/día de acetato de glatiramer.
- 15 4. La terapia de combinación para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que el DMF y/o MMF y el acetato de glatiramer son para su uso en (i) reducir una tasa de recaída en el sujeto; o (ii) reducir la desmielinización y/o la muerte axonal en el sujeto.
- 20 5. La terapia de combinación para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que el DMF y/o MMF y el acetato de glatiramer se formulan en una forma de dosificación individual.
6. La terapia de combinación para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en la que el DMF y/o MMF y el acetato de glatiramer se formulan en formas de dosificación separadas para la administración por separado o conjunta.
- 25 7. Una terapia de combinación que consiste en (a) DMF y/o MMF y (b) interferón beta, para su uso en el tratamiento de un sujeto que tiene EM.
8. La terapia de combinación para su uso de acuerdo con la reivindicación 7, en la que el interferón beta se selecciona de interferón beta-1a e interferón beta-1b.
- 30 9. La terapia de combinación para su uso de acuerdo con la reivindicación 8, en la que el interferón beta es interferón beta-1a.
10. La terapia de combinación para su uso de acuerdo con la reivindicación 9, en la que el interferón beta-1a se ha de administrar a una dosis de 5 µg a 80 µg a la vez.
- 35 11. La terapia de combinación para su uso de acuerdo con la reivindicación 10, en la que el interferón beta-1a se ha de administrar una vez a la semana.
- 40 12. La terapia de combinación para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que la EM se selecciona de EM recidivante-remitente, EM progresiva secundaria, EM progresiva primaria, EM progresiva recidivante y síndrome clínico aislado.
13. La terapia de combinación para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que el compuesto seleccionado de DMF, MMF y combinaciones de los mismos es DMF.
- 45 14. La terapia de combinación para su uso de acuerdo con la reivindicación 13, en la que se han de administrar 240 mg de DMF al sujeto a la vez.
- 50 15. La terapia de combinación para su uso de acuerdo con la reivindicación 14, en la que el DMF se ha de administrar al sujeto dos veces por día (BID) equivalente a una dosis diaria total de 480 mg por día.

