

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 624 767**

51 Int. Cl.:

A61K 48/00 (2006.01)

A61K 39/395 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **01.06.2010 PCT/US2010/036923**

87 Fecha y número de publicación internacional: **09.12.2010 WO10141483**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **01.06.2010 E 10783933 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **22.03.2017 EP 2437791**

54 Título: **Potenciación de tratamientos de enfermedades autoinmunitarias e inflamatorias mediante oligonucleótidos inmunorreguladores (IRO) antagonistas de TLR7 y TLR9**

30 Prioridad:

01.06.2009 US 182928 P

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

17.07.2017

73 Titular/es:

**IDERA PHARMACEUTICALS, INC (100.0%)
167 Sidney Street
Cambridge, MA 02139, US**

72 Inventor/es:

**ZHU, FU-GANG;
KANDIMALLA, EKAMBAR, R. y
AGRAWAL, SUDHIR**

74 Agente/Representante:

CURELL AGUILÁ, Mireia

ES 2 624 767 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

Potenciación de tratamientos de enfermedades autoinmunitarias e inflamatorias mediante oligonucleótidos inmunorreguladores (IRO) antagonistas de TLR7 y TLR9.

5

Antecedentes de la invenciónCampo de la invención

10 La invención en general se refiere al campo de la inmunología y la inmunoterapia, y más específicamente al tratamiento de enfermedades autoinmunitarias e inflamatorias por medio de inhibidores competitivos del factor de necrosis tumoral alfa.

Sumario de la técnica relacionada

15 La inflamación es una respuesta biológica compleja de los tejidos del organismo a los agentes proinflamatorios, como los patógenos. En esta respuesta, el organismo intenta eliminar el agente proinflamatorio a la vez que inicia el proceso de curación. En algunas enfermedades que tienen un componente inflamatorio (por ejemplo enfermedades autoinmunitarias), el sistema inmunitario del organismo responde de forma inapropiada a una sustancia que
20 normalmente está presente en el organismo. En esta situación, el sistema inmunitario daña los propios tejidos del organismo.

Históricamente, las enfermedades autoinmunitarias e inflamatorias han sido tratadas con fármacos antiinflamatorios no esteroideos (AINE -como aspirina, ibuprofeno o naproxeno), corticosteroides (como prednisona), fármacos
25 antipalúdicos (como hidroxicloroquina) u otros medicamentos no específicos que incluyen metotrexato, sulfasalazina, leflunomida, ciclofosfamida y micofenolato. Sin embargo, la efectividad de estos tratamientos es limitada.

Más recientemente, se han desarrollado inhibidores competitivos del factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) como
30 tratamientos más específicos de trastornos autoinmunitarios e inflamatorios. Dichos inhibidores competitivos incluyen etanercept (Enbrel®), infliximab (Remicade®) y adalimumab (Humira®). Estos agentes actúan uniéndose a TNF- α , haciéndolo por tanto inaccesible a su receptor y, de esta forma, impidiendo que inicie una cascada inflamatoria, y representan una mejora importante en el tratamiento de los trastornos autoinmunitarios e inflamatorios.

35 Dichos inhibidores competitivos de TNF- α han sido aprobados para el tratamiento de una gran variedad de enfermedades, que incluyen artritis reumatoide, artritis psoriásica, psoriasis, uveítis, espondilitis anquilosante, enfermedad de Crohn y sarcoidosis.

40 Se ha demostrado que los inhibidores competitivos de TNF- α son útiles también en otras aplicaciones. Popivanova *et al.* (2008) *J. Clin. Invest.* 118:560-70, muestra que el bloqueo de TNF- α en ratones reduce la carcinogénesis colorrectal asociada a la colitis crónica. Fries *et al.* (2008) *Int. J. Med. Sci.* 5: 169-80, y (2008) *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 294:G938-G947, respectivamente, muestran que infliximab y etanercept reducen la apoptosis de enterocitos en colitis experimental en ratones y previenen la pérdida de ocludina y zonula occludens-1
45 in las uniones estrechas de los enterocitos. Coppieters *et al.* (2006) *Arthritis & Rheumatism* 54:1856-66, describe que la proteína VHH anti-TNF de camélidos supera la de infliximab y adalimumab en un modelo de ratón de artritis reumatoide. Zalevsky *et al.* (2007) *J. Immunol.* 179:1872-83, muestra que los inhibidores dominantenegativos de TNF disminuyen la artritis experimental en un modelo de ratón. Rubbert-Roth and Finckh (2009) *Arthritis Res. Ther.* 11(Suppl 1):S1, revisa las limitaciones de la efectividad de los inhibidores competitivos de TNF- α aprobados por la FDA.

50 En un enfoque alternativo, Newton *et al.* (2001) *Ann. Rheum. Dis.* 60:iii25-iii32, muestra que los inhibidores de TACE, la enzima que convierte pro TNF- α en TNF- α son efectivos en un modelo de ratón de artritis.

55 Lamentablemente, todos los inhibidores competitivos de TNF- α aprobados en la actualidad han estado implicados en el desarrollo de infecciones graves, incluyendo tuberculosis, sepsis e infecciones fúngicas. Se ha asociado la disminución en el recuento de linfocitos, eritrocitos y plaquetas y el aumento de ciertos tipos de cáncer al tratamiento con estos fármacos.

60 Los receptores de tipo Toll (TLR) están presentes en muchas células del sistema inmunitario y se ha descrito que están implicados en la respuesta inmunitaria innata (Hornung *et al.*, (2002) *J. Immunol.* 168: 4531-37). En vertebrados, esta familia consiste en diez proteínas denominadas de TLR1 a TLR10, que son conocidas por reconocer patrones moleculares asociados a patógenos a partir de bacterias, hongos, parásitos y virus (Poltorak *et al.* (1998) *Science* 282:2085-88; Underhill *et al.* (1999) *Nature* 401:811-15; Hayashi *et al.* (2001) *Nature* 410:1099-103; Zhang *et al.* (2004) *Science* 303:1522-26; Meier *et al.* (2003) *Cell. Microbiol.* 5:561-70; Campos *et al.* (2001) *J. Immunol.* 167:416-23; Hoebe *et al.* (2003) *Nature* 424:743-48; Lund (2003) *J. Exp. Med.* 198:513-20; Heil *et al.* (2004) *Science* 303:1526-29; Diebold *et al.* (2004) *Science* 303:1529-31; Hornung *et al.* (2004) *J. Immunol.*

65

173:5935-43). Los TLR son un medio clave por el que los mamíferos reconocen y generan una respuesta inmunitaria a moléculas extrañas y también proporcionan un medio mediante el cual se vinculan las respuestas inmunitarias innata y adaptativa (Akira *et al.* (2001) *Nat. Immunol.* 2:675-80; Medzhitov (2001) *Nature Rev. Immunol.* 1:135-45). También se ha demostrado que los TLR juegan un papel en la patogénesis de muchas enfermedades, incluyendo autoinmunitarias, infecciosas e inflamatorias (Cook *et al.* (2004) *Nat. Immunol.* 5:975-79) y que la activación de la regulación mediada por TLR utilizando agentes apropiados puede proporcionar un medio para intervenir en la enfermedad.

Algunos TLR están ubicados en la superficie celular para detectar e iniciar una respuesta a patógenos extracelulares y otros TLR están ubicados dentro de la célula para detectar e iniciar una respuesta a patógenos intracelulares. La Tabla 1 representa los TLR, los tipos celulares que contienen el receptor y los agonistas conocidos de éstos (Diebold *et al.* (2004) *Science* 303:1529-31; Liew *et al.* (2005) *Nature* 5:446-58; Hemmi *et al.* (2002) *Nat. Immunol.* 3:196-200; Jurk *et al.* (2002) *Nat. Immunol.* 3:499; Lee *et al.* (2003) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 100:6646-51; Alexopoulou (2001) *Nature* 413:732-38).

Tabla 1:

Molécula de TLR	Agonista	Tipos de células que contienen el receptor
TLR de la superficie celular:		
TLR2	Lipopéptidos bacterianos	Monocitos/macrófagos; células dendríticas mieloides; mastocitos
TLR4	Bacterias gram negativas	Monocitos/macrófagos; células dendríticas mieloides; mastocitos; epitelio intestinal
TLR5	Bacterias móviles	Monocitos/macrófagos; células dendríticas; epitelio intestinal
TLR6	Bacterias gram positivas	Monocitos/macrófagos; células dendríticas; linfocitos B
TLR endosómicos:		
TLR3	Virus de ARN bicatenarios	Células dendríticas; linfocitos B
TLR7	Virus de ARN monocatenarios; complejos ARN-inmunoglobulina	Monocitos/macrófagos; células dendríticas plasmocitoides; linfocitos B
TLR8	Virus de ARN monocatenarios; complejos ARN-inmunoglobulina	Monocitos/macrófagos; células dendríticas; mastocitos
TLR9	ADN que contiene motivos "CpG" no metilados; complejos AND inmunoglobulina	Monocitos/macrófagos; células dendríticas plasmocitoides; linfocitos B

Se ha mostrado que algunos motivos CpG no metilados presentes en el ADN bacteriano y sintético activan el sistema inmunitario e inducen actividad antitumoral (Tokunaga *et al.* (1984) *J. Natl. Cancer Inst.* 72:955-62; Shimada *et al.* (1986) *Jpn. J. Cancer Res.* 77:808-16; Yamamoto *et al.* (1986) *Jpn. J. Cancer Res.* 79:866-73). Otros estudios han mostrado que los oligonucleótidos antisentido que contienen dinucleótidos CpG también estimulan la respuesta inmunitaria (Zhao *et al.* (1996) *Biochem. Pharmacol.* 26:173-82). Estudios posteriores han demostrado que TLR9 reconoce motivos CpG no metilados presentes en el ADN bacteriano y sintético (Hemmi *et al.* (2000) *Nature* 408:740-45). Otras modificaciones de oligonucleótidos de fosforotioato que contienen CpG también pueden afectar a su capacidad para actuar como moduladores de la respuesta inmunitaria a través de TLR9 (véase, por ejemplo, Zhao *et al.* (1996) *Biochem. Pharmacol.* 51:173-82; Zhao *et al.* (1996) *Biochem. Pharmacol.* 52:1537-44; Zhao *et al.* (1997) *Antisense Nucleic Acid Drug Dev.* 7:495-502; Zhao *et al.* (1999) *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 9:3453-58; Zhao *et al.* (2000) *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 10:1051-54; Yu *et al.* (2000) *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 10:2585-88; Yu *et al.* (2001) *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 11:2263-67; and Kandimalla *et al.* (2001) *Bioorg. Med. Chem.* 9:807-13). Además, los estudios de relaciones entre la actividad y la estructura han permitido identificar motivos sintéticos y compuestos novedosos basados en ADN que inducen perfiles de respuestas inmunitarias específicos que son distintos de los resultantes de los dinucleótidos CpG no metilados (Kandimalla *et al.* (2005) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 102:6925-30; Kandimalla *et al.* (2003) *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.* 100:14303-08; Cong *et al.* (2003) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 310:1133-39; Kandimalla *et al.* (2003) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 306:948-53; Kandimalla *et al.* (2003) *Nucleic Acids Res.* 31:2393-400; Yu *et al.* (2003) *Bioorg. Med. Chem.* 11:459-64; Bhagat *et al.* (2003) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 300:853-61; Yu *et al.* (2002) *Nucleic Acids Res.* 30:4460-69; Yu *et al.* (2002) *J. Med. Chem.* 45:4540-48; Yu *et al.* (2002) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 297:83-90; Kandimalla *et al.* (2002) *Bioconjug. Chem.* 13:966-74; Yu *et al.* (2002) *Nucleic Acids Res.* 30:1613-19; Yu *et al.* (2001) *Bioorg. Med. Chem.* 9:2803-08; Yu *et al.* (2001) *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 11:2263-67; Kandimalla *et al.* (2001) *Bioorg. Med. Chem.* 9:80713; Yu *et al.* (2000) *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 10:2585-88; Putta *et al.* (2006) *Nucleic Acids Res.* 34:3231-38).

La localización selectiva de los TLR y la señalización generada por los mismos proporciona cierta perspectiva acerca del papel que juegan en la respuesta inmunitaria. La respuesta inmunitaria implica tanto una respuesta innata como una respuesta adaptativa en función del subconjunto de células implicadas en la respuesta. Por ejemplo, los linfocitos T auxiliares (Th) implicados en las funciones clásicas mediadas por células, como la hipersensibilidad de tipo retardado y activación de los linfocitos T citotóxicos (LTC) son los linfocitos Th1. Esta es la respuesta innata del

organismo a antígenos (por ejemplo, infecciones virales, patógenos intracelulares y células tumorales) y tiene como resultado una secreción de IFN-gamma y la consiguiente activación de los LTC. Alternativamente, los linfocitos Th implicados como linfocitos auxiliares en la activación de linfocitos B son linfocitos Th2. Es conocido que los linfocitos Th2 se activan en respuesta a bacterias y parásitos, y pueden mediar en la respuesta inmunitaria adaptativa del organismo (por ejemplo, producción de IgE y activación eosinófila) mediante la secreción de IL-4 e IL-5. El tipo de respuesta inmunitaria está condicionada por las citocinas producidas en respuesta a la exposición al antígeno y las diferencias en las citocinas secretadas por los linfocitos Th1 y Th2 pueden ser el resultado de las diferentes funciones biológicas de estos dos subconjuntos.

Como resultado de su implicación en la regulación de la respuesta inmunitaria, se ha demostrado que los TLR juegan un papel en la patogénesis de muchas enfermedades, incluyendo enfermedades autoinmunitarias, infecciosas e inflamatorias (Papadimitraki *et al.* *J. Autoimmun.* 29: 310-18; Sun *et al.* (2007) *Inflamm. Allergy Drug Targets* 6:223-35; Diebold (2008) *Adv. Drug Deliv. Rev.* 60:813-23; Cook *et al.* (2004) *Nat. Immunol.* 5:975-79; Tse and Horner (2008) *Semin. Immunopathol.* 30:53-62; Tobias and Curtiss (2008) *Semin. Immunopathol.* 30:23-27; Ropert *et al.* (2008) *Semin. Immunopathol.* 30:41-51; Lee *et al.* *Semin. Immunopathol.* 30:3-9; Gao *et al.* (2008) *Semin. Immunopathol.* 30:29-40; Vijay-Kumar *et al.* (2008) *Semin. Immunopathol.* 30:11-21). El documento WO 2005/072290 se refiere a los procedimientos y kits para tratar, reducir o prevenir afecciones autoinmunitarias como la artritis reumatoide mediante la administración a un mamífero que necesite el agente que module el nivel de expresión o la actividad biológica del receptor de tipo Toll 9 (TLR-9). WO 2007/038720 describe la capacidad de algunos oligonucleótidos para modificar el perfil de los ligandos de TLR, como los ligandos de TLR7, TLR8 y TLR9. El documento US 2009/0087388 revela las composiciones del oligonucleótido inmunorregulador (IRO) y su utilización para la inhibición y/o supresión de las respuestas inmunitarias mediadas por TLR.

Mientras que la activación de los TLR está implicada en generar una respuesta inmunitaria, una estimulación descontrolada del sistema inmunitario a través de los TLR puede agravar algunas enfermedades en sujetos inmunocomprometidos. Dicha estimulación descontrolada puede contribuir también a trastornos autoinmunitarios o inflamatorios.

Por tanto, es necesario una mejora en los enfoques para el tratamiento de las enfermedades autoinmunitarias e inflamatorias.

Breve resumen de la invención

En el contexto de la presente invención se ha descubierto que determinados compuestos oligonucleótidos inmunorreguladores (IRO), que son antagonistas de TLR potencian la actividad de agentes antiinflamatorios que actúan inhibiendo TNF- α , y, por tanto, permitiendo el uso de tales inhibidores de TNF- α a bajas dosis para mitigar sus indeseables efectos secundarios. Estos IRO tienen una o más modificaciones químicas en la secuencia que flanquea a un motivo inmunoestimulador y/o en un motivo oligonucleotídico que sería inmunoestimulador de no ser por la modificación.

Por tanto, la invención proporciona un compuesto IRO para su utilización en un procedimiento para el tratamiento terapéutico de un mamífero que padece una enfermedad que presenta un componente autoinmunitario o inflamatorio, procedimiento que comprende administrar al mamífero un compuesto IRO que presenta la estructura



en el que:

CG es un motivo oligonucleotídico que es CpG, C*pG, C*pG* o CpG*, en el que C es citosina, C* es un derivado nucleotídico de pirimidina, que es un nucleótido de pirimidina que presenta una base que no es citosina, timina o uracilo y/o un azúcar que no es ribosa o 2'-desoxirribosa y puede estar presente en el esqueleto de un oligonucleótido, G es guanina, y G* es un derivado nucleotídico de purina, el cual es un nucleótido de purina que tiene una base que no es guanina o adenina y/o un azúcar que no es ribosa o 2'-desoxirribosa y puede estar presente en el esqueleto de un oligonucleótido;

N_1-N_3 en cada aparición, es independientemente i) un nucleótido, ii) un derivado nucleotídico que es un nucleótido de purina o pirimidina que tiene una base que no es guanina, citosina, adenina, timina o uracilo y/o un azúcar que no es ribosa o 2'-desoxirribosa y puede estar presente en el esqueleto de un oligonucleótido, o iii) un enlace no nucleotídico siempre que al menos un N_1-N_3 sea un derivado nucleotídico o un enlace nucleotídico que suprima la actividad del motivo oligonucleotídico;

N^1-N^3 , en cada aparición, es independientemente i) un nucleótido, ii) un derivado nucleotídico que es un nucleótido de purina o pirimidina que tiene una base que no es guanina, citosina, adenina, timina o uracilo y/o un azúcar que no es ribosa o 2'-desoxirribosa y puede estar presente en el esqueleto de un oligonucleótido, o iii) un enlace no nucleotídico; N_m y N^m , en cada aparición, es independientemente un nucleótido, un derivado nucleotídico que es un nucleótido de purina o pirimidina que tiene una base que no es guanina, citosina, adenina,

timina o uracilo y/o un azúcar que no es ribosa o 2'-desoxirribosa y puede estar presente en el esqueleto de un oligonucleótido, o un enlace no nucleotídico; y se establece además que el compuesto contiene menos de 3 nucleótidos de guanosina consecutivos;

5 en el que el motivo oligonucleotídico podría ser inmunoestimulador de no ser por el derivado nucleotídico o el enlace no nucleotídico que suprime la actividad del motivo oligonucleotídico; en el que m es un número desde 0 a aproximadamente 30 en combinación con un agente antiinflamatorio que inhibe TNF- α en una cantidad farmacéuticamente eficaz. Dichas enfermedades incluyen, entre otras, cáncer, un trastorno autoinmunitario, inflamación de las vías respiratorias, trastornos inflamatorios, enfermedades infecciosas, malaria, enfermedad de Lyme, infecciones oculares, conjuntivitis, trastornos de la piel, psoriasis, escleroderma, enfermedad cardiovascular, arterioesclerosis, síndrome de fatiga crónica, sarcoidosis, rechazo al trasplante, alergia, asma y enfermedades causadas por un patógeno. Los trastornos autoinmunitarios preferidos incluyen, entre otros, lupus eritematoso, esclerosis múltiple, diabetes mellitus de tipo I, síndrome del intestino irritable, enfermedad de Crohn, artritis reumatoide, choque septicémico, alopecia universal, encefalomiелitis diseminada aguda, enfermedad de Addison, espondilitis anquilosante, síndrome de anticuerpos antifosfolípidos, anemia hemolítica autoinmunitaria, hepatitis autoinmunitaria, penfigoide ampolloso, enfermedad de Chagas, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, enfermedad celíaca, dermatomiositis, endometriosis, síndrome de Goodpasture, enfermedad de Graves, síndrome de Guillain-Barré, enfermedad de Hashimoto, hidradenitis supurativa, púrpura trombocitopénica idiopática, cistitis intersticial, morfea, miastenia gravis, narcolepsia, neuromiotonía, pénfigo, anemia perniciosa, polimiositis, cirrosis biliar primaria, esquizofrenia, síndrome de Sjögren, arteritis de la temporal ("arteritis de células gigantes"), vasculitis, vitíligo, vulvodinia y granulomatosis de Wegener. Los trastornos inflamatorios preferidos incluyen, entre otros, inflamación de las vías respiratorias, asma, enfermedades autoinmunitarias, inflamación crónica, prostatitis crónica, glomerulonefritis, enfermedad de Behçet, hipersensibilidades, enfermedad intestinal inflamatoria, lesión de perfusión, artritis reumatoide, rechazo al trasplante, colitis ulcerosa, uveítis, conjuntivitis y vasculitis.

25 La invención proporciona además un compuesto IRO para su utilización en un procedimiento para prevenir una enfermedad o trastorno que tiene un componente autoinmunitario o inflamatorio en un mamífero con riesgo de desarrollar tal enfermedad o trastorno, procedimiento que comprende la administración a un mamífero de un compuesto IRO que tiene la estructura



en el que:

35 CG es un motivo oligonucleotídico que es CpG, C*pG, C*pG* o CpG*, en el que C es citosina, C* es un derivado nucleotídico de pirimidina, el cual es un nucleótido de pirimidina que tiene una base que no es citosina, timina o uracilo y/o un azúcar que no es ribosa o 2'-desoxirribosa y puede estar presente en el esqueleto de un oligonucleótido, G es guanosina, y G* es un derivado nucleotídico de purina, el cual es un nucleótido de purina que tiene una base que no es guanina o adenina y/o un azúcar que no es ribosa o 2'-desoxirribosa y puede estar presente en el esqueleto de un oligonucleótido;

40 N_1-N_3 en cada aparición, es independientemente i) un nucleótido, ii) un derivado nucleotídico que es un nucleótido de purina o pirimidina que tiene una base que no es guanina, citosina, adenina, timina o uracilo y/o un azúcar que no es ribosa o 2'-desoxirribosa y puede estar presente en el esqueleto de un oligonucleótido, o iii) un enlace no nucleotídico siempre que al menos un N_1-N_3 sea un derivado nucleotídico o un enlace nucleotídico que suprime la actividad del motivo oligonucleotídico;

45 N^1-N^3 , en cada aparición, es independientemente i) un nucleótido, ii) un derivado nucleotídico que es un nucleótido de purina o pirimidina que tiene una base que no es guanina, citosina, adenina, timina o uracilo y/o un azúcar que no es ribosa o 2'-desoxirribosa y puede estar presente en el esqueleto de un oligonucleótido, o iii) un enlace no nucleotídico; N_m y N^m , en cada aparición, es independientemente un nucleótido, un derivado nucleotídico que es un nucleótido de purina o pirimidina que tiene una base que no es guanina, citosina, adenina, timina o uracilo y/o un azúcar que no es ribosa o 2'-desoxirribosa y puede estar presente en el esqueleto de un oligonucleótido, o un enlace no nucleotídico; y se establece además que el compuesto contiene menos de 3 nucleótidos de guanosina consecutivos;

50 en el que el motivo oligonucleotídico podría ser inmunoestimulador de no ser por el derivado nucleotídico o el enlace no nucleotídico que suprime la actividad del motivo oligonucleotídico; donde m es un número desde 0 a aproximadamente de 30 y un agente antiinflamatorio que inhibe TNF- α en una cantidad farmacéuticamente eficaz. Dichas enfermedades incluyen, entre otras, cáncer, un trastorno autoinmunitario, inflamación de las vías respiratorias, trastornos inflamatorios, enfermedades infecciosas, malaria, enfermedad de Lyme, infecciones oculares, conjuntivitis, trastornos de la piel, psoriasis, escleroderma, enfermedad cardiovascular, arterioesclerosis, síndrome de fatiga crónica, sarcoidosis, rechazo al trasplante, alergia, asma y enfermedades causadas por un patógeno en un mamífero. Los trastornos autoinmunitarios preferidos incluyen, entre otros, lupus eritematoso, esclerosis múltiple, diabetes mellitus de tipo I, síndrome del intestino irritable, enfermedad de Crohn, artritis reumatoide, choque septicémico, alopecia universal, encefalomiелitis diseminada aguda, enfermedad de Addison,

espondilitis anquilosante, síndrome de anticuerpos antifosfolípidos, anemia hemolítica autoinmunitaria, hepatitis autoinmunitaria, penfigoide ampolloso, enfermedad de Chagas, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, enfermedad celíaca, dermatomiositis, endometriosis, síndrome de Goodpasture, enfermedad de Graves, síndrome de Guillain-Barré, enfermedad de Hashimoto, hidradenitis supurativa, púrpura trombocitopénica idiopática, cistitis intersticial, morfea, miastenia gravis, narcolepsia, neuromiotonía, pénfigo, anemia perniciosa, polimiositis, cirrosis biliar primaria, esquizofrenia, síndrome de Sjögren, arteritis de la temporal ("arteritis de células gigantes"), vasculitis, vitíligo, vulvodinia y granulomatosis de Wegener. Los trastornos inflamatorios preferidos incluyen, entre otros, inflamación de las vías respiratorias, asma, enfermedades autoinmunitarias, inflamación crónica, prostatitis crónica, glomerulonefritis, enfermedad de Behçet, hipersensibilidades, enfermedad intestinal inflamatoria, lesión de reperfusión, artritis reumatoide, rechazo al trasplante, colitis ulcerosa, uveítis, conjuntivitis y vasculitis.

En una forma de realización, el compuesto IRO usado de acuerdo a la presente invención comprende al menos dos oligonucleótidos unidos por un enlazador no nucleotídico en sus extremos 3' en el que el enlazador no nucleotídico puede estar unido al 3'hidroxilo, al azúcar funcionalizado o a la base nitrogenada funcionalizada, en el que al menos un oligonucleótido presenta la estructura



en el que:

CG es un motivo oligonucleotídico que es CpG, C*pG, C*pG* o CpG*, en el que C es citosina, C* es un derivado nucleotídico de pirimidina, el cual es un nucleótido de pirimidina que tiene una base que no es citosina, timina o uracilo y/o un azúcar que no es ribosa o 2'-desoxirribosa y puede estar presente en el esqueleto de un oligonucleótido, G es guanosina, y G* es un derivado nucleotídico de purina, el cual es un nucleótido de purina que tiene una base que no es guanina o adenina y/o un azúcar que no es ribosa o 2'-desoxirribosa y puede estar presente en el esqueleto de un oligonucleótido;

N_1-N_3 , en cada aparición, es independientemente i) un nucleótido, ii) un derivado nucleotídico que es un nucleótido de purina o pirimidina que tiene una base que no es guanina, citosina, adenina, timina o uracilo y/o un azúcar que no es ribosa o 2'-desoxirribosa y puede estar presente en el esqueleto de un oligonucleótido, o iii) un enlace no nucleotídico, siempre que al menos un N_1-N_3 sea un derivado nucleotídico o un enlace no nucleotídico que suprime la actividad del motivo oligonucleotídico;

N^1-N^3 , en cada aparición, es independientemente i) un nucleótido, ii) un derivado nucleotídico que es un nucleótido de purina o pirimidina que tiene una base que no es guanina, citosina, adenina, timina o uracilo y/o un azúcar que no es ribosa o 2'-desoxirribosa y puede estar presente en el esqueleto de un oligonucleótido, o iii) un enlace no nucleotídico; N_m y N^m , en cada aparición, es independientemente un nucleótido, un derivado nucleotídico que es un nucleótido de purina o pirimidina que tiene una base que no es guanina, citosina, adenina, timina o uracilo y/o un azúcar que no es ribosa o 2'-desoxirribosa y puede estar presente en el esqueleto de un oligonucleótido, o un enlace no nucleotídico; y se establece además que el compuesto contiene menos de 3 nucleótidos de guanosina consecutivos;

en el que el motivo oligonucleotídico podría ser inmunoestimulador de no ser por el derivado nucleotídico o el enlace no nucleotídico que suprime la actividad del motivo oligonucleotídico; en el que m es un número desde 0 a aproximadamente 30. En una forma de realización preferida, el enlazador no nucleotídico que une al menos dos oligonucleótidos se selecciona del grupo que consiste en Glicerol (1,2,3-Propanotriol), 1,2,4-Butanotriol, 2-(hidroximetil)-1,3-propanodiol, 2-(hidroximetil)-1,4-butanodiol, 1,3,5-Pentanotriol, 1,1,1-Tris(hidroximetil)etano, 1,1,1-Tris(hidroximetil)nitrometano, 1,1,1-Tris(hidroximetil)propano, 1,2,6-Hexanotriol, 3-Metil-1,3,5-pentanotriol, 1,2,3-Heptanotriol, 2-Amino-2-(hidroximetil)-1,3-propanodiol, N-[Tris(hidroximetil)metil]acrilamida, cis-1,3,5-Ciclohexanotriol, Cis-1,3,5-Tri(hidroximetil)ciclohexano, 3,5-Di(hidroximetil)fenol, 1,3,5-Trihidroxil-benceno, 3,5-Di(hidroximetil)benceno, 1,3-Di(hidroxietoxi)-2-hidroxil-propano, 1,3-Di(hidroxipropoxi)-2-hidroxil-propano, 2-Desoxi-D-ribosa, 1,2,4-Trihidroxil-benceno, D-Galactal, 1,6-anhidro-β-D-Glucosa, Ácido 1,3,5-Tris(2-hidroxietil)-cianúrico, Ácido gálico, 3,5,7-Trihidroxiflavona, 4,6-Nitropirogalol, Etilenglicol, 1,3-Propanodiol, 1,2-Propanodiol, 1,4-Butanodiol, 1,3-Butanodiol, 2,3-Butanodiol, 1,4-Butanodiol, 1,5-Pentanodiol, 2,4-Pentanodiol, 1,6Hexanodiol, 1,2-Hexanodiol, 1,5-Hexanodiol, 2,5-Hexanodiol, 1,7-Heptanodiol, 1,8-Octanodiol, 1,2-Octanodiol, 1,9-Nonanodiol, 1,12-Dodecanodiol, Trietilenglicol, Tetraetilenglicol, 2-(1-Aminopropil)-1,3-propanodiol, o 1,2-Didesoxirribosa. Preferentemente, el enlazador no nucleotídico que une al menos dos oligonucleótidos es glicerol.

En algunas formas de realización, el derivado nucleotídico de pirimidina es 2'-desoxitimidina, 1-(2'-desoxi-β-D-ribofuranosilo)-2-oxo-7-deaza-8-metil-purina, 2'-didesoxi-5-halocitosina, 2'-didesoxi-5-nitrocitosina, arabinocitidina, arabinocitidina sustituida en 2'-desoxi-2', arabinocitidina sustituida en 2'-O, 2'-desoxi-5-hidroxicitidina, 2'-desoxi-N4alquil-citidina, 2'-desoxi-4-tiouridina.

En algunas formas de realización, el derivado nucleotídico de purina es 2'-desoxi-7deazaguanosina, 2'-desoxi-6-tioguanosina, arabinoguanosina, arabinoguanosina sustituida en 2'-desoxi-2', arabinoguanosina sustituida en 2'-O, 2'-desoxiinosina.

En algunas formas de realización, la enfermedad que tiene un componente autoinmunitario o inflamatorio es artritis reumatoide, artritis psoriásica, psoriasis, uveítis, espondilitis anquilosante, enfermedad de Crohn, sarcoidosis, colitis o cáncer.

5 En algunas formas de realización preferidas, el compuesto IRO y el agente antiinflamatorio que inhibe TNF- α se coadministran con una o más vacunas, antígenos, anticuerpos, agentes citotóxicos, alérgenos, antibióticos, oligonucleótidos antisentido, agonistas de TLR, antagonistas de TLR, péptidos, proteínas, vectores de terapia génica, vacunas de ADN, adyuvantes, inhibidores de cinasas, agentes antivirales, fármacos antipalúdicos, moléculas coestimuladoras o sus combinaciones.

10 El TNF (al que se hace referencia asimismo como TNF- α en la presente memoria) es producido por el sistema inmunitario del organismo y los individuos que padecen enfermedades inmunitarias, por ejemplo, artritis reumatoide, artritis idiopática juvenil, espondilitis anquilosante, artritis reumatoide y psoriasis en placa tienen cantidades excesivas de TNF en sus cuerpos. En este sentido, la coadministración de un compuesto IRO con un agente antiinflamatorio que inhiba la actividad TNF- α podría utilizarse para tratar o prevenir enfermedades que tengan un componente autoinmunitario y/o inflamatorio.

15 Entre las formas de realización de un agente antiinflamatorio que inhibe TNF- α que podrían ser útiles en combinación con un IRO están incluidas etanercept (Enbrel®), infliximab (Remicade®) y adalimumab (Humira®). Una forma en la que el cuerpo humano se protege frente a la enfermedad es aumentando el flujo sanguíneo hacia la parte afectada del organismo. Este aumento de flujo sanguíneo permite la infiltración de células inmunitarias y la producción de citocinas proinflamatorias y quimioquinas, lo que se traduce en inflamación. Una de las citocinas implicadas en este proceso inflamatorio es TNF- α . Estos inhibidores de TNF- α se unen a TNF- α y ayudan a prevenir la actividad proinflamatoria mediada por esta molécula. La inhibición de esta actividad proinflamatoria ayuda a inhibir enfermedades inflamatorias, incluyendo entre otras, artritis reumatoide, artritis idiopática juvenil, espondilitis anquilosante y psoriasis en placa.

20 En algunas formas de realización preferidas, la ruta de administración es parenteral, por la mucosa, oral, sublingual, transdérmica, tópica, mediante inhalación, intranasal, mediante aerosol, intraocular, intratraqueal, intrarrectal, vaginal, mediante pistola génica, parche dérmico o en forma de colirio o colutorio.

Breve descripción de los dibujos

35 La figura 1 representa la puntuación de la enfermedad en ratones afectados de artritis de forma experimental por inyección intradérmica de colágeno bovino tipo II/CFA, de acuerdo con el ejemplo 2 e ilustra la capacidad de los antagonistas IRO de TLR7 y TLR9 de potenciar la actividad de un inhibidor de TNF.