# Figura 1

Curso clínico de la enfermedad

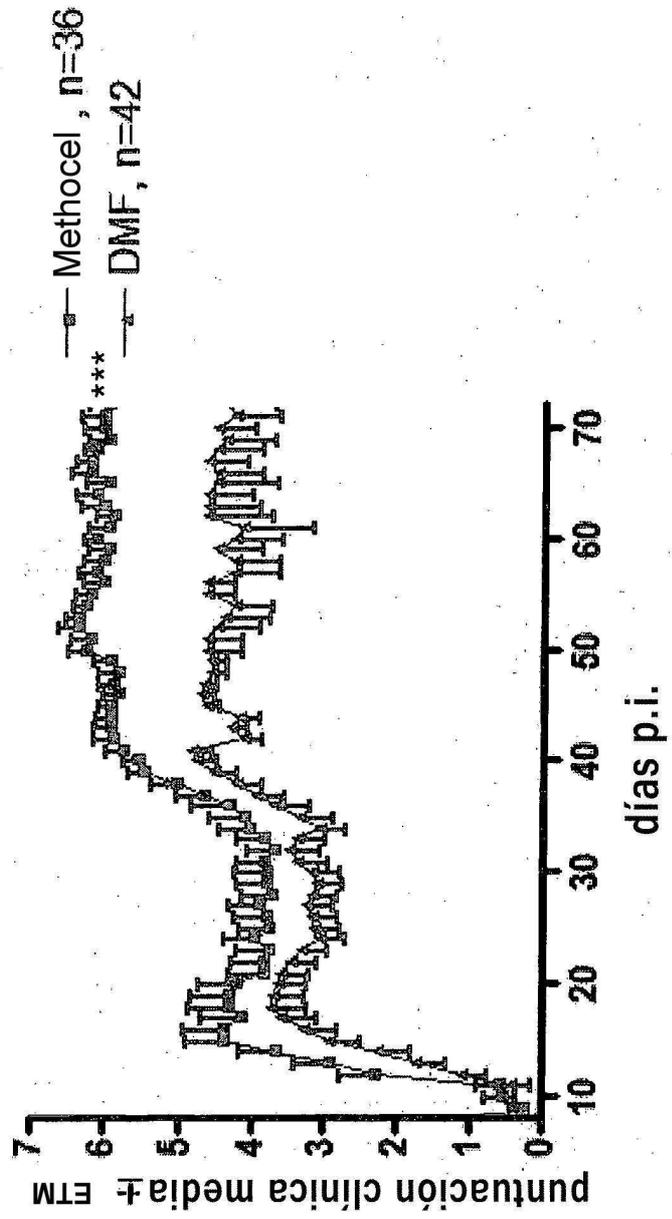
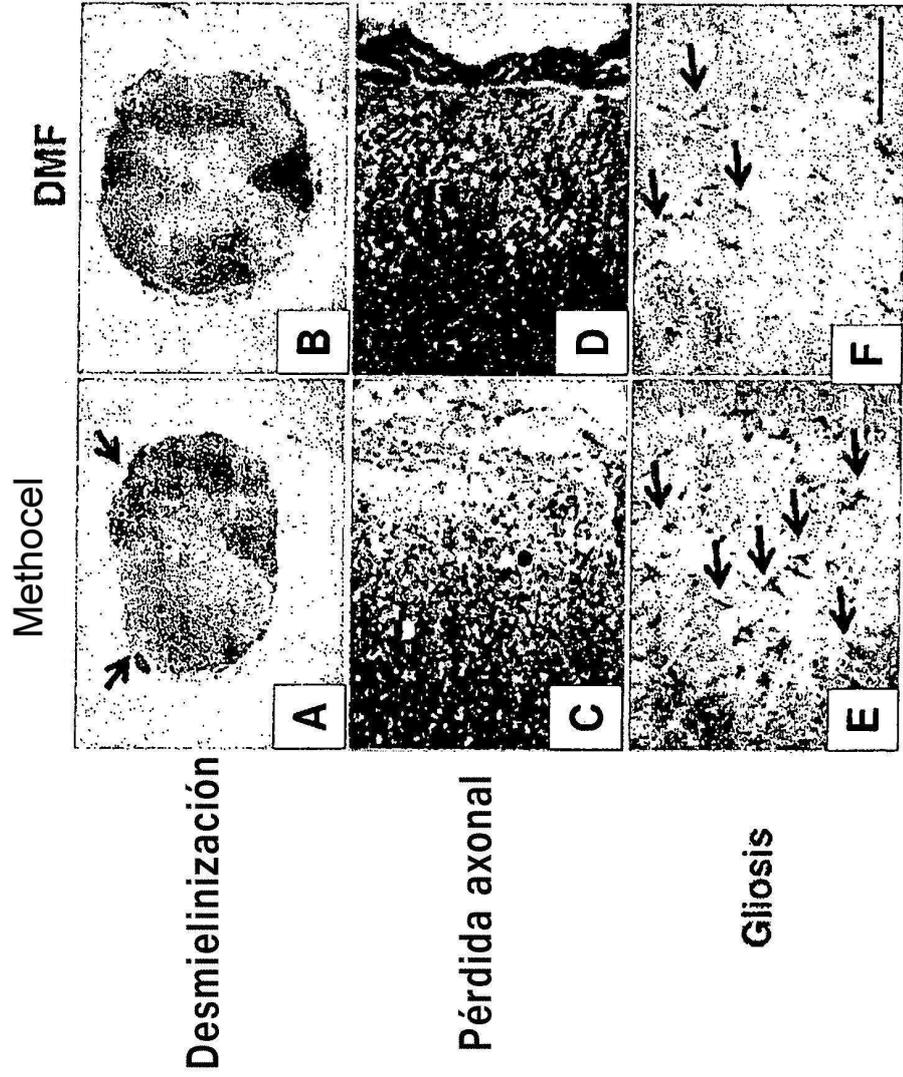
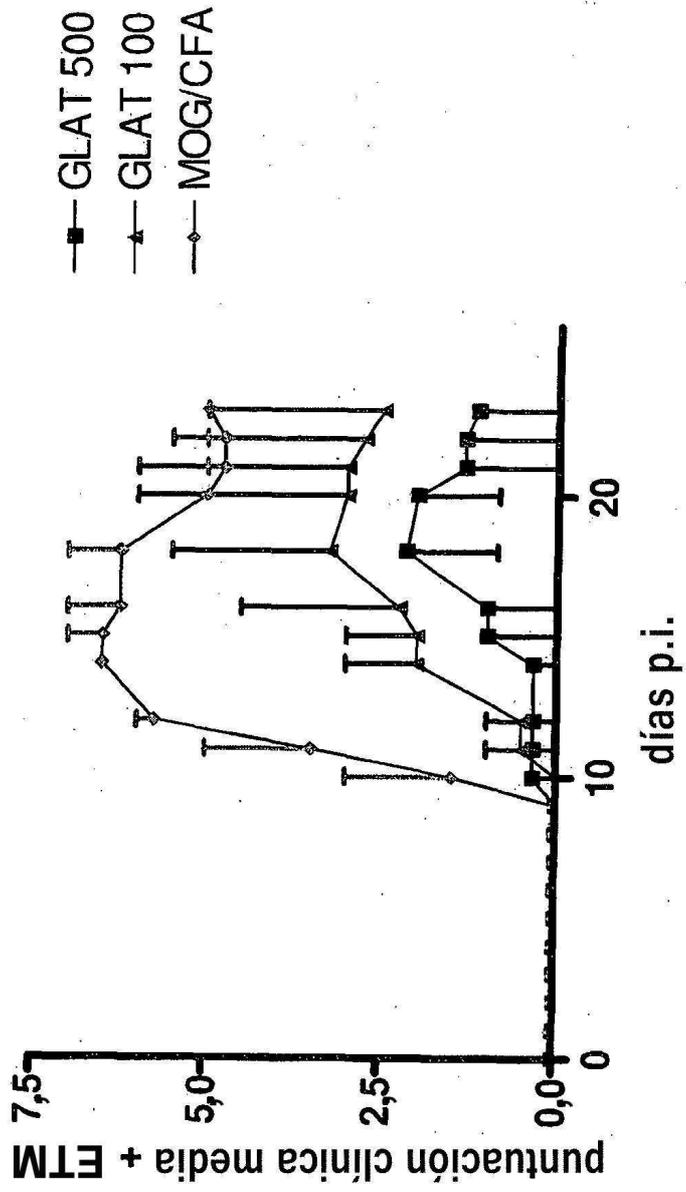


Figura 2

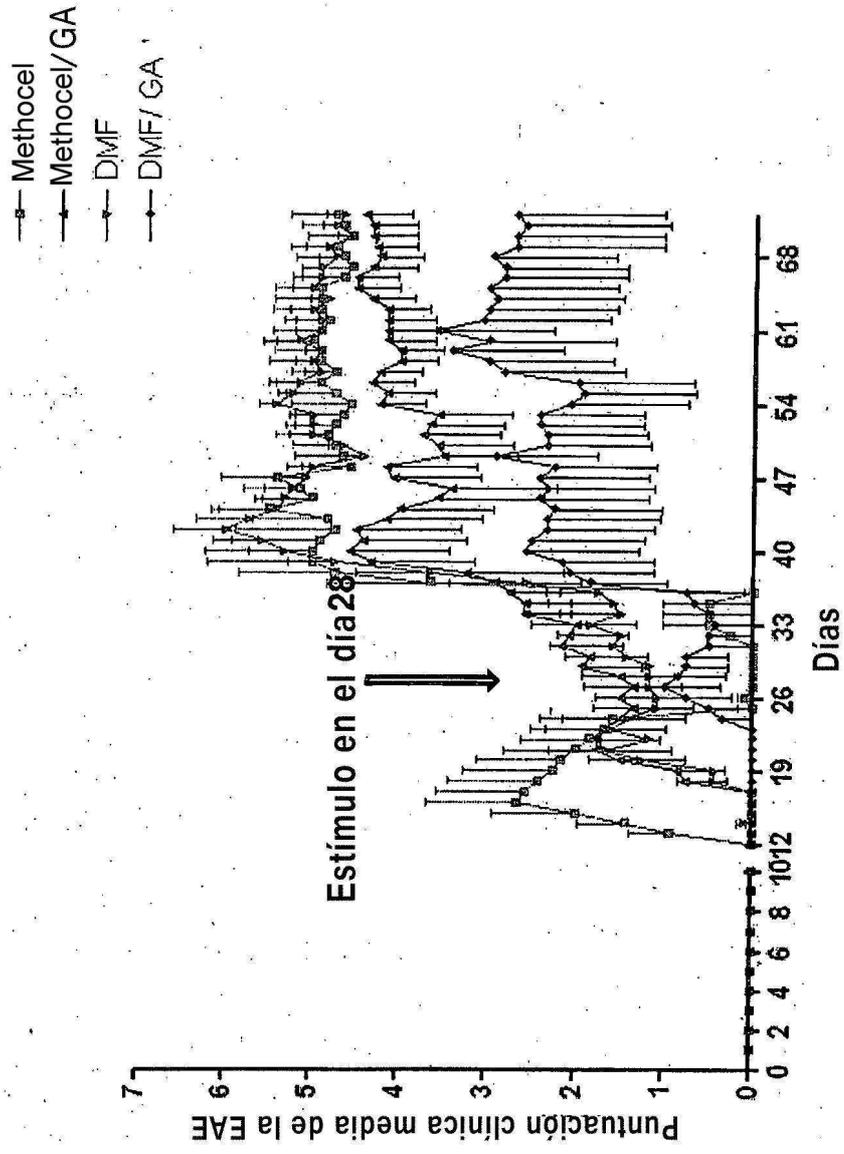


# Figura 3

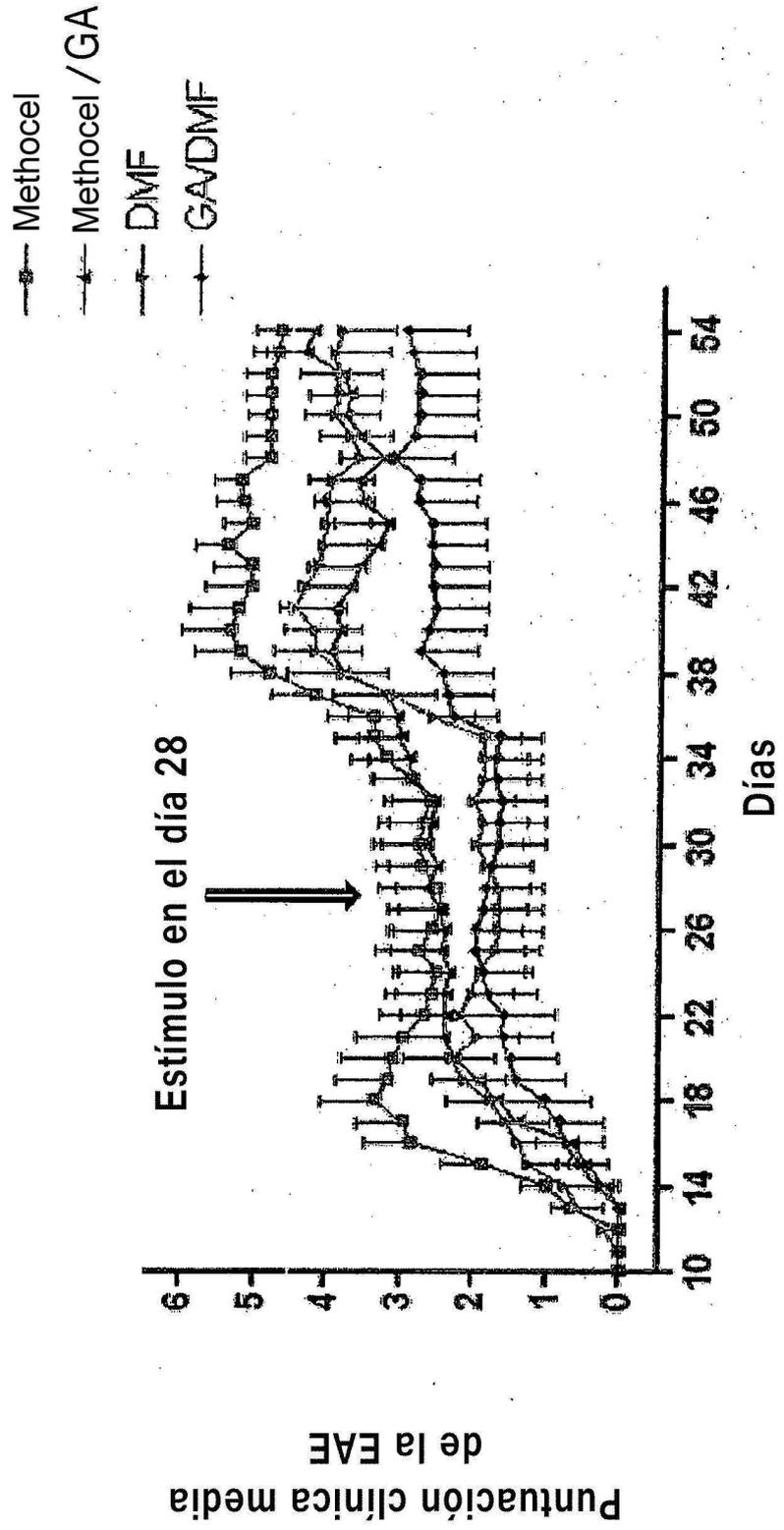
Protocolo de co-inmunización (GLAT/MOG)