40 La figura 2 representa inflamación y erosión ósea en ratones afectados de artritis de forma experimental por inyección intradérmica de colágeno bovino tipo II/CFA, de acuerdo con el ejemplo 2 e ilustra la capacidad del antagonista IRO de TLR7 y TLR9 para mejorar o potenciar la actividad antiinflamatoria de un inhibidor de TNF, resultando, de forma significativa, en menor pérdida ósea en las articulaciones artríticas.

45 La figura 3 representa pérdida de cartílago en ratones afectados de artritis de forma experimental por inyección intradérmica de colágeno bovino tipo II/CFA, de acuerdo con el ejemplo 2 e ilustra la capacidad del antagonista IRO de TLR7 y TLR9 para mejorar o potenciar la actividad antiinflamatoria de un inhibidor de TNF, conservando, de forma significativa el tejido cartilaginoso en las articulaciones artríticas.

50 La figura 4 representa hinchazón en las patas traseras de ratones afectados de artritis de forma experimental por inyección intradérmica de colágeno bovino tipo II/CFA, de acuerdo con el ejemplo 2 e ilustra la capacidad del antagonista IRO de TLR7 y TLR9 para mejorar o potenciar la actividad antiinflamatoria de un inhibidor de TNF, resultando en una disminución significativa de la inflamación en las articulaciones artríticas.

55 La figura 5 representa la respuesta del anticuerpo Th2 en ratones afectados de artritis de forma experimental por inyección intradérmica de colágeno bovino tipo II/CFA, de acuerdo con el ejemplo 2 e ilustra la capacidad del antagonista IRO de TLR7 y TLR9 para mejorar o potenciar la supresión a la respuesta del anticuerpo Th2 por un inhibidor de TNF.

60 La figura 6 representa la respuesta del anticuerpo Th1 en ratones afectados de artritis de forma experimental por inyección intradérmica de colágeno bovino tipo II/CFA, de acuerdo con el ejemplo 2 e ilustra que los inhibidores de TNF tienen un efecto limitado sobre la respuesta al anticuerpo Th1, mientras que el antagonista IRO de TLR7 y TLR9 tiene la capacidad de suprimir la respuesta al anticuerpo Th1, incluso en presencia de un inhibidor de TNF.

65 La figura 7 representa la respuesta inmunitaria de tipo Th1 (por ejemplo, IFN- γ) en ratones afectados de artritis de forma experimental por inyección intradérmica de colágeno bovino tipo II/CFA, de acuerdo con el ejemplo 2 e

ilustra que los inhibidores de TNF tienen un efecto limitado sobre la respuesta inmunitaria al Th1, mientras que el antagonista IRO de TLR7 y TLR9 tiene la capacidad de suprimir la respuesta al anticuerpo Th1.

Descripción detallada de las formas de realización preferidas

5

La presente invención se refiere al tratamiento o la prevención de enfermedades que tienen un componente autoinmunitario o inflamatorio. Los oligonucleótidos inmunorreguladores (IRO) utilizados en la presente invención como antagonistas de TLR potencian la actividad de agentes antiinflamatorios que actúan como inhibidores de TNF- α , por tanto permitiendo el uso de tales inhibidores de TNF- α a bajas dosis para mitigar sus indeseables efectos secundarios. Estos IRO tienen secuencias únicas que inhiben o suprimen la señalización mediada por el TLR en respuesta a ligandos de TLR endógenos y/o exógenos o agonistas. Las referencias citadas en la presente memoria reflejan el nivel de conocimiento en este campo. Cualquier conflicto entre el contenido de las citadas referencias y la presente memoria deben resolverse en favor de esta última.

10

15

La invención puede utilizarse en aplicaciones de inmunoterapia, entre otras, el tratamiento del cáncer, trastornos inmunitarios, asma, alergias respiratorias, alergias alimentarias, alergias de la piel, lupus eritematoso sistémico (LES), artritis, pleuresía, infecciones crónicas, enfermedades inflamatorias, síndrome intestinal inflamatorio, sepsis e infecciones bacterianas, parasitarias y virales, en humanos adultos y pediátricos y aplicaciones veterinarias. Los compuestos IRO combinados con agentes antiinflamatorios que inhiben TNF- α pueden ser usados en combinación, por ejemplo, con vacunas de ADN, antígenos, anticuerpos, agentes antivirales, fármacos antipalúdicos (por ejemplo, cloroquina e hidroxicloroquina) y alérgenos, y en combinación con agentes quimioterápicos (tanto en quimioterapia tradicional como en la moderna terapia dirigida) y/o oligonucleótidos antisentido para la prevención y el tratamiento de enfermedades.

20

25

El término "oligonucleótido" generalmente se refiere a un polinucleósido que comprende una pluralidad de unidades nucleosídicas enlazadas. Dichos oligonucleótidos pueden obtenerse a partir de fuentes de ácidos nucleicos existentes, incluyendo ADN genómico o ADNc, pero se producen preferentemente mediante procedimientos sintéticos. En las formas de realización preferidas, cada unidad de nucleósido puede comprender varias modificaciones químicas y sustituciones comparado con oligonucleótidos salvajes, incluyendo, entre otras, base nucleosídica modificada y/o unidad de azúcar modificada. Los ejemplos de modificaciones químicas conocidas por los expertos en la materia se describen, por ejemplo, en Uhlmann *et al.* (1990) *Chem. Rev.* 90:543; "Protocols for Oligonucleotides and Analogs" *In Synthesis and Properties & Synthesis and Analytical Techniques* (Agrawal, ed., Humana Press, Totowa, USA, 1993); Hunziker *et al.* (1995) *Mod. Syn. Methods* 7:331-417; and Croke *et al.* (1996) *Ann. Rev. Pharm. Tox.* 36:107-29. Los restos nucleosídicos pueden acoplarse entre sí mediante cualquiera de los numerosos enlaces internucleosídicos conocidos. Dichos enlaces internucleosídicos incluyen de manera no limitativa fosfodiéster, fosforotioato, fosforoditioato, alquilfosfonato, alquilfosfonotioato, fosfotriéster, fosforamidita, siloxano, carbonato, carboalcoxi, acetamidato, carbamato, morfolino, borano, tioéter, fosforamidato en forma de puente, metilfosfonato en forma de puente, fosforotioato en forma de puente, y enlaces internucleosídicos de sulfona. El término "oligonucleótido" comprende también polinucleósidos que presentan uno o más enlaces internucleosídicos estereoespecíficos (por ejemplo, enlaces (*R_p*)-o (*S_p*)fosforotioato, alquilfosfonato o fosfotriéster). Como se utiliza en la presente memoria, se pretende expresamente que los términos "oligonucleótido" y "dinucleótido" incluyan polinucleósidos y dinucleósidos que presenten cualquiera de dichos enlaces internucleosídicos, tanto si el enlace comprende, como si no, un grupo fosfato. En determinadas formas de realización preferidas, estos enlaces internucleosídicos pueden ser enlaces fosfodiéster, fosforotioato, o fosforoditioato, o sus combinaciones.

30

35

40

45

El término "ribonucleósido sustituido en 2'" o "arabinósido sustituido en 2'" incluye generalmente ribonucleósidos o arabinonucleósidos en los que el grupo hidroxilo en la posición 2' del resto de la pentosa se sustituye para producir un ribonucleósido sustituido en 2' o ribonucleósido sustituido en 2'-O. En determinadas formas de realización, dicha sustitución es con un grupo hidrocarbilo inferior que contiene 1-6 átomos de carbono saturados o no saturados, con un átomo de halógeno, o con un grupo arilo que tiene 6-10 átomos de carbono, en el que dicho hidrocarbilo, o un grupo arilo puede estar no sustituido o puede estar sustituido, por ejemplo, con grupos halo, hidroxilo, trifluorometilo, ciano, nitro, acilo, aciloxi, alcoxi, carboxilo, carboalcoxi, o amino. Los ejemplos de ribonucleósidos sustituidos en 2'-O o arabinósidos o sustituidos en 2'-O incluyen, entre otros, 2'-amino, 2'-fluoro, 2'-alilo, 2'-O-alquilo y 2'propargilo ribonucleósidos o arabinósidos, 2'-O-metilribonucleósidos o 2'-O-metil-arabinósidos y 2'-O-metoxietoxirribonucleósidos o 2'-O-metoxietoxiarabinósidos.

50

55

El término "3'", cuando se utiliza direccionalmente, se refiere generalmente a una región o posición de un polinucleótido u oligonucleótido situado en 3' (descendente) respecto de otra región o posición del mismo polinucleótido u oligonucleótido.

60

El término "5'", cuando se usa direccionalmente, se refiere generalmente a una región o posición de un polinucleótido u oligonucleótido situado en 5' (ascendente) respecto de otra región o posición del mismo polinucleótido u oligonucleótido.

65

El término "aproximadamente" significa generalmente que el número exacto no es crítico. De esta manera, el número de restos nucleosídicos en los oligonucleótidos no es crítico, y los oligonucleótidos que tienen uno o dos

restos nucleósidos menos, o de uno a varios restos nucleósidos adicionales, se consideran equivalentes de cada una de las formas de realización descritas anteriormente.

5 El término "adyuvante" se refiere generalmente a una sustancia que, cuando se añade a un agente inmunógeno como una vacuna o antígeno, aumenta o potencia una respuesta inmunitaria contra el agente en el hospedador receptor tras su exposición a la mezcla.

10 El término "agonista" se refiere generalmente a una sustancia que se une a un receptor de una célula e induce una respuesta. Dicha respuesta puede ser un aumento en la actividad mediada por el receptor. Un agonista a menudo imita la acción de sustancias de origen natural, como un ligando.

15 El término "antagonista" o "inhibidor" se refiere generalmente a una sustancia que se puede unir a un receptor, pero que no produce una respuesta biológica tras la unión. El antagonista o inhibidor puede bloquear, inhibir o atenuar la respuesta mediada por el agonista y puede competir con el agonista por la unión al receptor. Dicha actividad antagonista o inhibitoria puede ser reversible o irreversible.

20 Los términos "agente antiinflamatorio que inhibe TNF" o "agente antiinflamatorio que inhibe TNF- α " se refieren generalmente a una sustancia que tiene la capacidad de reducir la inflamación al inhibir la interacción entre TNF y su receptor. Los ejemplos de dichos agentes antiinflamatorios incluyen, entre otros, los inhibidores de TNF etanercept (Enbrel®), infliximab (Remicade®), y adalimumab (Humira®).

El término "inflamación de las vías respiratorias" generalmente incluye, entre otras, asma.

25 El término "alérgeno" se refiere generalmente a un antígeno o porción antigénica de una molécula, usualmente una proteína, que estimula una respuesta alérgica tras exposición a un sujeto. Normalmente el sujeto es alérgico al alérgeno como se indica, por ejemplo, mediante la prueba de roncha y eritema o cualquier procedimiento conocido en la técnica. Se dice que una molécula es un alérgeno aunque únicamente un pequeño subconjunto de sujetos presente una respuesta inmunitaria alérgica tras su exposición a la molécula.

30 El término "alergia" se refiere generalmente a una respuesta inmunitaria inapropiada caracterizada por inflamación e incluye, entre otras, alergia alimentaria y alergias respiratorias.

35 El término "antígeno" se refiere generalmente a una sustancia que es reconocida y se une selectivamente a un anticuerpo o a un receptor de antígenos de los linfocitos T, dando como resultado la inducción de una respuesta inmunitaria. Los antígenos pueden incluir, pero no limitarse a péptidos, proteínas, nucleósidos, nucleótidos y sus combinaciones. Los antígenos pueden ser naturales o sintéticos e inducen generalmente una respuesta inmunitaria que es específica de cada antígeno.

40 El término "agente antiviral" se refiere generalmente a un agente que tiene la capacidad de matar virus, reprimir su replicación, unión celular u otras funciones esenciales, y por tanto, inhibir su capacidad de multiplicarse y reproducirse. Dichos agentes pueden actuar estimulando las defensas celulares frente a los virus.

45 El término "trastorno autoinmunitario" se refiere generalmente a trastornos en los que el antígeno "propio" sufre el ataque del sistema inmunitario.

50 El término "enfermedad mediada por TLR" o "trastorno mediado por TLR" significa generalmente cualquier afección patológica en la que la activación de uno o más TLR es un factor contribuyente. Dichas afecciones incluyen, entre otras, un trastorno autoinmunitario, inflamación de las vías respiratorias, trastornos inflamatorios, enfermedad infecciosa, trastornos de la piel, alergia, asma y enfermedades producidas por un patógeno.

El término "fisiológicamente aceptable" se refiere generalmente a un material que no interfiere con la eficacia de un compuesto IRO y que es compatible con un sistema biológico, como una célula, cultivo de células, tejido u organismo. Preferentemente, el sistema biológico es un organismo vivo, como un mamífero.

55 El término "portador" comprende generalmente cualquier excipiente, diluyente, carga, sal, tampón, estabilizante, solubilizante, aceite, lípido, vesícula que contiene lípidos, microesferas, encapsulamiento liposómico, u otro material bien conocido en la materia para la utilización en formulaciones farmacéuticas. Debe apreciarse que las características del portador, excipiente, o diluyente dependerán de la ruta de administración para una aplicación concreta. La preparación de formulaciones farmacéuticamente aceptables que contienen estos materiales se describe en, por ejemplo, *Remington's Pharmaceutical Sciences*, 18th Edition (Gennaro, ed., Mack Publishing Co., Easton, PA, 1990).

60 El término "coadministración" se refiere generalmente a la administración de por lo menos dos sustancias diferentes suficientemente próximas en el tiempo para modular una respuesta inmunitaria. La coadministración se refiere a la administración simultánea, así como a un orden separado temporalmente hasta una separación de varios días, de al menos dos sustancias diferentes en cualquier orden, tanto en una dosis única como en dosis separadas.

5 El término "complementario" significa generalmente que presenta la capacidad de hibridarse con un ácido nucleico. Dicha hibridación es normalmente el resultado del establecimiento de enlaces de hidrógeno entre cadenas complementarias, preferentemente para formar pares de bases de Watson-Crick o Hoogsteen, aunque otras modalidades de enlaces de hidrógeno, así como de apilado de bases, pueden conducir también a la hibridación.

10 El término "enfermedad o trastorno que tiene un componente autoinmunitario o inflamatorio" significa una afección que tenga uno o más síntomas que resulten en su totalidad o en parte de una respuesta inmunitaria frente a un antígeno propio o de una inflamación.

15 El término una "cantidad eficaz" o una "cantidad suficiente" se refiere generalmente a una cantidad suficiente para influir en un efecto biológico deseado, como resultados beneficiosos. De esta manera, una "cantidad eficaz" o "cantidad suficiente" dependerá del contexto en el que se está administrando. En el contexto de administrar una composición que module una respuesta inmunitaria a un antígeno coadministrado, una cantidad eficaz de un compuesto IRO y un antígeno es una cantidad suficiente para conseguir la modulación deseada en comparación con la respuesta inmunitaria obtenida cuando el antígeno se administra solo. Una cantidad eficaz puede administrarse en una o más administraciones.

20 El término "en combinación con" significa generalmente, en el tratamiento de una enfermedad o trastorno en un paciente, la administración de un compuesto IRO y un agente útil para tratar la enfermedad o trastorno que no reduce el efecto inmunomodulador del compuesto IRO. Dicho tratamiento combinado puede incluir también más de una única administración de un compuesto IRO y/o independientemente un agente. La administración del compuesto IRO y el agente puede ser mediante la misma ruta o diferente.

25 El término "individuo" o "sujeto" o "mamífero" se refiere generalmente a seres humanos, primates no humanos, ratas, ratones, gatos, perros, caballos, ganado, vacas, cerdos, ovejas y conejos.

30 El término "inhibidor de cinasa" generalmente se refiere a moléculas que antagonizan o inhiben la señalización celular dependiente de la fosforilación o las rutas de crecimiento en una célula. Los inhibidores de la cinasa pueden ser de origen natural o sintético e incluyen pequeñas moléculas administrables por vía oral como productos terapéuticos. Los inhibidores de la cinasa tienen la capacidad de inhibir rápida y específicamente la activación de las moléculas de cinasa dirigidas. Las proteínas de cinasas son objetivos deseables para los fármacos, en parte porque regulan una amplia variedad de vías de señalización y crecimiento e incluyen muchas proteínas diferentes. En este sentido, tienen un gran potencial en el tratamiento de enfermedades que implican señalización de cinasas, entre ellas el cáncer, enfermedades cardiovasculares, trastornos inflamatorios, diabetes, degeneración macular y trastornos neurológicos. Ejemplos de inhibidores de cinasa incluyen sorafenib (Nexavar®), Sutent®, dasatinib, Dasatinib™, Zactima™, Tykerb™ y STI571.

40 El término "nucleósido" generalmente se refiere a compuestos que consisten en un azúcar, normalmente ribosa o desoxirribosa y una base purínica o pirimidínica.

El término "nucleótido" generalmente se refiere a un nucleósido que comprende un grupo fosfato unido a un azúcar.

45 Como se utiliza en la presente memoria, el término "nucleósido de pirimidina" se refiere a un nucleósido en el que el componente de base del nucleósido es una base de pirimidina (por ejemplo, citosina (C) o timina (T) o uracilo (U)). De forma similar, el término "nucleósido de purina" se refiere a un nucleósido en el que el componente de base del nucleósido es una base de purina (por ejemplo, adenina (A) o guanina (G)).

50 Los términos "análogo" o "derivado" se pueden intercambiar para referirse generalmente a un nucleótido o nucleósido de purina y/o pirimidina que presenta una base y/o azúcar modificado. Una base modificada es una base que no es guanina, citosina, adenina, timina o uracilo. Un azúcar modificado es cualquier azúcar que no sea ribosa o 2'-desoxirribosa y puede utilizarse en el esqueleto de un oligonucleótido.

55 El término "inhibición" o "supresión" se refiere generalmente a una disminución en la respuesta o diferencia cualitativa en la respuesta, que puede surgir por otro lado, de la provocación y/o estimulación de la respuesta.

60 El término "enlazador no nucleotídico" se refiere generalmente a cualquier enlace o resto que se pueda unir o estar unido a un oligonucleótido por medio de un enlace distinto de los que contengan fósforo. Preferentemente, dicho enlazador tiene de aproximadamente 2 ángstroms a aproximadamente 200 ángstroms de longitud.

El término "enlace nucleotídico" generalmente se refiere a un enlace 3'-5' directo que conecta directamente los grupos hidroxilo 3' y 5' de dos nucleósidos a través de un enlace que contenga fósforo.

65 El término "motivo oligonucleotídico" se refiere generalmente a una secuencia oligonucleotídica, incluyendo un dinucleótido. Un "motivo oligonucleotídico que podría ser inmunoestimulador de no ser por una o más modificaciones" significa un motivo oligonucleotídico que es inmunoestimulador en un oligonucleótido parental, pero

no en un oligonucleótido derivado, en el que el oligonucleótido derivado se basa en el oligonucleótido parental pero presenta una o más modificaciones que reducen o eliminan la inmunoestimulación.

5 Los términos CpG, C*_pG, C*_pG* y CpG* se refieren a motivos oligonucleotídicos que son inmunoestimuladores y comprenden una citosina o un análogo de citosina y una guanina o un análogo de guanina.

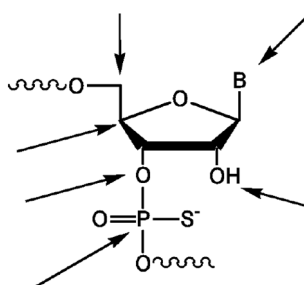
El término "tratamiento" se refiere generalmente a un enfoque previsto para obtener un resultado beneficioso o deseado, que puede incluir el alivio de los síntomas, o el retraso o la mejora en la progresión de una enfermedad.

10 El término "IRO" se refiere a un compuesto oligonucleotídico inmunorregulador que es un antagonista de uno o más TLR, en el que el compuesto comprende un motivo oligonucleotídico y al menos una modificación, en el que el motivo oligonucleotídico podría ser inmunoestimulador (por ejemplo, CpG no metilado) de no ser por una o más modificaciones que suprimen la actividad del motivo oligonucleotídico, siempre que el compuesto contenga menos de 3 nucleótidos de guanosina consecutivos. Dichas modificaciones pueden estar en el terminal 5' del oligonucleótido, en una secuencia flanqueando el motivo oligonucleotídico y/o en el motivo oligonucleotídico. Estas modificaciones resultan en un compuesto IRO que reprime la estimulación inmunitaria modulada por TLR. Dichas modificaciones pueden tener lugar en las bases, residuos de azúcar y/o esqueleto de fosfato de los nucleótidos/nucleósidos que flanquean el motivo oligonucleotídico o en el motivo oligonucleotídico.

20 En las formas de realización preferidas, cuando la modificación es una alquilación 2' o alcoxilación, entonces la modificación no está en posición 5' adyacente al motivo oligonucleotídico, cuando la modificación es un enlace internucleosídico no cargado, entonces la modificación no está en posición 5' adyacente al motivo oligonucleotídico y cuando la modificación es una alquilación 3' o alcoxilación, entonces la modificación no está en posición 5' o 3' adyacente al motivo oligonucleotídico.

25 En las formas de realización preferidas, el compuesto IRO no es un oligonucleótido antisentido.

30 En determinadas formas de realización preferidas de la invención, los compuestos IRO pueden comprender al menos dos oligonucleótidos unidos mediante un enlace covalente nucleotídico, o un enlazador no nucleotídico en sus extremos 5', 3'-o 2'-o por un azúcar funcionalizado o una base nitrogenada funcionalizada a través de un enlazador no nucleotídico o un enlace nucleotídico. Dichos compuestos IRO pueden ser lineales o ramificados. Como ejemplo no limitativo, el enlazador puede unirse al hidroxilo 3'. En dichas formas de realización, el enlazador comprende un grupo funcional que se une al hidroxilo 3' por medio de un tipo de enlace basado en fosfato, por ejemplo, fosfodiéster, fosforotioato, fosforoditioato, metilfosfonato o enlaces no basados en fosfato. Los sitios posibles de conjugación del ribonucleótido se indican a continuación, en la Fórmula I, en la que B representa una base heterocíclica y en la que una flecha señalando a P indica cualquier unión al fósforo.



Fórmula I

40 En algunas formas de realización, el enlazador no nucleotídico es una molécula pequeña, macromolécula o biomolécula, incluyendo de manera no limitativa polipéptidos, anticuerpos, lípidos, antígenos, alérgenos y oligosacáridos. En algunas formas de realización diferentes, el enlazador no nucleotídico es una molécula pequeña. En el contexto de la invención, una molécula pequeña es un resto orgánico que presenta un peso molecular inferior a 1.000 Da. En algunas formas de realización, la molécula pequeña tiene un peso molecular inferior a 750 Da.

45 En algunas formas de realización, la molécula pequeña es un hidrocarburo alifático o aromático, cualquiera de los cuales puede incluir opcionalmente, tanto en la cadena lineal enlazando los oligorribonucleótidos o agregados a ésta, uno o más grupos funcionales incluyendo de manera no limitativa hidroxilo, amino, tio, tioéter, éter, amida, tioamida, éster, urea, o tiourea. La molécula pequeña puede ser cíclica o acíclica. Los ejemplos de enlazadores de molécula pequeña incluyen, aminoácidos, hidratos de carbono, ciclodextrinas, adamantano, colesterol, haptenos y antibióticos. Sin embargo, para describir el enlazador no nucleotídico, no se pretende que el término "molécula pequeña" incluya un nucleósido.

55 En algunas formas de realización, el enlazador no nucleotídico es un enlazador de alquilo o un enlazador de amino. El enlazador de alquilo puede ser ramificado o no ramificado, cíclico o acíclico, sustituido o no sustituido, saturado o no saturado, quiral, aquiral o mezcla racémica. Los enlazadores de alquilo pueden presentar de 2 a 18 átomos de

carbono. En algunas formas de realización, dichos enlazadores de alquilo presentan entre 3 y 9 átomos de carbono. Algunos enlazadores de alquilo incluyen uno o más grupos funcionales incluyendo de manera no limitativa hidroxilo, amino, tiol, tioéter, éter, amida, tioamida, éster, urea y tioéter. Dichos enlazadores de alquilo pueden incluir de manera no limitativa enlazadores de 1,2-propanodiol, 1,2,3-propanotriol, 1,3-propanodiol, trietilenglicol, hexaetilenglicol, polietilenglicol (por ejemplo, [-O-CH₂-CH₂]_n (n= 1-9)), enlazadores de metilo, enlazadores de etilo, enlazadores de propilo, enlazadores de butilo, o enlazadores de hexilo. En algunas formas de realización, dichos enlazadores de alquilo pueden incluir péptidos o aminoácidos.

5

En algunas formas de realización, el enlazador no nucleotídico puede incluir de manera no limitativa los presentados en la Tabla 2.

10

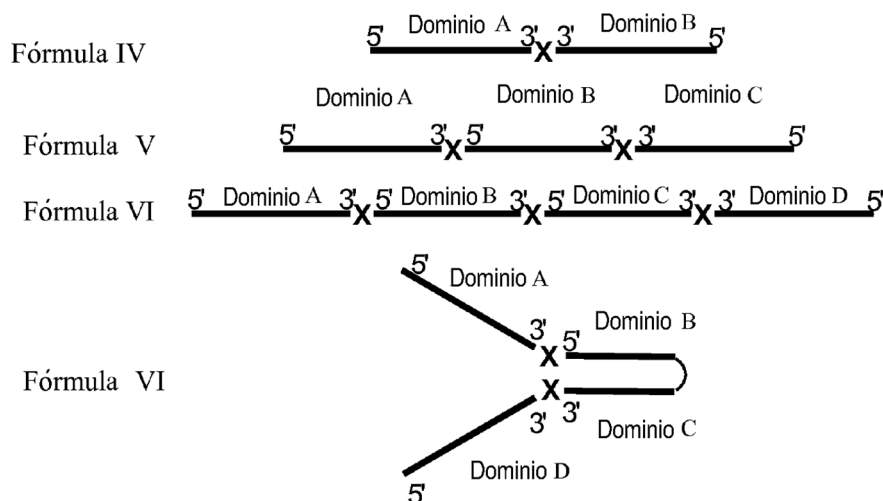
Tabla 2: Enlazadores no nucleotídicos representativos

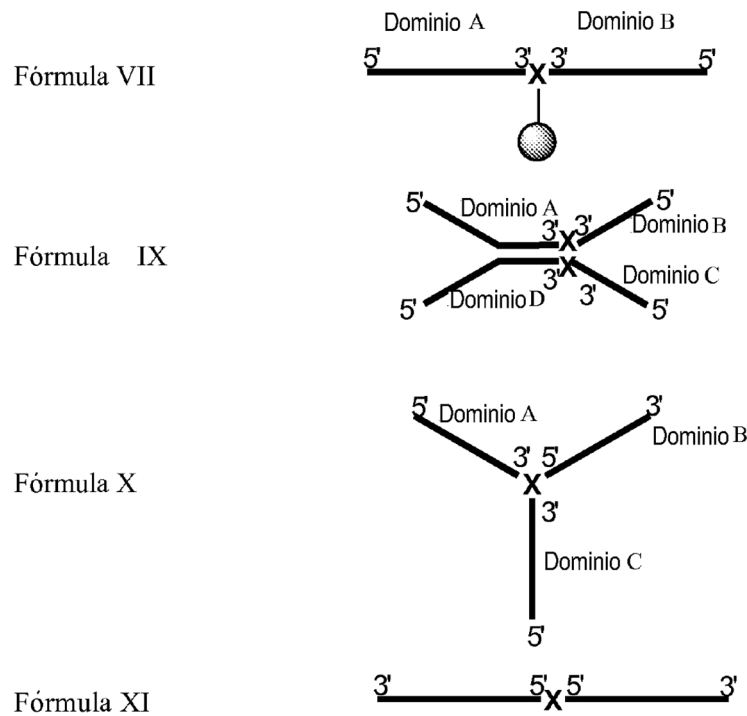
Enlazador no nucleotídico N.º	Composición química
1	Glicerol (1,2,3-Propanotriol)
2	1,2,4-Butanotriol
3	2-(hidroximetil)-1,3-propanodiol
4	2-(hidroximetil)-1,4-butanodiol
5	1,3,5-Pentanotriol
6	1,1,1-Tris(hidroximetil)etano
7	1,1,1-Tris(hidroximetil)nitrometano
8	1,1,1-Tris(hidroximetil)propano
9	1,2,6-Hexanotriol
10	3-Metil-1,3,5-pentanotriol
11	1,2,6-Metil-1,3,5-pentanotriol
12	1,2,3-Heptanotriol
13	2-Amino-2-(hidroximetil)-1,3propanodiol
14	N-[Tris(hidroximetil)metil]acrilamida
15	cis-1,3,5-Ciclohexanotriol
16	Cis-1,3,5-Tri(hidroximetil)ciclohexano
17	1,3,5-Trihidroxil-benceno
18	3,5-Di(hidroximetil)fenol
19	1,3,5-Di(hidroximetil)benceno
20	1,3-Di(hidroxietoxi)-2-hidroxil-propano
21	1,3-Di(hidroxipropoxi)-2-hidroxilpropano
22	2-Desoxi-D-ribosa
23	1,2,4-Trihidroxil-benceno
24	D-Galactal
25	1,6-anhidro-β-D-Glucosa
26	Acido 1,3,5-Tris(2-hidroxietil)-cianúrico
27	Ácido gálico
28	3,5,7-Trihidroxiflavona
29	4,6-Nitropirogalol
30	Etilenglicol
31	1,3-Propanodiol
32	1,2-Propanodiol
33	1,4-Butanodiol
33	1,3-Butanodiol
34	2,3-Butanodiol
35	1,4-Butanodiol
36	1,5-Pentanodiol
37	2,4-Pentanodiol
38	1,6-Hexanodiol
39	1,2-Hexanodiol
40	1,5-Hexanodiol
41	2,5-Hexanodiol
42	1,7-Heptanodiol
43	1,8-Octanodiol
44	1,2-Octanodiol
45	1,9-Nonanodiol
46	1,12-Dodecanodiol
47	Trietilenglicol
48	Tetraetilenglicol
49	Hexaetilenglicol

50	2-(1-Aminopropil)-1,3-propanodiol
51	1,2-Didesoxirribosa

- 5 En algunas formas de realización, el enlazador de molécula pequeña es glicerol o un homólogo de glicerol de la fórmula $\text{HO}-(\text{CH}_2)_o-\text{CH}(\text{OH})-(\text{CH}_2)_p-\text{OH}$, en la que o y p independientemente son enteros de 1 a aproximadamente 6, de 1 a aproximadamente 4, o de 1 a aproximadamente 3. En algunas formas de realización diferentes, el enlazador de molécula pequeña es un derivado de 1,3-diamino-2-hidroxiopropano. Algunos de dichos derivados presentan la fórmula $\text{HO}-(\text{CH}_2)_m-\text{C}(\text{O})\text{NH}-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{OH})-\text{CH}_2-\text{NHC}(\text{O})-(\text{CH}_2)_m-\text{OH}$, en la que m es un entero de 0 a aproximadamente 10, de 0 a aproximadamente 6, de 2 a aproximadamente 6, o de 2 a aproximadamente 4.
- 10 Algunos enlazadores no nucleotídicos permiten la unión de más de dos oligonucleótidos. Por ejemplo, el enlazador de molécula pequeña glicerol presenta tres grupos hidroxilo a los cuales se pueden unir covalentemente oligonucleótidos. Por lo tanto, algunos IRO comprenden dos o más oligonucleótidos unidos a un oligonucleótido o a un enlazador no nucleotídico. Dichos IRO se denominan "ramificados".
- 15 En determinadas formas de realización, los compuestos IRO pueden comprender al menos dos oligonucleótidos no unidos covalentemente, como unidos por interacciones electrostáticas, interacciones hidrófobas, interacciones de apilamiento π , enlaces de hidrógeno, o sus combinaciones. Los ejemplos no limitativos de tales enlaces no covalentes incluyen el apareamiento de bases de Watson-Crick, apareamiento de bases de Hoogsteen y apilamiento de bases.
- 20 En la Tabla 3 se muestran algunas maneras en las que pueden unirse dos o más oligonucleótidos.

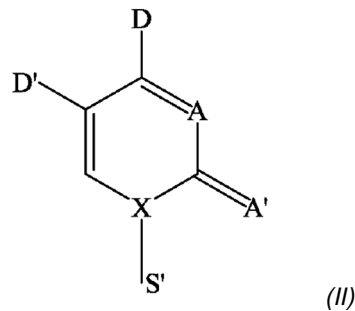
Tabla 3: Fórmulas IV -XI de oligorribonucleótidos





En determinadas formas de realización, los nucleósidos de pirimidina de los oligonucleótidos inmunorreguladores utilizados en la invención presentan la estructura (II):

5



en la que:

10

D es un donador de enlace de hidrógeno;

D' se selecciona entre el grupo que consiste en hidrógeno, donador del enlace de hidrógeno, aceptor del enlace de hidrógeno, grupo hidrófilo, grupo hidrófobo, grupo electroatrayente y grupo electrodonador;

15

A es un enlace de hidrógeno aceptor o un grupo hidrófilo;

A' se selecciona entre el grupo que consiste en aceptor del enlace de hidrógeno, grupo hidrófilo, grupo hidrófobo, grupo electroatrayente y grupo electrodonador;

20

X es carbono o nitrógeno; y

S' es un anillo de azúcar de pentosa o hexosa, o un análogo de azúcar o un azúcar modificado.

25

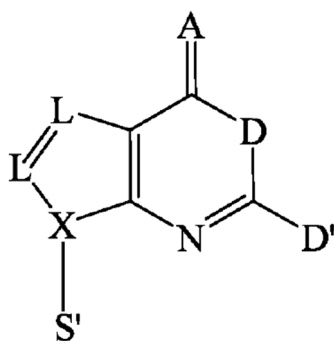
En determinadas formas de realización, el anillo de azúcar se deriva con un resto fosfato, un resto fosfato modificado, u otro resto enlazador adecuado para enlazar el nucleósido de pirimidina con otro nucleósido o análogo de nucleósido.