# Figura 4

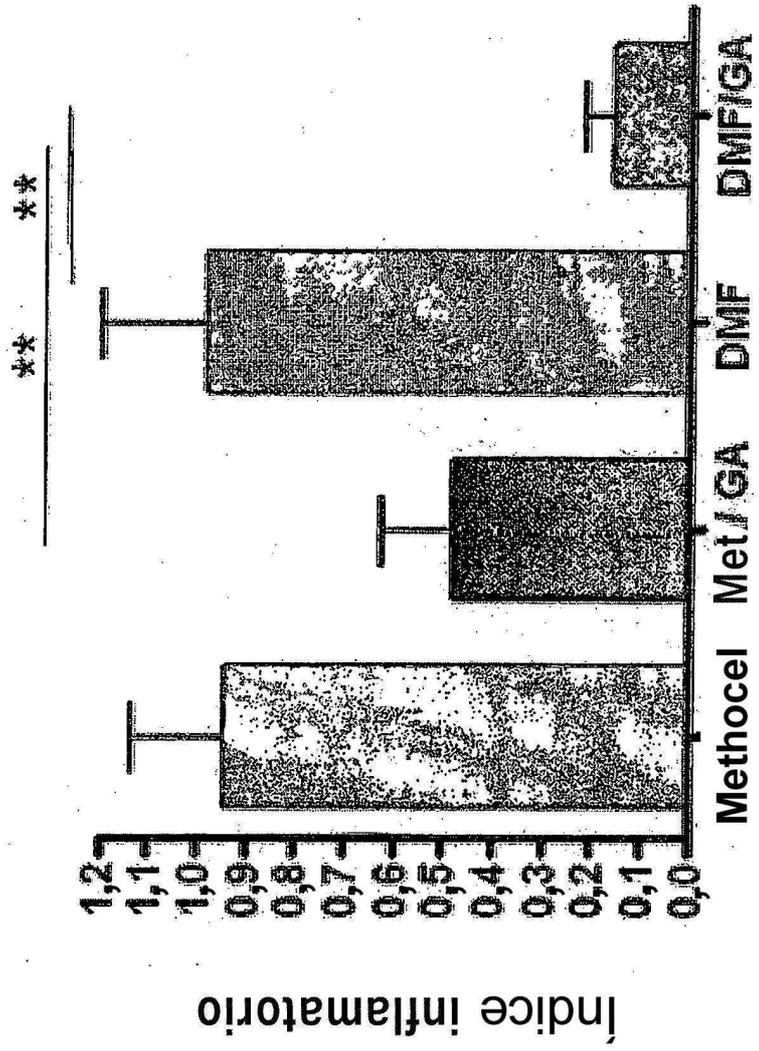


# Figura 5

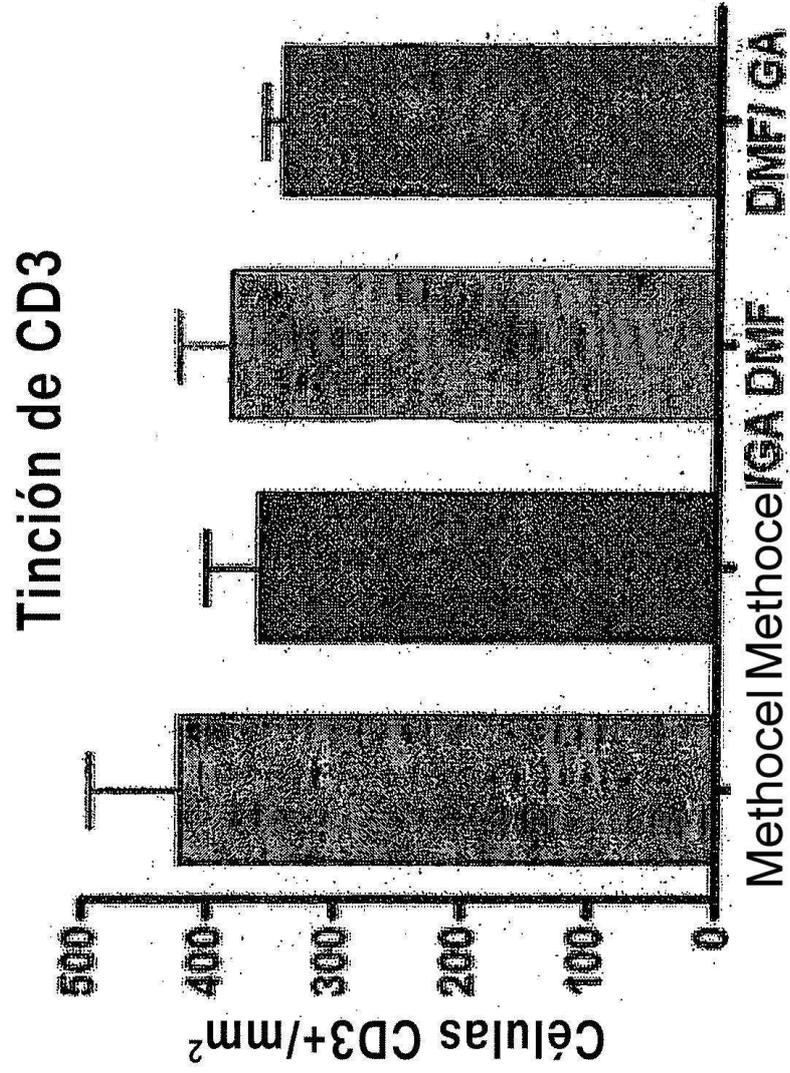


# Figura 6

Tinción HE