30

En algunas formas de realización, los enlaces de hidrógeno donadores incluyen de manera no limitativa -NH-, -NH₂, -SH y -OH. Los enlaces de hidrógeno aceptores preferidos incluyen de manera no limitativa C=O, C=S, y los átomos de nitrógeno del anillo de un heterociclo aromático, por ejemplo, N3 de citosina.

En algunas formas de realización, (II) es un derivado nucleosídico de pirimidina. Los ejemplos de derivados nucleosídicos de pirimidina incluyen de manera no limitativa 5-hidroxicitosina, 5-hidroximetilcitosina, N4-alquilcitosina, N4-etilcitosina, arabinoC, 5-OH-dC, N3-Me-dC y 4-tiouracilo. Las modificaciones químicas incluyen asimismo de manera no limitativa análogos de timina y uracilo. En algunas formas de realización, el resto azúcar S' en (II) es un derivado de azúcar. Derivados de azúcar adecuados incluyen, entre otros, trehalosa o derivados de trehalosa, hexosa o derivados de hexosa, arabinosa o derivados de arabinosa.

En determinadas formas de realización, los nucleósidos de purina de los oligonucleótidos reguladores inmunológicos utilizados en la invención presentan la estructura (III):



(III)

en la que:

15 D es un donador de enlace de hidrógeno;

D' se selecciona entre el grupo que consiste en hidrógeno, donador del enlace de hidrógeno y grupo hidrófilo;

20 A es un enlace de hidrógenoceptor o un grupo hidrófilo;

X es carbono o nitrógeno;

cada L se selecciona independientemente de entre el grupo que consiste en C, O, N y S y

25 S' es un anillo de azúcar de pentosa o hexosa, o un análogo de azúcar o un azúcar modificado.

En determinadas formas de realización, el anillo de azúcar se derivatiza con un resto fosfato, un resto fosfato modificado, u otro resto enlazador adecuado para enlazar el nucleósido de pirimidina con otro nucleósido o análogo de nucleósido.

30 En algunas formas de realización, los enlaces de hidrógeno donadores incluyen de manera no limitativa -NH-, -NH₂, -SH y -OH. En algunas formas de realización, los enlaces de hidrógeno aceptores incluyen de manera no limitativa C=O, C=S, -NO₂ y los átomos de nitrógeno del anillo de un heterociclo aromático, por ejemplo, N1 de guanina.

35 En algunas formas de realización, (III) es un derivado nucleosídico de purina. Los ejemplos de derivados nucleosídicos de purina incluyen de manera no limitativa análogos de guanina tales como 7-deaza-G, 7-deaza-dG, ara-G, 6-tio-G, inosina, Iso-G, loxorribina, TOG(7-tio-8oxo)-G, 8-bromo-G, 8-hidroxi-G, 5-aminofornicina B, oxofornicina, 7-metil-G, 9-pclorofenil-8-aza-G, 9-fenil-G, 9-hexil-guanina, 7-deaza-9-bencil-G, 6-cloro-7-deazaguanina, 6-metoxi-7-deazaguanina, 8-aza-7-deaza-G(PPG), 2-(dimetilamino)guanovina, 7-metil-6-tioguanovina, 8-benciloxiguanovina, 9-deazaguanovina y 1-(B-D-ribofuranosilo)-2-oxo-7-deaza-8-metil-purina, o 1-(2'-desoxi-β-D-ribofuranosilo)-2-oxo-7-deaza-8-metil-purina. Las modificaciones químicas incluyen asimismo de manera no limitativa análogos de adenina tales como 9-bencil-8-hidroxi-2-(2-metoxietoxi)adenina, 2-amino-N2-O-, metiladenovina, 8-aza-7-deaza-A, 7-deaza-A, vidarabina, 2-aminoadenovina, N1-metiladenovina, 8-azaadenovina, 5yodotubercidina y N1-Me-dG. En algunas formas de realización, el resto azúcar S' en (III) es un derivado de azúcar. definido en la Fórmula II.

En determinadas formas de realización de la invención, el ácido nucleico regulador inmunológico comprende una secuencia de ácido nucleico que contiene al menos un B-Ldesoxinucleósido o un 3'-desoxinucleósido.

50 En algunas formas de realización de la invención, el oligonucleótido inmunorregulador comprende una secuencia de ácido nucleico que contiene al menos un dinucleótido seleccionado de CpG, C*pG, C*pG* y CpG*, en el que C es citosina o 2'-desoxicidina, G es guanovina o 2' desoxiguanovina, C* es 2'-desoxitimidina, 1-(2'-desoxi-β-D-ribofuranosilo)-2oxo-7-deaza-8-metil-purina, 2'-didesoxi-5-halocitosina, 2'-didesoxi-5-nitrocitosina, arabinocidina, arabinocidina sustituida en 2'-desoxi-2', arabinocidina sustituida en 2'-O, 2'-desoxi-5-hidroxicitidina, 2'-desoxi-N4-

ES 2 624 767 T3

alquil-citidina, 2'-desoxi-4-tiouridina, u otros análogos de nucleósidos de pirimidina, G* es 2'-desoxi-7-deazaguanosina, 2'-desoxi-6-tioguanosina, arabinoguanosina, arabinoguanosina sustituida en 2'-desoxi-2', arabinoguanosina sustituida en 2'-O, 2'-desoxiinosina, u otros análogos de nucleósidos de purina, y p es un enlace internucleosídico seleccionado entre el grupo que consiste en fosfodiéster, fosforotioato y fosforoditioato y en el que la actividad de al menos un dinucleótido es regulada por la secuencia flanqueadora.

5

Las secuencias de IRO específicos dentro de estas estructuras generales incluyen, entre otras, las que se muestran en la Tabla 4a.

10 Tabla 4a:

IRO/Nº ID SEC:	Secuencia
5	5'-CTATCTGACGTTCTCTGT-3'
7	5'-CTATCTGACGTTCTCTGT-3'
17	5'-CTATCTGACG ₁ TTCTCTGT-3'
37	5'-CTATCTGACG ₄ TTCTCTGT-3'
39	5'-CTATCTGAC ₄ GTTCTCTGT-3'
41	5'-CTATCTGAC ₅ GTTCTCTGT-3'
43	5'-CTATCTGAC ₆ GTTCTCTGT-3'
45	5'-CTATCTGACG ₅ TTCTCTGT-3'
47	5'-CTATCTGAC ₇ GTTCTCTGT-3'
64	5'-CTATCTAACGTTCTCTGT-3'
67	5'-CTATCTAACG ₁ TTCTCTGT-3'
22	5'-CTATCTGAmCGTTCTCTGT-3'
9	5'-CTATCTGUCGTTCTCTGT-3'
10	5'-CTATCTGUCGTTCTCTGT-3'
19	5'-CTATCTGUCG ₁ TTCTCTGT-3'
38	5'-CTATCTGUCG ₄ TTCTCTGT-3'
40	5'-CTATCTGUC ₄ GTTCTCTGT-3'
42	5'-CTATCTGUC ₅ GTTCTCTGT-3'
44	5'-CTATCTGUC ₆ GTTCTCTGT-3'
46	5'-CTATCTGUCG ₅ TTCTCTGT-3'
48	5'-CTATCTGUC ₇ GTTCTCTGT-3'
66	5'-CTATCTAUCGTTCTCTGT-3'
69	5'-CTATCTAUCG ₁ TTCTCTGT-3'
65	5'-CTATCTAGCGTTCTCTGT-3'
68	5'-CTATCTAGCG ₁ TTCTCTGT-3'
23	5'-CTATCTGmACGTTCTCTGT-3'
24	5'-CTATCTGmAmCGTTCTCTGT-3'
25	5'-CTATCTGAC ₂ GTTCTCTGT-3'
27	5'-CTATCTGTC ₂ GTTCTCTGT-3'
33	5'-CTATCTGAC ₃ GTTCTCTGT-3'
35	5'-CTATCTGTC ₃ GTTCTCTGT-3'
26	5'-CTATCTGACG ₂ TTCTCTGT-3'
28	5'-CTATCTGTCG ₂ TTCTCTGT-3'
34	5'-CTATCTGACG ₃ TTCTCTGT-3'
36	5'-CTATCTGTCG ₃ TTCTCTGT-3'
21	3'-TCTTGCAGTCT-X ₂ -TCTGACGTTCT-3'
52	5'-CCTACTAGCGTX ₁ CTCATC-3'
53	5'-CCTACTAGCGX ₁ TCTCATC-3'
54	5'-CCTACTAG ₃ CGTTCTCATC-3'
55	5'-TCCATGA ₁ CGTTCCTGATGC-3'
56	5'-CTATCTGAC ₂ G ₂ TTCTCTGT-3'
57	5'-C2T2A2T2C2T2G2A2C2G2T2T2C2T2C2T2G2T2-3'
29	5'-CTATCTGAX ₁ GTTCTCTGT-3'
30	5'-CTATCTGACX ₁ TTCTCTGT-3'
31	5'-CTATCTGTX ₁ GTTCTCTGT-3'
32	5'-CTATCTGTCX ₁ TTCTCTGT-3'
61	5'-CTATCTAGCGTX ₁ CTCTGT-3'
62	5'-CTATCTAGCGX ₁ TCTCTGT-3'
63	5'-CTATCTAGCGX ₁ X ₁ CTCTGT-3'
58	5'-CTATCTGACGX ₃ CTCTGT-3'
59	5'-CTATCTGACGX ₃ TCTCTGT-3'
60	5'-CTATCTGACGX ₃ X ₃ CTCTGT-3'

IRO/Nº ID SEC:	Secuencia
70	5'-CTATCTAGCGTX ₃ CTCTGT-3'
71	5'-CTATCTAGCGX ₃ TCTCTGT-3'
72	5'-CTATCTAGCGX ₃ X ₃ CTCTGT-3'
74	5'-CTATCTGACGTTCTCTGT-3'
76	5'-CCTACTAG ₆ CGTTCTCATC-3'
77	5'-TCCATGACGU ₁ TCCTGATGC-3'
78	5'-CTATCTGX ₂ CGTTCTCTGT-3'
79	5'-CTATCTX ₂ ACGTTCTCTGT-3'
80	5'-CTATCTU ₂ ACGTTCTCTGT-3'
81	5'-CTATCTGU ₂ CGTTCTCTGT-3'
82	5'-CTATCTGACGX ₂ TCTCTGT-3'
83	5'-CTATCTGACGX ₂ CTCTGT-3'
84	5'-CTATCTGX ₃ CGTTCTCTGT-3'
85	5'-CTATCTX ₃ ACGTTCTCTGT-3'
86	(5'-TCTGACGTTCT) ₂ X ₂
87	(5'-TCTGACG ₁ TTCT) ₂ X ₂
88	(5'-TCTGACG ₄ TTCT) ₂ X ₂
89	(5'-TCTCTGACGTT) ₂ X ₂
90	5'-TCTGACG ₁ TTCT-X ₃ TGACCGGTCA-3'
91	(5'-TCTGUCGTTCT) ₂ X ₂
92	(5'-TCTGUCG ₁ TTCT) ₂ X ₂
93	(5'-TCTGACG ₄ TTCT) ₂ X ₂
94	(5'-TCTGACG ₁ TT) ₂ X ₂
95	5'-TCTGACG ₁ TTCT-X ₃ TCAACCACACA-3'
96	5'-CTATCTGACG ₁ TTCTCUGU-3'
97	5'-CTATCTGUCG ₁ TTCTCUGU-3'
98	(5'-UGUCG ₁ TTCT) ₂ X ₂
99	(5'-UGACG ₁ TTCT) ₂ X ₂

5 Subrayado G, A o U = 2'-OMe; Subrayado T = 3'-OMe; A₁ = 3'-OMe; G₁=7-deaza-dG; m= PMe; A₂, T₂, C₂, y G₂ = B-L-desoxi nucleósido; X₁ = abásico; X₂ = enlazador de glicerol, X₃ = enlazador-C3; C₃ y G₃ = 3'-desoxi-nucleósido; G₄ = araG; C₄ = araC; C₅ = 5-OH-dC; G₆ = N2Me-dG; C₆ = 1-(2'-desoxi-β-D-ribofuranosilo)-2-oxo-7-deaza-8-metil-purina; G₅ = N1-Me-dG; C₇ = N3-Me-dC; U₁=3'-OMe; U₂=dU

Las secuencias de los oligonucleótidos control pueden incluir las que se muestran en la Tabla 4b.

10 Tabla 4b:

Nº ID SEC:	Secuencia
1	5'-CTATCTGACGTTCTCTGT-3'
2	5'-CTATCTGTTCGTTCTCTGT-3'
3	5'-TCTGACG ₁ TTCT-X ₂ -TCTTG ₁ CAGTCT-5'
4	5'-CTATCTCACCTTCTCTGT-5'
6	5'-CTATCTGACGUUCTCTGT-3'
49	5'-CTATCTAGCGTTCTCTGT-3'
50	5'-CTATCTAGCGTTCTCTGT-3'
51	5'-CTATCTAGCGTTCTCTGT-3'
75	5'-CTATCTGACG ₁ UUCTCTGT-3'

Subrayado U = 2'-OMe; Subrayado T = 3'-OMe; G₁=7-deaza-dG; X₂ = enlazador de glicerol

15 En algunas formas de realización, cada uno de los oligonucleótidos presentan de aproximadamente 6 a aproximadamente 35 restos nucleósidos, preferentemente de aproximadamente 9 a aproximadamente 30 restos nucleósidos, y más preferentemente de aproximadamente 11 a aproximadamente 23 restos nucleósidos. En algunas formas de realización, los oligonucleótidos presentan aproximadamente de 6 a aproximadamente 18 restos nucleósidos.

20 En la presente memoria se describen las formulaciones farmacéuticas que incluyen un compuesto IRO, como se ha descrito anteriormente, en combinación con un agente antiinflamatorio que inhibe TNF-α y un transportador fisiológicamente aceptable.

25 En la presente memoria también se describen los procedimientos para inhibir o reprimir la inducción de una

respuesta autoinmunitaria o inflamatoria en un mamífero, procedimiento que comprende la administración a un mamífero de un compuesto IRO como se describe en la presente memoria en combinación con un agente antiinflamatorio que inhibe TNF- α . En las formas de realización preferidas, el compuesto IRO y el agente antiinflamatorio se administran a un mamífero que necesita inmunosupresión.

5 A este respecto, un compuesto IRO puede suprimir una respuesta inmunitaria a otro ligando de TFR o agonista de TLR. La activación de una respuesta inmunitaria basada en TLR por medio de un agonista de TLR o ligando de TLR (por ejemplo, un oligonucleótido inmunomodulador) puede ser suprimida/inhibida por la preadministración o postadministración simultánea de un compuesto IRO y tal supresión/inhibición puede ser mantenida durante un largo período de tiempo (por ejemplo, días) tras la administración. Esta propiedad beneficiosa tiene una ventaja excepcional para la prevención y/o el tratamiento de una enfermedad o trastorno. Por ejemplo, la aplicación de algunos agonistas de TLR durante el curso de tratamiento de la enfermedad puede causar una estimulación inmunitaria no deseada que un compuesto IRO podría suprimir/inhibir. La administración del IRO de forma simultánea, previa a la administración y/o posterior a la administración del agonista de TLR puede ofrecer beneficios terapéuticos del agonista del TLR, mientras se suprimen/inhiben el/los efecto(s) secundarios no deseados. Además, la preadministración de un compuesto IRO podría prevenir una respuesta inmunitaria (por ejemplo, una reacción alérgica) a una subsiguiente o posterior provocación de un agonista del TLR.

10 La administración de un compuesto IRO en combinación con un agente antiinflamatorio que inhibe TNF- α puede realizarse mediante cualquier vía adecuada, incluyendo de manera no limitativa administración parenteral, por la mucosa, oral, sublingual, transdérmica, tópica, mediante inhalación, intranasal, mediante aerosol, intraocular, intratraqueal, intrarrectal, vaginal, mediante pistola génica, parche dérmico o en forma de colirio o colutorio. La administración de las composiciones terapéuticas puede llevarse a cabo usando procedimientos a dosificaciones y durante periodos de tiempo eficaces para reducir los síntomas o marcadores indirectos de la enfermedad. Cuando se administra sistémicamente, la composición terapéutica se administra preferentemente en una dosificación suficiente para conseguir un nivel en sangre de un compuesto IRO de aproximadamente 0,0001 micromolar a aproximadamente 10 micromolar. Para una administración localizada, pueden ser eficaces concentraciones mucho más bajas que ésta, y se pueden tolerar concentraciones mucho más altas. Preferentemente, la dosificación total de un compuesto IRO varía de aproximadamente 0,001 mg por paciente por día a aproximadamente 200 mg por kg de peso corporal por día. Puede ser deseable administrar de forma simultánea o secuencial una cantidad terapéuticamente eficaz de una o más de las composiciones terapéuticas a un individuo en un único episodio de tratamiento.