# Figura 7



# Figura 8

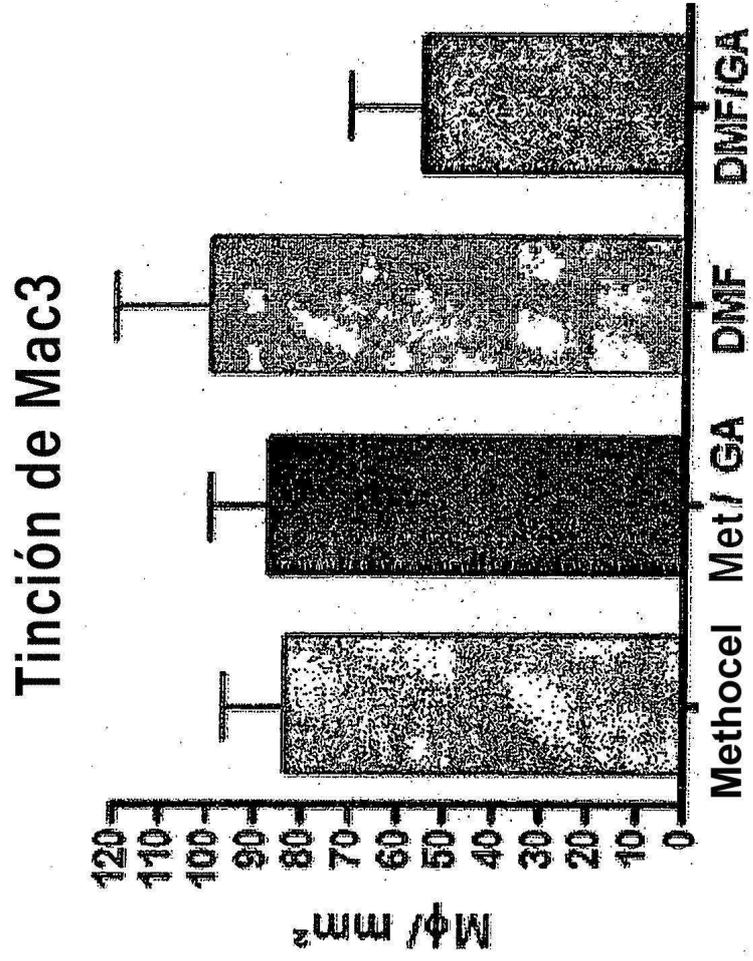


Figura 9

Impregnación con plata

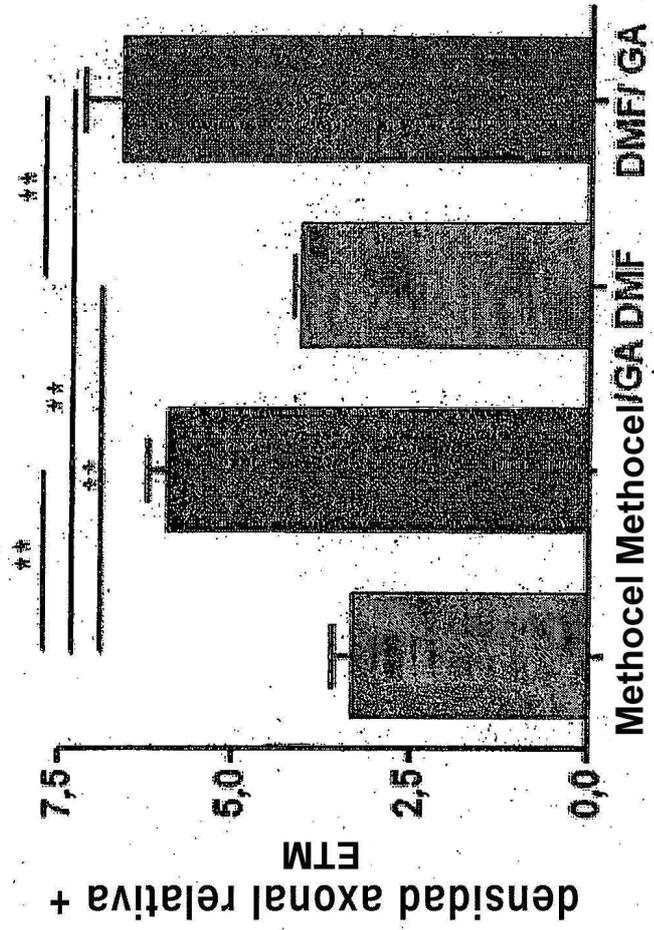