15 El compuesto IRO puede unirse opcionalmente a uno o más alérgenos y/o antígenos (propios o extraños), una proteína inmunógena, tal como hemocianina de lapa californiana (KLH), subunidad B de la toxina del cólera, o cualquier otra proteína transportadora inmunógena. Se puede usar también un compuesto IRO en combinación con otros compuestos (por ejemplo, adyuvantes) incluyendo de manera no limitativa agonistas del TLR (por ejemplo, agonistas TLR2 y agonistas TLR9), adyuvante incompleto de Freund, KLH, monofosforil lípido A (MPL), alumbre y saponinas, incluyendo QS-21 e imiquimod, o sus combinaciones.

20 Los procedimientos descritos en la presente memoria son útiles para estudios modelo del sistema inmunitario. Los procedimientos son también útiles para el tratamiento profiláctico o terapéutico de una enfermedad humana o animal. Por ejemplo, los procedimientos son útiles para aplicaciones de vacunas pediátricas y veterinarias.

25 Los patógenos incluyen bacterias, parásitos, hongos, virus, viroides y priones. Los virus preferidos incluyen virus de ADN o ARN como, entre otros, virus de ADN bicatenarios (por ejemplo, virus del Herpes, Poxvirus, Hepadnavirus), virus de ADN monocatenarios (por ejemplo, Parvovirus), virus de ARN monocatenarios (por ejemplo, Picornavirus, Togavirus, Ortomixovirus y Rabdovirus) y los presentados en la Tabla 5. La administración puede llevarse a cabo como se ha descrito anteriormente

50 Tabla 5:

Virus:	Tipo:
Citomegalovirus	ADNbc
Virus de la hepatitis A	ARNmc
Virus de la hepatitis B	ADNbc
Virus de la hepatitis C	ARNmc
Virus de la hepatitis delta	ARNmc
Virus de la hepatitis E	ARNmc
Virus de herpes simple	ADNbc
Virus de inmunodeficiencia humana	ARNmc
Virus del papiloma humano	ADNbc
Influenzavirus A	ARNmc
Influenzavirus B	ARNmc
Influenzavirus C	ARNmc
Virus de la fiebre por garrapatas de Colorado	dsRNA

Virus del dengue	ARNmc
Virus del ébola	ARNmc
Virus Coxsackie A	ARNmc
Enterovirus 71 (EV71)	ARNmc
Virus de la varicela zoster	ADNbc
Virus de Lassa	ADNbc
Virus de Marburgo	ARNmc
Virus de Epstein-Barr / Virus del herpes humano 4	ADNbc
Norovirus	ARNmc
Rotavirus	dsRNA
Virus JC	ADNbc
Virus de la rabia	ARNmc
Coronavirus asociado al SARS	ARNmc
Virus variola	dsRNA
Virus sincial respiratorio humano	ARNmc
Adenovirus	ADNbc
Metapneumovirus humano	ARNmc
Virus del Nilo Occidental	ARNmc
Virus de la fiebre amarilla	ARNmc
Picornavirus	ARNmc
Virus del sarampión	ARNmc
Virus de las paperas	ARNmc
Virus de la polio	ARNmc
Virus de la rubeola	ARNmc
Virus de la encefalitis japonesa	ARNmc
Virus Chandipura	ARNmc
Virus de la encefalitis de St. Louis	ARNmc
Virus de la encefalomielitis equina oriental	ARNmc
Virus de la encefalitis equina occidental	ARNmc
Virus de la encefalitis equina venezolana	ARNmc

Un "paciente con riesgo de desarrollar una enfermedad o trastorno" es un paciente que ha sido expuesto a un agente etiológico o a otro factor ambiental que causa la enfermedad o trastorno, tanto si los síntomas de la enfermedad han empezado a manifestarse, como si no lo han hecho.

5

En cualquiera de los procedimientos descritos en la presente memoria, el compuesto IRO más el agente antiinflamatorio que inhibe TNF- α pueden suministrarse en combinación con cualquier otro agente útil para tratar la enfermedad o afección que no disminuya el efecto inmunomodulador del compuesto IRO o del agente antiinflamatorio que inhibe TNF- α . En cualquiera de los procedimientos descritos en la presente memoria, el agente útil para tratar la enfermedad o afección incluye, entre otros, una o más vacunas, antígenos, anticuerpos, agentes citotóxicos, alérgenos, antibióticos, oligonucleótidos antisentido, agonistas del TLR, antagonistas del TLR, péptidos, proteínas, vectores de terapia génica, vacunas de ADN, adyuvantes, agentes antivirales, fármacos antipalúdicos (por ejemplo, cloroquina e hidroxicloroquina), o inhibidores de cinasas para aumentar la especificidad o magnitud de la respuesta inmunitaria, o moléculas coestimuladoras como citocinas, quimiocinas, ligandos de proteína, factores transactivadores, péptidos y péptidos que incluyen aminoácidos modificados. Por ejemplo, en el tratamiento del cáncer, se contempla que el compuesto IRO pueda administrarse con uno o más compuestos quimioterápicos, agentes terapéuticos dirigidos y/o anticuerpos monoclonales. Alternativamente, el agente puede incluir vectores de ADN que codifican antígenos o alérgenos. En estas formas de realización, los compuestos IRO pueden actuar de diversas maneras como adyuvantes y/o producir efectos inmunomoduladores directos.

20

Se pretende que los ejemplos siguientes ilustren de manera adicional determinadas formas de realización ejemplificativas de la invención, y no se pretende que limiten el alcance de la misma. Por ejemplo, en los siguientes ejemplos se muestran ligandos de TLR representativos, pero no limitan el alcance de los ligandos que actúan como antagonistas para los IRO utilizados en la invención.

25

Ejemplo 1

Síntesis de oligonucleótidos que contienen restos inmunorreguladores

30

Todos los IRO fueron sintetizados de acuerdo a procedimientos estándares (véase *p.ej.*, la publicación de patente US nº 2004/0097719).

35

Los oligonucleótidos fueron sintetizados en escala 1 μ M utilizando un sintetizador de ADN automático (Expedite 8909; PerSeptive Biosystems, Framingham, Mass.), siguiendo los procedimientos de síntesis lineal o síntesis paralela (véase *p.ej.*, figuras 5 y 6 de la publicación de patente US nº 2004/0097719).

Las desoxirribonucleósido fosforamiditas se obtuvieron de (Aldrich-Sigma, St Louis, Mo). 1',2'-dideoxirribosa fosforamidita, propil-1-fosforamidito, 2-desoxiuridina fosforamidita, 1,3-bis-[5-(4,4'-dimetoxitritil)pentilamidil]-2-propanol fosforamidita y metil fosforamidita se obtuvieron de Glen Research (Sterling, Va.). β -L-2'-desoxirribonucleósido fosforamidita, α -2'-desoxirribonucleósido fosforamidita, mono-DMT-glicerol fosforamidita y di-DMT-glicerol fosforamidita se obtuvieron de ChemGenes (Wilmington, Mass.). (4Aminobutilo)-1,3-propanodiol fosforamidita se obtuvo de Clontech (Palo Alto, Calif.). Arabinocitidina fosforamidita, arabinoguanosina, arabinotimidina y arabinouridina se obtuvieron de Reliable Pharmaceutical (St. Louis, Mo.). Arabinoguanosina fosforamidita, arabinotimidina fosforamidita y arabinouridina fosforamidita fueron sintetizados en Idera Pharmaceuticals, Inc. (Cambridge, Mass.) (Noronha *et al.* (2000) *Biochem.* 39:7050-62).

Todas las nucleósido fosforamiditas se caracterizaron por espectros de RMN de ^{31}P y ^1H . Los nucleósidos modificados se incorporaron en sitios específicos usando ciclos de acoplamiento normales. Después de la síntesis, los oligonucleótidos se desprotegeron usando hidróxido de amonio concentrado y se purificaron por HPLC de fase inversa, seguido de diálisis. Los compuestos purificados en forma de sal de sodio se liofilizaron antes de su utilización. La pureza se sometió a ensayo por CGE y MALDI-TOF MS.

Ejemplo 2

Los antagonistas de TLR7 y TLR9 en combinación con inhibidores de TNF- α tratan la artritis de forma eficaz

Se indujo artritis en ratones DBA/1 por inyección intradérmica (i.d) de colágeno bovino tipo II (CII)/CFA el día 0 y CII/IFA el día 21.

Los ratones se dividieron en seis grupos (n=8). El tratamiento comenzó el día 28, cuando la mitad de los ratones mostraba síntomas de artritis (puntuación 1) Los antagonistas TLR7 y TLR9 (antagonistas TLR) o Enbrel (inhibidor de TNF- α) o la combinación de ambos agentes se administró a los ratones una vez cada 3 días hasta el día 46 (total de 7 dosis). Los ratones de los Grupos 1, 2 y 3 recibieron 1,25, 2,5 y 5 mg/kg del antagonista del TLR por inyección subcutánea (s.c.), respectivamente, además de 5 mg/kg del inhibidor de TNF- α ; los ratones del Grupo 4 recibieron 5 mg/kg del antagonista del TLR por inyección subcutánea (s.c.); los ratones del Grupo 5 recibieron 5 mg/kg del inhibidor de TNF- α i.p.; los ratones del Grupo 6 recibieron un vehículo (PBS) s.c.

Puntuaciones clínicas. Los síntomas de artritis fueron monitorizados en todos los ratones cada tres días a partir del día 21. Los síntomas de artritis se puntuaron como 0: sin inflamación en las patas; 1: patas con inflamación en al menos un dedo; 2: inflamación en la totalidad de la pata; 3: patas con deformidades o anquilosis. Se puntuó cada una de las cuatro patas, con una puntuación máxima de 12 para cada ratón. Los datos mostrados en la figura 1 demuestran que la administración de un antagonista del TLR más un agente inhibidor de TNF- α es más eficaz que tratar y prevenir la progresión de la artritis con cada agente por separado. De forma más global, estos datos demuestran que la combinación de un antagonista del TLR más un agente inhibidor de TNF- α es útil para prevenir la progresión de enfermedades inflamatorias y autoinmunitarias.

Supresión de la inflamación en las articulaciones. El día 58, los ratones fueron sometidos a eutanasia y los tejidos de las articulaciones de las patas traseras se prepararon, fijaron y tiñeron con hematoxilina y eosina, y en el tejido de la articulación se evaluaron histológicamente los leucocitos y la erosión ósea. Los datos mostrados en la figura 2 demuestran que la administración de un antagonista del TLR más un inhibidor de TNF- α es más eficaz para prevenir la inflamación de las articulaciones y la erosión ósea resultante que con cada agente por separado. De forma más global, estos datos demuestran que la combinación de un antagonista del TLR con un agente inhibidor de TNF- α es útil para inhibir la inflamación de las articulaciones, la erosión ósea y la progresión de la enfermedad. Supresión de pérdida de cartílago. El día 58, los ratones fueron sometidos a eutanasia y los tejidos de las articulaciones de las patas traseras se prepararon, fijaron y tiñeron con Safranina O, y con la histología del tejido de la articulación se evaluó la pérdida de cartílago. Los datos mostrados en la figura 3 demuestran que la administración de un antagonista del TLR más un inhibidor de TNF- α es más eficaz para prevenir la pérdida de cartílago que con cada agente por separado. De forma más global, estos datos demuestran que la combinación de un antagonista del TLR más un agente inhibidor de TNF- α es útil para inhibir la pérdida de cartílago y la progresión de la enfermedad.

Inflamación en las patas traseras. El día 58, los ratones fueron sometidos a eutanasia y se evaluó y puntuó la inflamación de las patas traseras (Grado 0 (sin hinchazón) a Grado 3 (hinchazón severa)). Los datos mostrados en la figura 4 demuestran que la administración de un antagonista del TLR más un inhibidor de TNF- α es más eficaz para prevenir la inflamación del tejido que con cada agente por separado. De forma más global, estos datos demuestran que la combinación de un antagonista del TLR más un agente inhibidor de TNF- α es útil para inhibir la inflamación del tejido y la progresión de la enfermedad.

Producción de anticuerpos IgG1 (tipo Th2). El día 58, los ratones fueron sometidos a eutanasia y el suero se recogió y analizó para determinar la concentración de anticuerpos IgG1 (tipo Th2). Los datos mostrados en la figura 5 demuestran que la administración de un antagonista del TLR más un inhibidor de TNF- α inhibe de forma eficaz la producción de anticuerpos IgG1, y que la combinación de un antagonista del TLR más un inhibidor de TNF- α es más

eficaz para suprimir la producción de anticuerpos IgG1 que con cada agente por separado. De forma más global, estos datos demuestran que la administración de un antagonista del TLR más un agente inhibidor de TNF- α es útil para inhibir la producción de anticuerpos IgG1 (tipo Th2) y la progresión de la enfermedad.

- 5 Producción de anticuerpos IgG2a (tipo Th1). El día 58, los ratones fueron sometidos a eutanasia y el suero se recogió y analizó para determinar la concentración de anticuerpos IgG2a (tipo Th1). Los datos presentados en la figura 6 demuestran que la administración de un antagonista del TLR más un inhibidor de TNF- α inhibe de forma eficaz la producción de anticuerpos IgG2a (tipo Th1), y que el antagonista del TLR es el agente que causa la reducción de anticuerpos IgG2a. De forma más global, estos datos demuestran que la administración de un antagonista del TLR más un agente inhibidor de TNF- α es útil para inhibir la producción de anticuerpos IgG2a (tipo Th2) y la progresión de la enfermedad.
- 10

- Producción de IFN- γ / Respuesta inmunitaria. El día 58, los ratones fueron sometidos a eutanasia y el suero se recogió y analizó para determinar la concentración de IFN- γ (citocina tipo Th1) como indicador de la respuesta inmunitaria de tipo Th1. Los datos mostrados en la figura 7 demuestran que la administración de un antagonista del TLR más un inhibidor de TNF- α inhibe de forma eficaz IFN- γ (una citocina tipo Th1) y que el antagonista del TLR es el agente que causa la reducción de IFN- γ (respuesta inmunitaria de tipo Th1). De forma más global, estos datos demuestran que la administración de un antagonista del TLR más un agente inhibidor de TNF- α es útil para inhibir IFN- γ (respuesta inmunitaria de tipo Th1) y la progresión de la enfermedad.
- 15
- 20

REIVINDICACIONES

1. Compuesto IRO para la utilización en un procedimiento para tratar terapéuticamente un mamífero que presenta una enfermedad que presenta un componente autoinmunitario o inflamatorio, comprendiendo dicho procedimiento administrar al mamífero un compuesto IRO que presenta la estructura



en el que:

CG es un motivo oligonucleotídico que es CpG, C*pG, C*pG* o CpG*, en el que C es citosina, C* es un derivado nucleotídico de pirimidina que es un nucleótido de pirimidina que presenta una base que no es citosina, timina o uracilo y/o un azúcar que no es ribosa o 2'-desoxirribosa y puede estar presente en el esqueleto de un oligonucleótido, G es guanosina, y G* es un derivado nucleotídico de purina que es un nucleótido de purina que presenta una base que no es guanina o adenina y/o un azúcar que no es ribosa o 2'-desoxirribosa y puede estar presente en el esqueleto de un oligonucleótido;

N_1-N_3 en cada aparición, es independientemente i) un nucleótido, ii) un derivado nucleotídico que es un nucleótido de purina o pirimidina que presenta una base que no es guanina, citosina, adenina, timina o uracilo y/o un azúcar que no es ribosa o 2'-desoxirribosa y puede estar presente en el esqueleto de un oligonucleótido, o iii) un enlace no nucleotídico siempre que por lo menos un N_1-N_3 sea un derivado nucleotídico o un enlace no nucleotídico que suprima la actividad del motivo oligonucleotídico;

N^1-N^3 , en cada aparición, es independientemente i) un nucleótido, ii) un derivado nucleotídico que es un nucleótido de purina o pirimidina que presenta una base que no es guanina, citosina, adenina, timina o uracilo y/o un azúcar que no es ribosa o 2'-desoxirribosa y puede estar presente en el esqueleto de un oligonucleótido, o iii) un enlace no nucleotídico;

N_m y N^m , en cada aparición, es independientemente un nucleótido, derivado nucleotídico que es un nucleótido de purina o pirimidina que presenta una base que no es guanina, citosina, adenina, timina o uracilo y/o un azúcar que no es ribosa o 2'-desoxirribosa y puede estar presente en el esqueleto de un oligonucleótido, o un enlace no nucleotídico;

y siempre que además el compuesto contenga menos de 3 nucleótidos de guanosina consecutivos;

en el que el motivo oligonucleotídico sería inmunoestimulador de no ser por el derivado nucleotídico o el enlace no nucleotídico que suprime la actividad del motivo oligonucleotídico;

en el que m es un número desde 0 a aproximadamente 30 en combinación con un agente antiinflamatorio que inhibe el TNF- α en una cantidad farmacéuticamente eficaz.