Figura 10A

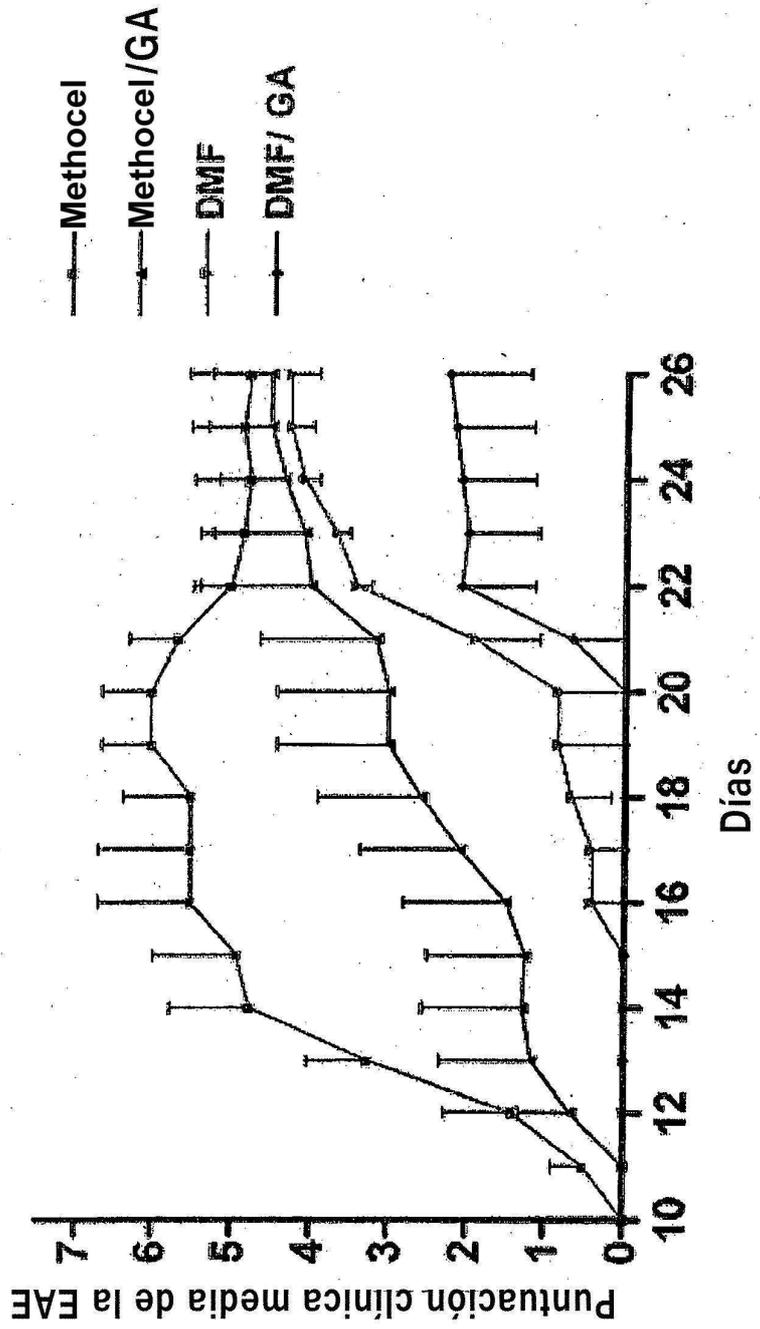
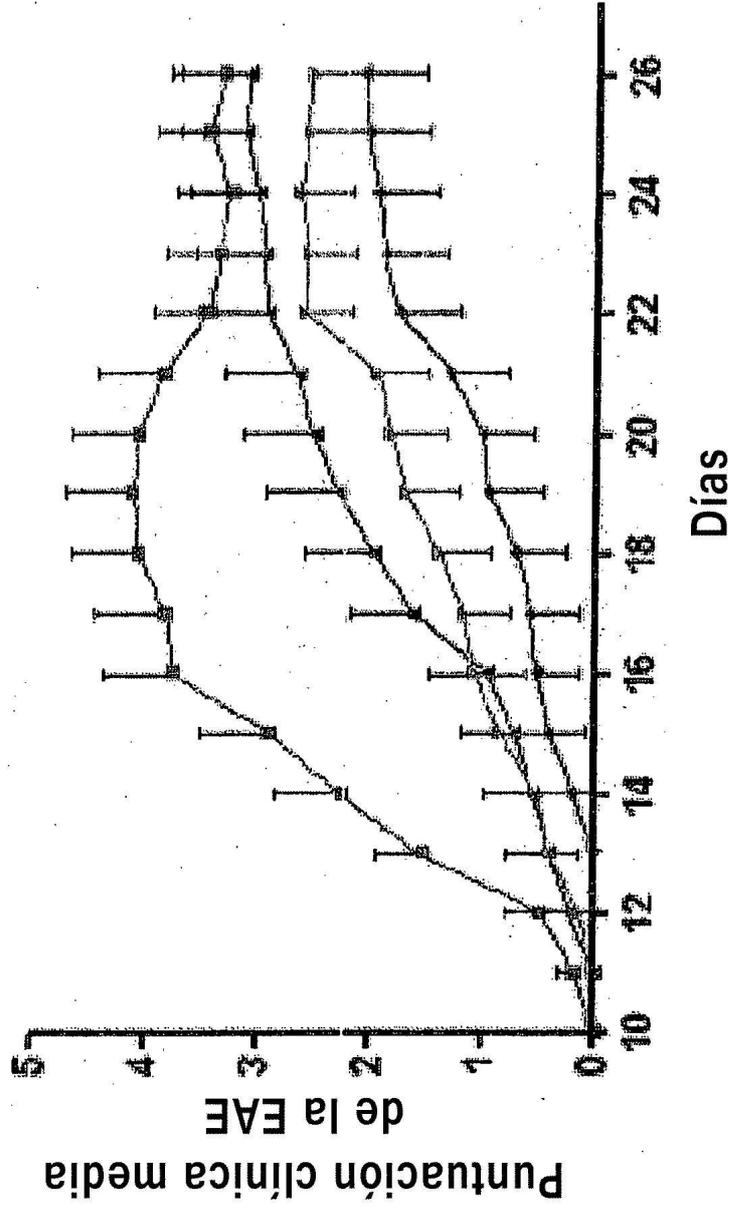
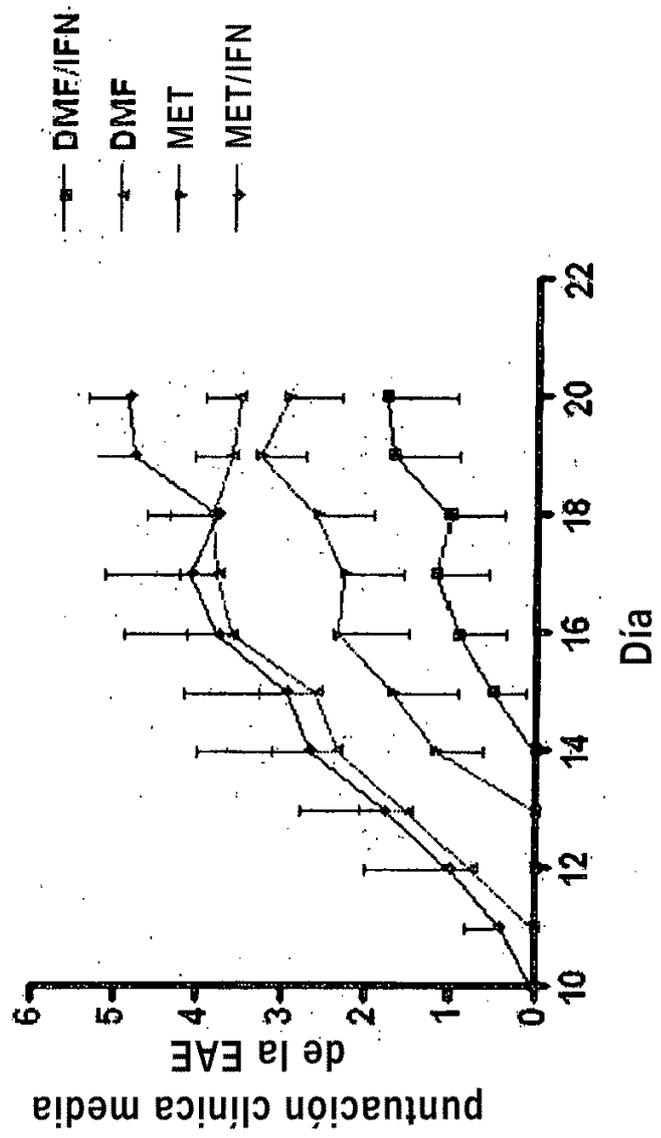


Figura 10B

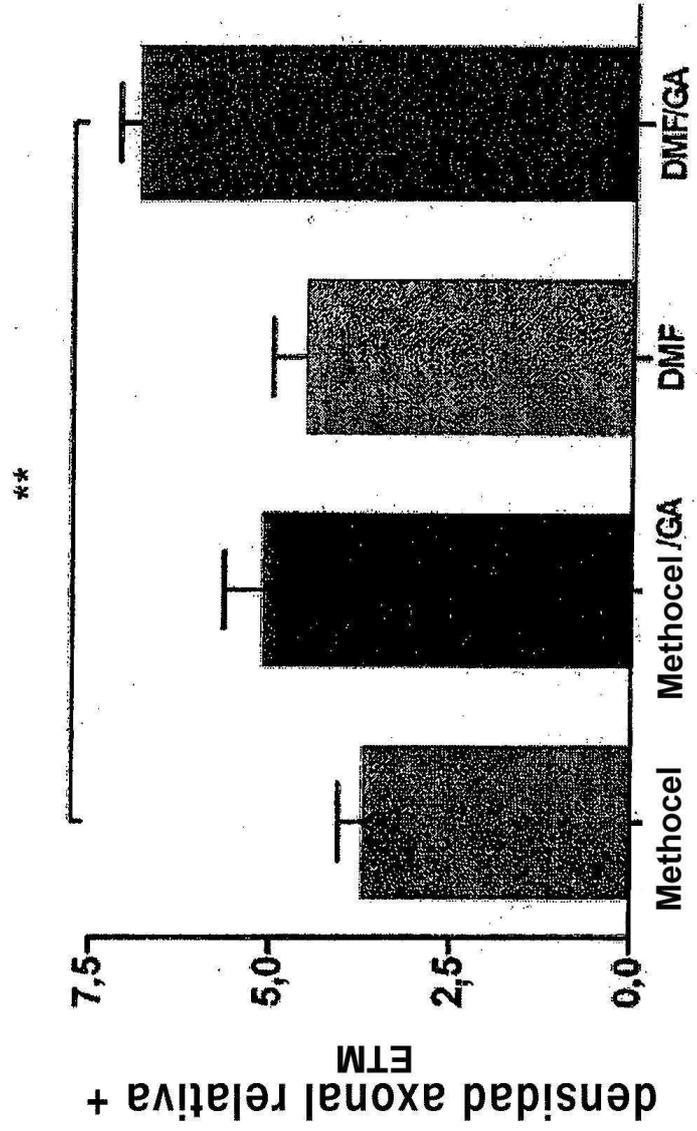


# Figura 11



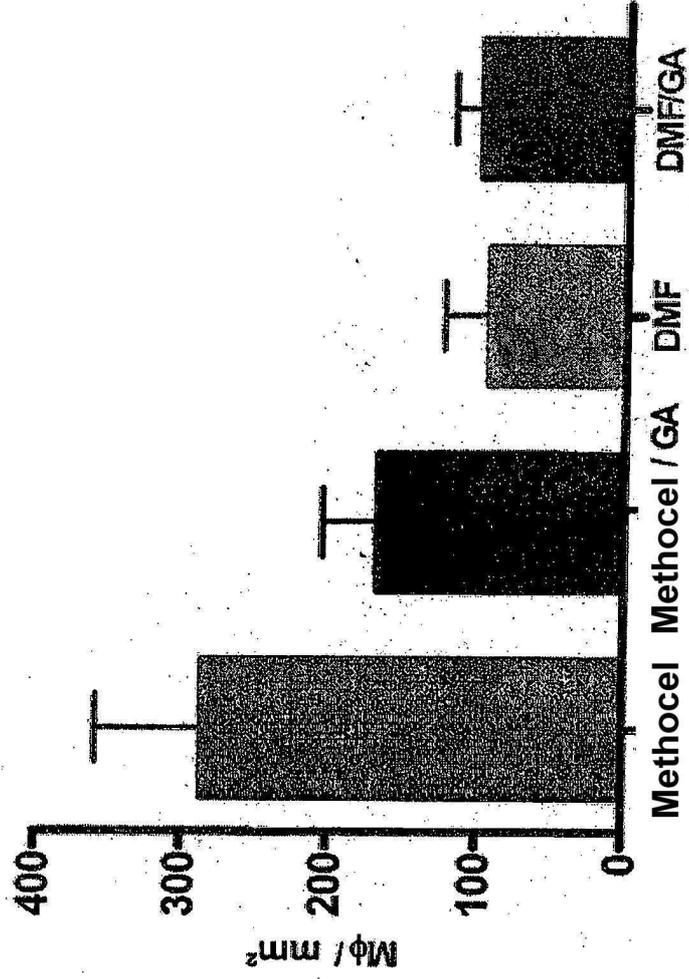
# Figura 12

## Co-terapia con DMF/GA Densidades axonales



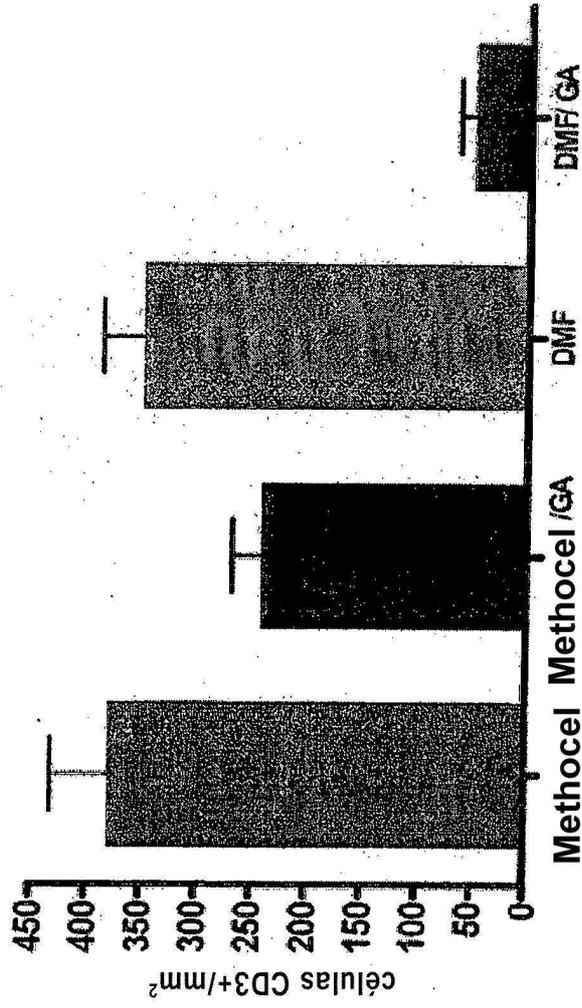
# Figura 13

Co-terapia con DMF/GA  
Macrófagos/microgía