2. Compuesto IRO para la utilización en un procedimiento para prevenir una enfermedad o un trastorno que presenta un componente autoinmunitario o inflamatorio en un mamífero con riesgo de desarrollar dicha enfermedad o trastorno, comprendiendo dicho procedimiento administrar al mamífero un compuesto IRO que presenta la estructura



en el que:

CG es un motivo oligonucleotídico que es CpG, C*pG, C*pG* o CpG*, en el que C es citosina, C* es un derivado nucleotídico de pirimidina que es un nucleótido de pirimidina que presenta una base que no es citosina, timina o uracilo y/o un azúcar que no es ribosa o 2'-desoxirribosa y puede estar presente en el esqueleto de un oligonucleótido, G es guanosina, y G* es un derivado nucleotídico de purina que es un nucleótido de purina que presenta una base que no es guanina o adenina y/o un azúcar que no es ribosa o 2'-desoxirribosa y puede estar presente en el esqueleto de un oligonucleótido;

N_1-N_3 en cada aparición, es independientemente i) un nucleótido, ii) un derivado nucleotídico que es un nucleótido de purina o pirimidina que presenta una base que no es guanina, citosina, adenina, timina o uracilo y/o un azúcar que no es ribosa o 2'-desoxirribosa y puede estar presente en el esqueleto de un oligonucleótido, o iii) un enlace no nucleotídico, siempre que por lo menos un N_1-N_3 sea un derivado nucleotídico o un enlace no nucleotídico que suprima la actividad del motivo oligonucleotídico;

N^1-N^3 , en cada aparición, es independientemente i) un nucleótido, ii) un derivado nucleotídico que es un nucleótido de purina o pirimidina que presenta una base que no es guanina, citosina, adenina, timina o uracilo y/o

un azúcar que no es ribosa o 2'-desoxirribosa y puede estar presente en el esqueleto de un oligonucleótido, o iii) un enlace no nucleotídico;

5 N_m y N^m , en cada aparición, es independientemente un nucleótido, un derivado nucleotídico que es un nucleótido de purina o pirimidina que presenta una base que no es guanina, citosina, adenina, timina o uracilo y/o un azúcar que no es ribosa o 2'-desoxirribosa y puede estar presente en el esqueleto de un oligonucleótido, o un enlace no nucleotídico;

10 y siempre que además el compuesto contenga menos de 3 nucleótidos de guanosina consecutivos;

en el que el motivo oligonucleotídico sería inmunoestimulador de no ser por el derivado nucleotídico o el enlace no nucleotídico que suprime la actividad del motivo oligonucleotídico;

15 en el que m es un número desde 0 a aproximadamente 30

y un agente antiinflamatorio que inhibe el TNF- α en una cantidad farmacéuticamente eficaz.

20 3. Compuesto IRO para la utilización según la reivindicación 1 o 2, comprendiendo el compuesto IRO por lo menos dos oligonucleótidos unidos por un enlazador no nucleotídico en sus extremos 3' en el que el enlazador no nucleotídico puede estar unido al 3'hidroxilo, azúcar funcionalizado o base nitrogenada funcionalizada, en el que por lo menos un oligonucleótido presenta la estructura



25 en el que:

30 CG es un motivo oligonucleotídico que es CpG, C*pG, C*pG* o CpG*, en el que C es citosina, C* es un derivado nucleotídico de pirimidina que es un nucleótido de pirimidina que presenta una base que no es citosina, timina o uracilo y/o un azúcar que no es ribosa o 2'-desoxirribosa y puede estar presente en el esqueleto de un oligonucleótido, G es guanosina, y G* es un derivado nucleotídico de purina que es un nucleótido de purina que presenta una base que no es guanina o adenina y/o un azúcar que no es ribosa o 2'-desoxirribosa y puede estar presente en el esqueleto de un oligonucleótido;

35 N_1-N_3 , en cada aparición, es independientemente i) un nucleótido, ii) un derivado nucleotídico que es un nucleótido de purina o pirimidina que presenta una base que no es guanina, citosina, adenina, timina o uracilo y/o un azúcar que no es ribosa o 2'-desoxirribosa y puede estar presente en el esqueleto de un oligonucleótido, o iii) un enlace no nucleotídico, siempre que por lo menos un N_1-N_3 sea un derivado nucleotídico o un enlace no nucleotídico que suprima la actividad del motivo oligonucleotídico;

40 N^1-N^3 , en cada aparición, es independientemente i) un nucleótido, ii) un derivado nucleotídico que es un nucleótido de purina o pirimidina que presenta una base que no es guanina, citosina, adenina, timina o uracilo y/o un azúcar que no es ribosa o 2'-desoxirribosa y puede estar presente en el esqueleto de un oligonucleótido, o iii) un enlace no nucleotídico;

45 N_m y N^m , en cada aparición, es independientemente un nucleótido, derivado nucleotídico que es un nucleótido de purina o pirimidina que presenta una base que no es guanina, citosina, adenina, timina o uracilo y/o un azúcar que no es ribosa o 2'-desoxirribosa y puede estar presente en el esqueleto de un oligonucleótido, o enlace no nucleotídico;

50 y siempre que además el compuesto contenga menos de 3 nucleótidos de guanosina consecutivos;

en el que el motivo oligonucleotídico sería inmunoestimulador de no ser por el derivado nucleotídico o el enlace no nucleotídico que suprime la actividad del motivo oligonucleotídico;

55 en el que m es un número desde 0 a aproximadamente 30.

60 4. Compuesto IRO para la utilización según la reivindicación 3, en el que el enlazador no nucleotídico que enlaza dichos por lo menos dos oligonucleótidos se selecciona de entre el grupo que consiste en glicerol (1,2,3-propanotriol), 1,2,4-butanotriol, 2-(hidroximetil)-1,3-propanodiol, 2-(hidroximetil)-1,4-butanodiol, 1,3,5-pentanotriol, 1,1,1-tris(hidroximetil)etano, 1,1,1-tris(hidroximetil)nitrometano, 1,1,1-tris(hidroximetil)propano, 1,2,6-hexanotriol, 3-metil-1,3,5-pentanotriol, 1,2,3-heptanotriol, 2-Amino-2-(hidroximetil)-1,3-propanodiol, N-[tris(hidroximetil)metil]acrilamida, cis-1,3,5-ciclohexanotriol, cis-1,3,5-tri(hidroximetil)ciclohexano, 3,5-di(hidroximetil)fenol, 1,3,5-trihidroxil-benceno, 3,5-di(hidroximetil)benceno, 1,3-di(hidroxietoxi)-2-hidroxil-propano, 1,3-di(hidroxipropoxi)-2-hidroxil-propano, 2-desoxi-D-ribosa, 1,2,4-trihidroxil-benceno, D-galactal, 1,6-anhidro- β -D-glucosa, ácido 1,3,5-tris(2-hidroxietil)-cianúrico, ácido gálico, 3,5,7-trihidroxiflavona, 4,6-nitropirogalol, etilenglicol, 1,3-propanodiol, 1,2-propanodiol, 1,4-butanodiol, 1,3-butanodiol, 2,3-butanodiol, 1,4-butanodiol, 1,5-pentanodiol, 2,4-

pentanodiol, 1,6-hexanodiol, 1,2-hexanodiol, 1,5-hexanodiol, 2,5-hexanodiol, 1,7-heptanodiol, 1,8-octanodiol, 1,2-octanodiol, 1,9-nonanodiol, 1,12-dodecanodiol, trietilenglicol, tetraetilenglicol, 2-(1-aminopropil)-1,3-propanodiol, o 1,2-didesoxirribosa.

5 5. Compuesto IRO para la utilización según la reivindicación 4, en el que el enlazador no nucleotídico que enlaza dichos por lo menos dos oligonucleótidos es el glicerol (1,2,3-propanotriol)

6. Compuesto IRO para la utilización según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en el que el derivado nucleotídico de pirimidina es 2'-desoxitimidina, 1-(2'-desoxi-β-D-ribofuranosilo)-2-oxo-7-deaza-8-metil-purina, 2'-didesoxi-5-halocitosina, 2'-didesoxi-5-nitrocitosina, arabinocitidina, arabinocitidina sustituida en 2'-desoxi-2', arabinocitidina sustituida en 2'-O, 2'-desoxi-5-hidroxicitidina, 2'-desoxi-N4-alkuil-citidina, 2'-desoxi-4-tiouridina.

7. Compuesto IRO para la utilización según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en el que el derivado nucleotídico de purina es 2'-desoxi-7-deazaguanosina, 2'-desoxi-6-tioguanosina, arabinoguanosina, arabinoguanosina sustituida en 2'-desoxi-2', arabinoguanosina sustituida en 2'-O, 2'-desoxiinosina.

8. Compuesto IRO para la utilización según cualquiera de las reivindicaciones 3 a 7, en el que uno de los oligonucleótidos presenta la secuencia seleccionada de entre TCTGACGTTCT (SEC ID n°: 86), TCTGACG₁TTCT (SEC ID n°: 87), TCTGACG₄TTCT (SEC ID n°: 88), TCTCTGACGTT (SEC ID n°: 89), TCTGUCGTTCT (SEC ID n°: 91), TCTGUCG₁TTCT (SEC ID n°: 92), TCTGACG₄TTCT (SEC ID n°: 93), TCTGACG₁TT (SEC ID n°: 94), UGUCG₁TTCT (SEC ID n°: 98) y UGACG₁TTCT (SEC ID n°: 99).

9. Compuesto IRO para la utilización según cualquiera de las reivindicaciones 3 a 8, siendo el compuesto IRO seleccionado de entre

5'-(TCTGACGTTCT)₂X₂ (5'-SEC ID n°: 86-3'-X₂-3'-SEC ID n°: 86-5'),
 5'-(TCTGACG₁TTCT)₂X₂ (5'-SEC ID n°: 87-3'-X₂-3'-SEC ID n°: 87-5'),
 5'-(TCTGACG₄TTCT)₂X₂ (5'-SEC ID n°: 88-3'-X₂-3'-SEC ID n°: 88-5'),
 5'-(TCTCTGACGTT)₂X₂ (5'-SEC ID n°: 89-3'-X₂-3'-SEC ID n°: 89-5'),
 5'-(TCTGUCGTTCT)₂X₂ (5'-SEC ID n°: 91-3'-X₂-3'-SEC ID n°: 91-5'),
 5'-(TCTGUCG₁TTCT)₂X₂ (5'-SEC ID n°: 92-3'-X₂-3'-SEC ID n°: 92-5'),
 5'-(TCTGACG₄TTCT)₂X₂ (5'-SEC ID n°: 93-3'-X₂-3'-SEC ID n°: 93-5'),
 5'-(TCTGACG₁TT)₂X₂ (5'-SEC ID n°: 94-3'-X₂-3'-SEC ID n°: 94-5'),
 5'-(UGUCG₁TTCT)₂X₂ (5'-SEC ID n°: 98-3'-X₂-3'-SEC ID n°: 98-5') y
 5'-(UGACG₁TTCT)₂X₂ (5'-SEC ID n°: 99-3'-X₂-3'-SEC ID n°: 99-5').

10. Compuesto IRO para la utilización según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, en el que el compuesto IRO y el agente antiinflamatorio que inhibe el TNF-α se administran en combinación con una o más vacunas, antígenos, anticuerpos, agentes citotóxicos, alérgenos, antibióticos, oligonucleótidos antisentido, agonistas de TLR, antagonistas de TLR, péptidos, proteínas, vectores de terapia génica, vacunas de ADN, adyuvantes, agentes antivirales o moléculas coestimuladoras.

11. Compuesto IRO para la utilización según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, en el que la ruta de administración del compuesto IRO y el agente antiinflamatorio que inhibe el TNF-α es independientemente parenteral, suministro por la mucosa, oral, sublingual, transdérmica, tópica, inhalación, intranasal, aerosol, intraocular, intratraqueal, intrarrectal, vaginal, mediante pistola génica, parche dérmico o en forma de colirio o colutorio.

12. Compuesto IRO para la utilización según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, en el que el agente antiinflamatorio que inhibe el TNF-α es etanercept, infliximab o adalimumab.

13. Compuesto IRO para la utilización según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, en el que la enfermedad que presenta un componente autoinmunitario o inflamatorio es artritis reumatoide, artritis de psoriasis, psoriasis, uveítis, espondilitis anquilosante, enfermedad de Crohn, sarcoidosis, colitis o cáncer.