# Figura 14

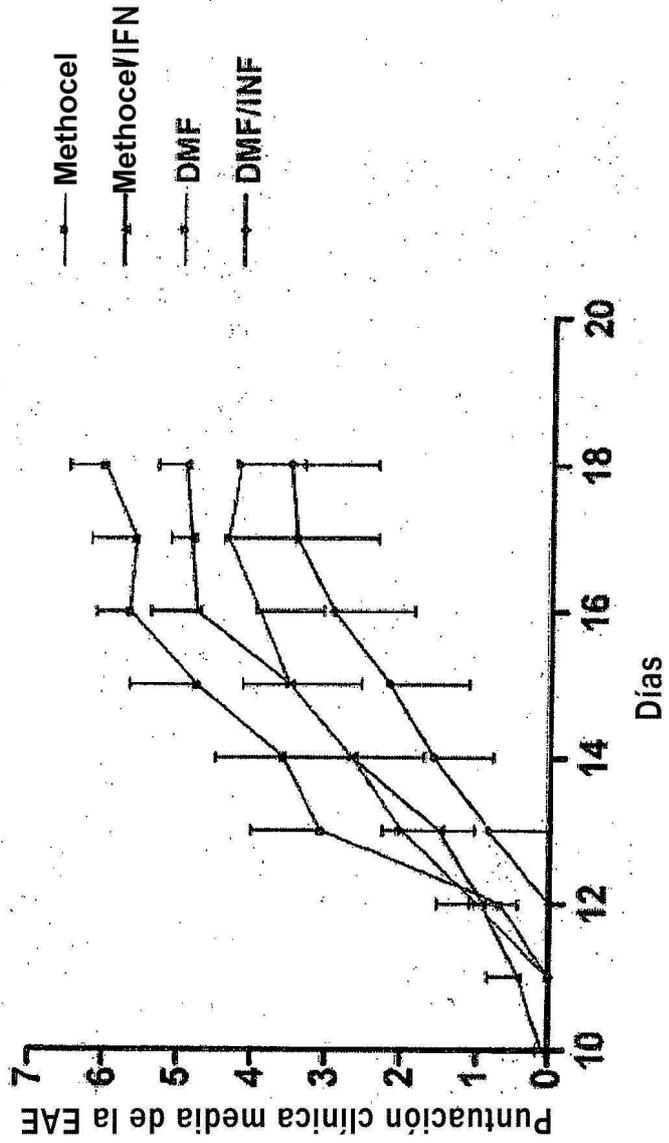
## Co-terapia con DMF/GA Células T



# Figura 15

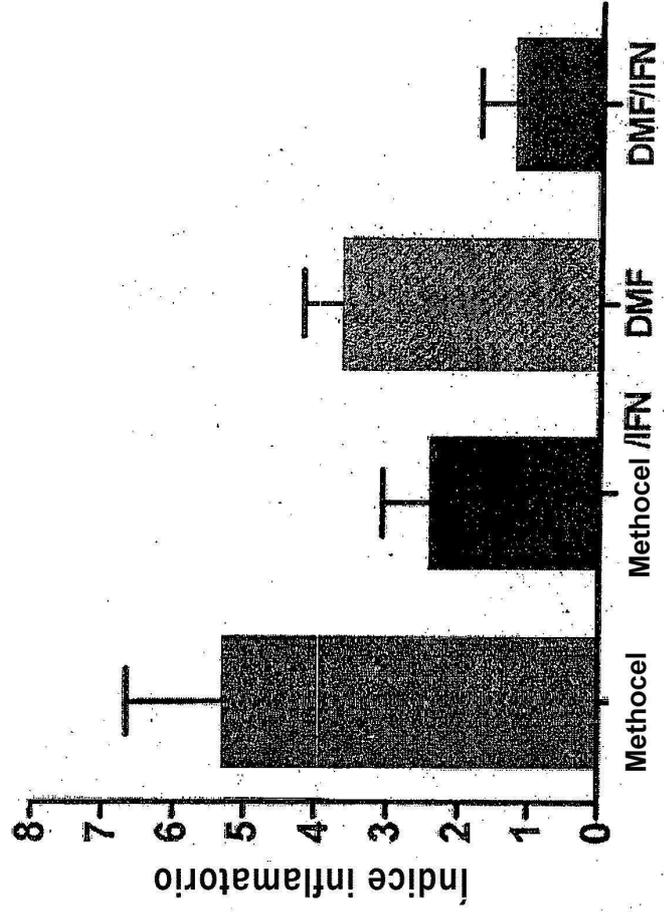
## Co-terapia con DMF/IFN beta

Curso clínico



# Figura 16

Co-terapia con DMF/IFN beta  
Índice inflamatorio



# Figura 17

Co-terapia con DMF/IFN beta  
Células T