FIG. 1

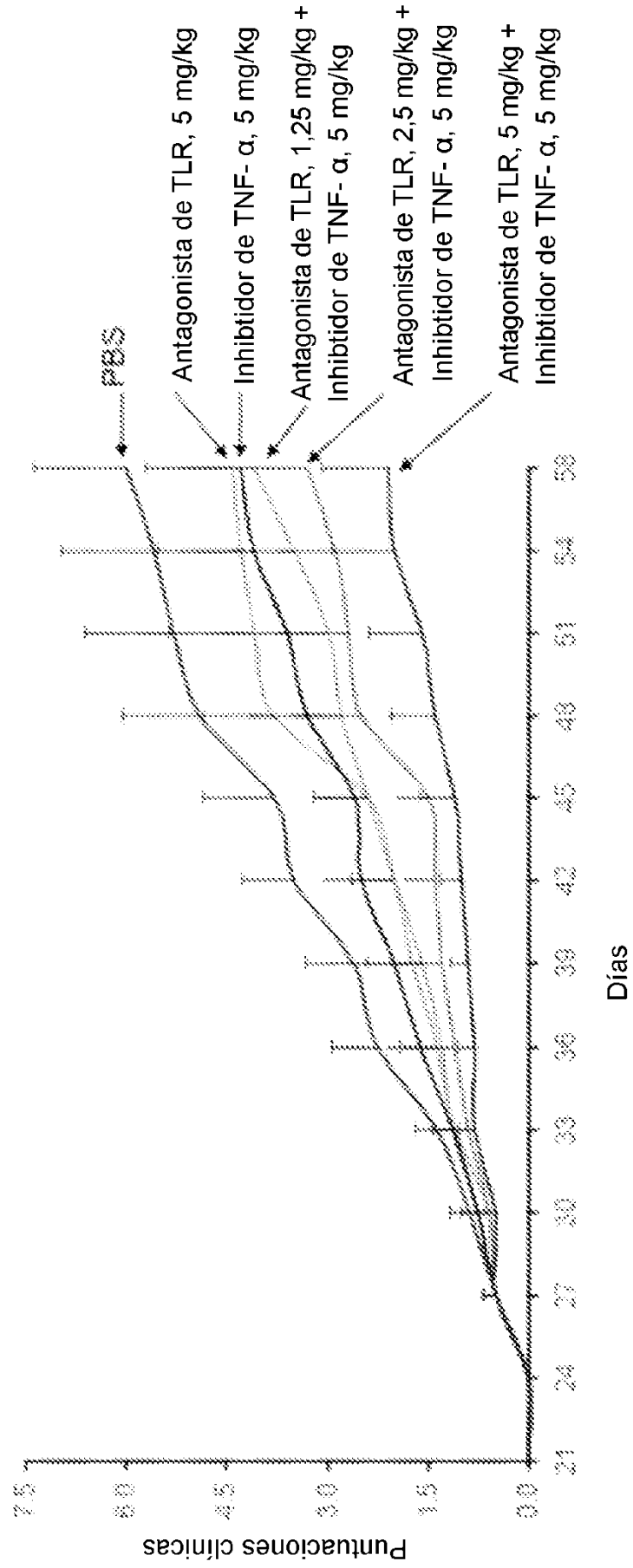


FIG. 2

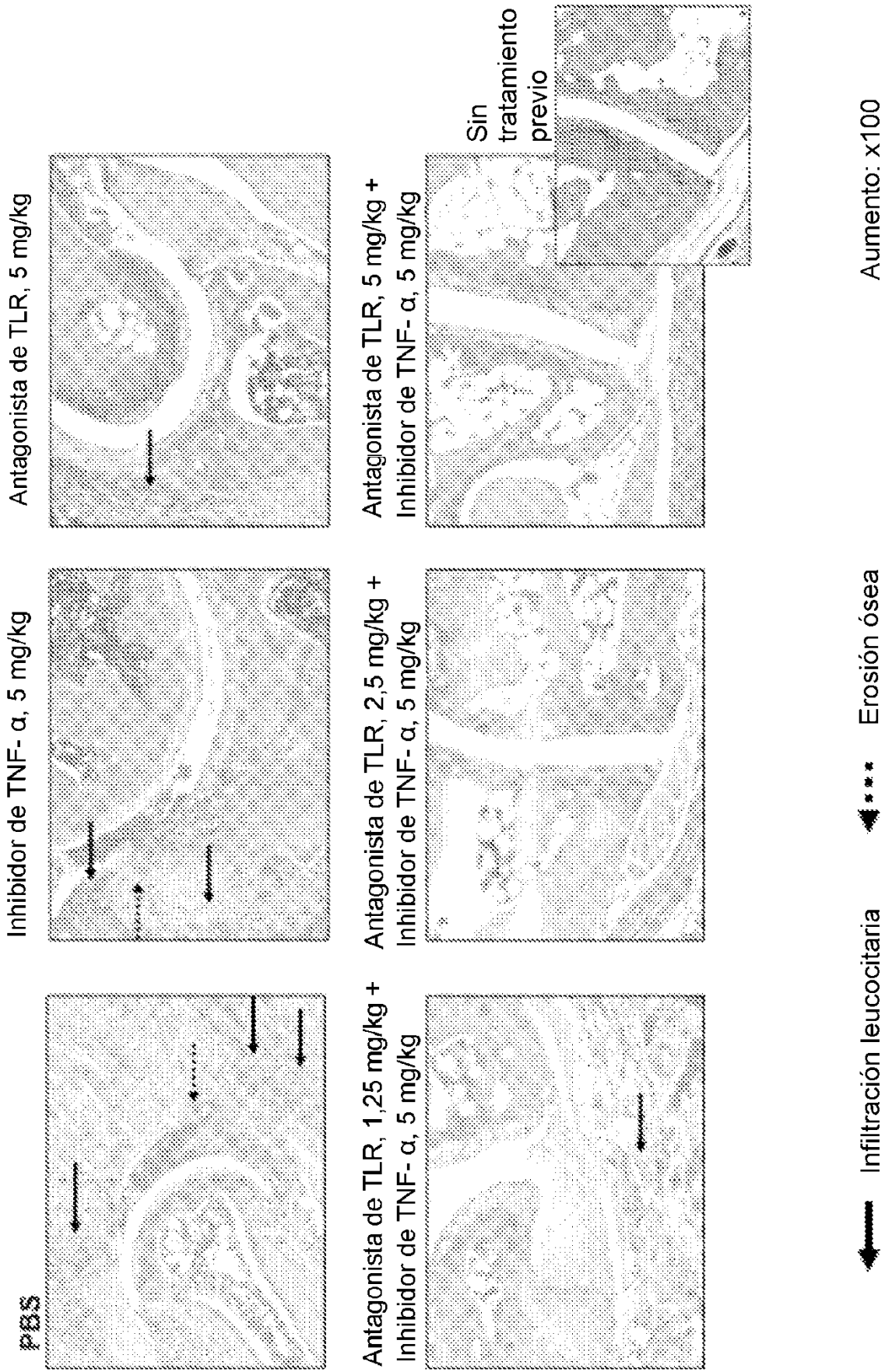


FIG. 3

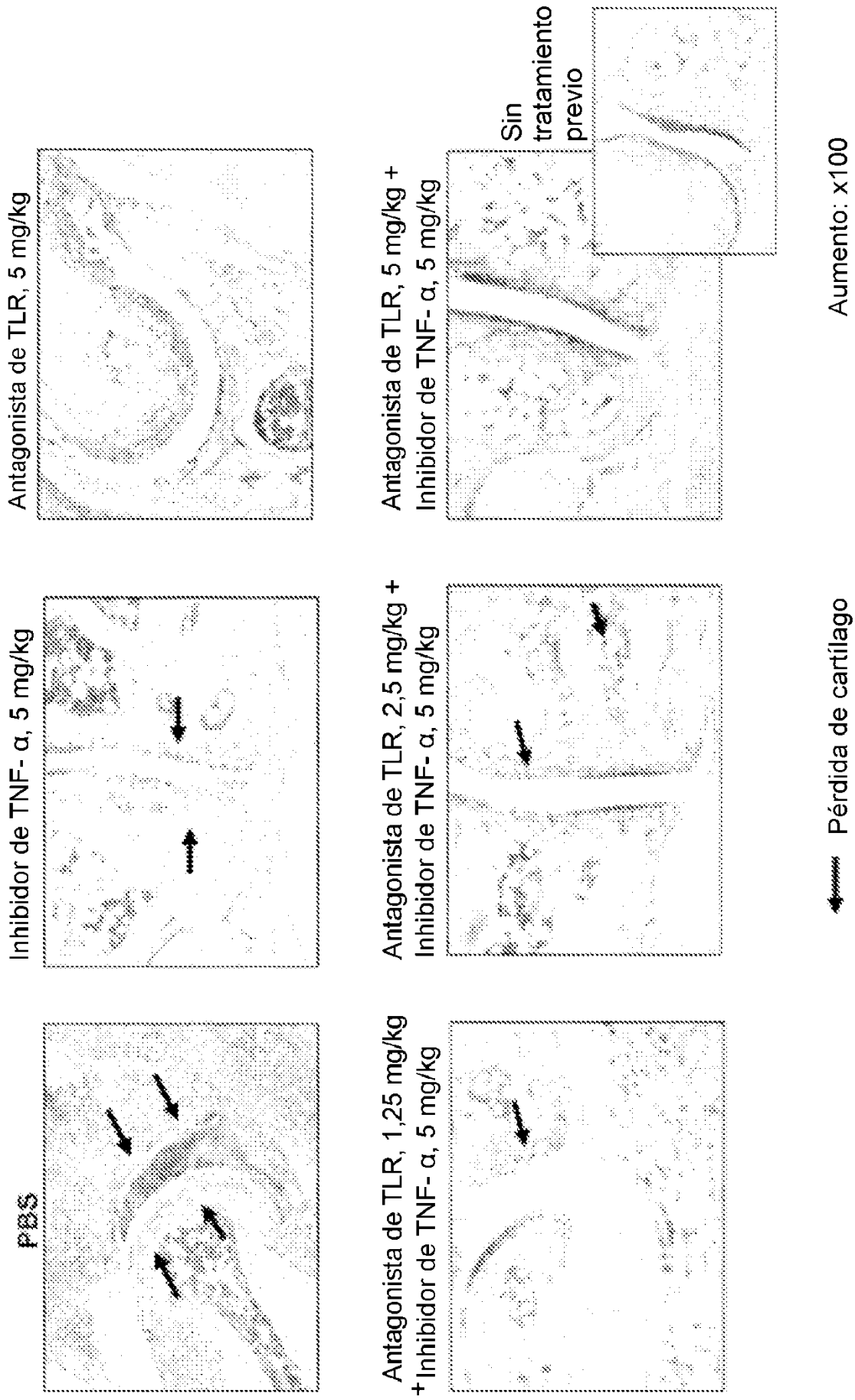


FIG. 4

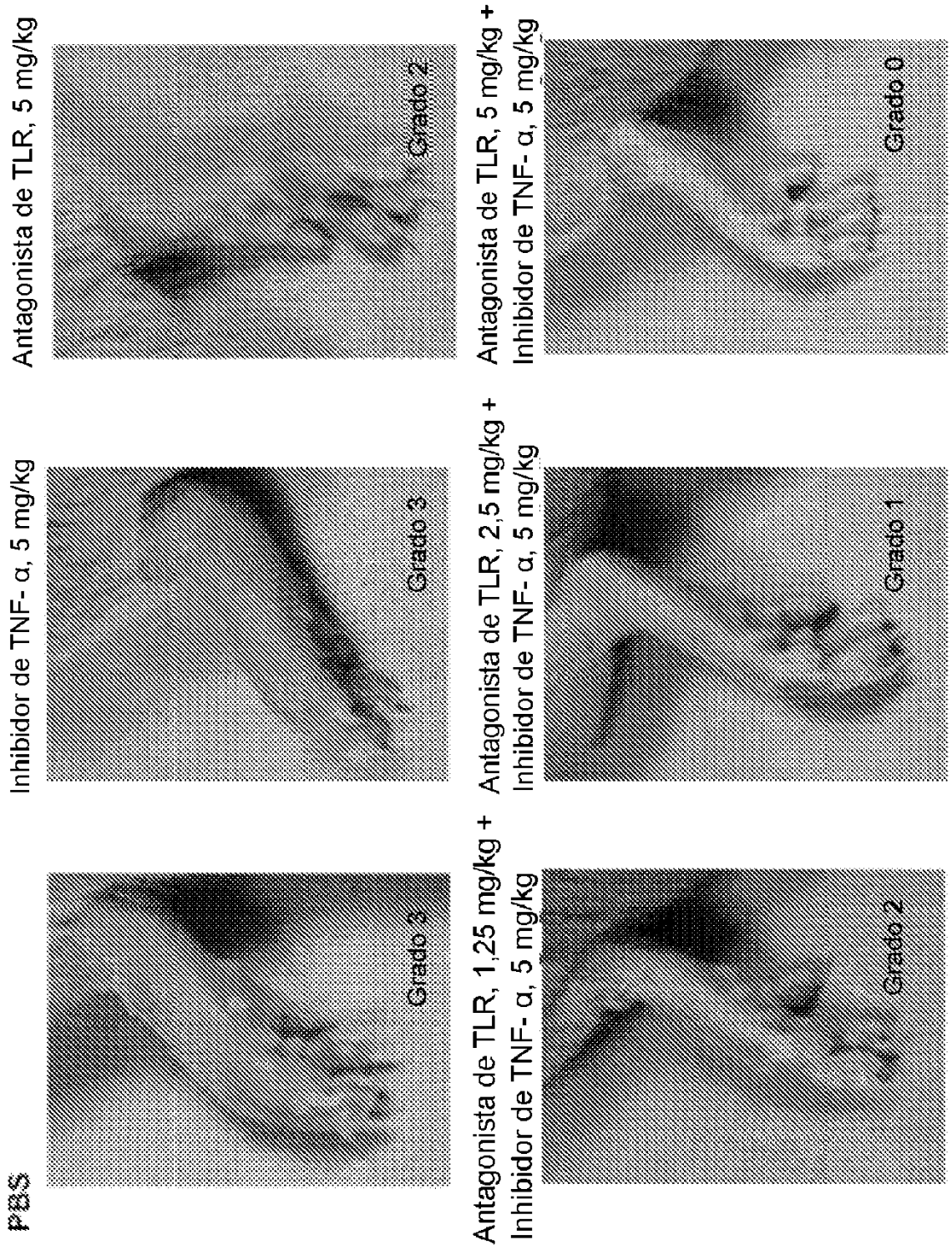


FIG. 5

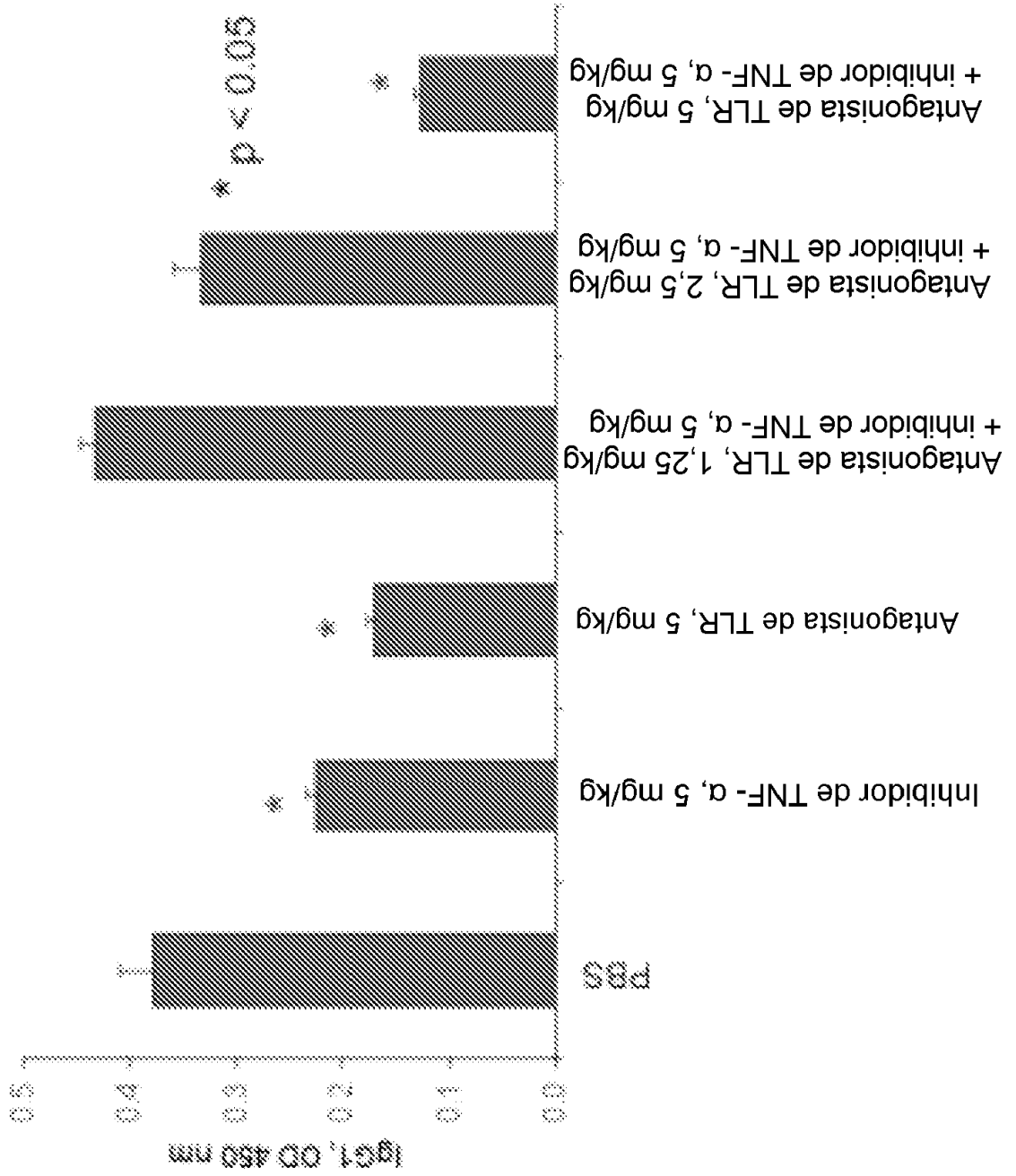


FIG. 6

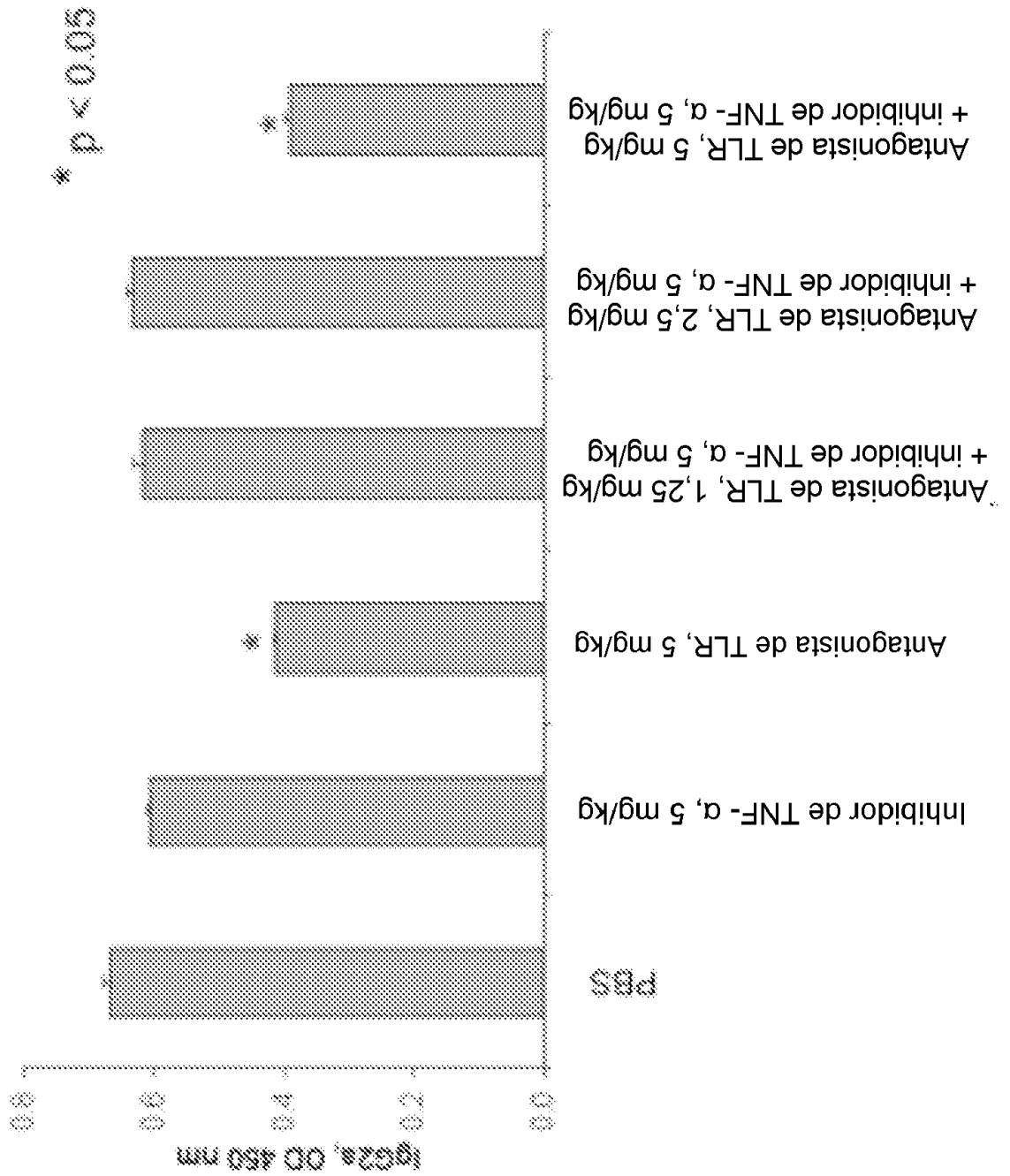


FIG. 7

