

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 734 023**

51 Int. Cl.:

<b>A61K 9/19</b>	(2006.01)
<b>A61K 45/06</b>	(2006.01)
<b>A61K 31/675</b>	(2006.01)
<b>A61K 31/69</b>	(2006.01)
<b>A61P 35/00</b>	(2006.01)
<b>A61P 37/02</b>	(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **27.02.2014 PCT/US2014/019137**

87 Fecha y número de publicación internacional: **04.09.2014 WO14134355**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **27.02.2014 E 14710728 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **24.04.2019 EP 2961388**

54 Título: **Combinaciones de fármacos**

30 Prioridad:

**01.03.2013 US 201361771525 P**  
**04.10.2013 US 201361887165 P**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**03.12.2019**

73 Titular/es:

**ASTEX PHARMACEUTICALS, INC. (100.0%)**  
**4420 Rosewood Drive, Suite 200**  
**Pleasanton, CA 94588, US**

72 Inventor/es:

**AZAB, MOHAMMAD;**  
**TAVERNA, PIETRO;**  
**COVRE, ALESSIA y**  
**CORAL, SANDRA**

74 Agente/Representante:

**ISERN JARA, Jorge**

ES 2 734 023 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

Combinaciones de fármacos

## 5 Antecedentes

La modificación epigenética del genoma, y en particular la metilación de ADN, desempeña una función importante en los tumores malignos humanos influyendo en vías celulares cruciales en el inicio y la progresión del cáncer (incluyendo control del ciclo celular, apoptosis, potencial invasivo y metastásico y angiogénesis). La metilación de ADN está mediada por la enzima ADN metiltransferasa, y da como resultado la adición de un grupo metilo a una citosina cuando la citosina ocurre en el contexto de un dinucleótido CpG.

La metilación de ADN de islas de CpG asociadas a promotor da como resultado el silenciamiento del gen correspondiente - en general, islas de CpG asociadas a promotor no están metiladas en células no malignas. La hipermetilación aberrante de ADN en células tumorales es, por tanto, un equivalente funcional a la inactivación de genes supresores de tumor por mutación, y así promueve el escape del tumor del reconocimiento inmunitario del hospedador mediante la regulación por disminución de diversos componentes del complejo de reconocimiento tumoral en células neoplásicas (que incluyen antígeno de la clase I de HLA, antígenos de CTA y moléculas accesorias/coestimulantes). Esto da como resultado una reducción en la eficacia clínica de los enfoques inmunoterapéuticos para el tratamiento del cáncer.

Los agentes hipometilantes de ADN (DHAs) inducen la hipometilación de ADN global y específica de gen. Esto promueve la re-expresión de antígenos asociados a tumor y así refuerza el reconocimiento inmunitario. Los ejemplos incluyen 5-azacitidina, 5-aza-2'-desoxicitidina (decitabina) y zebularina: 5-azacitidina y 5-aza-2'-desoxicitidina están actualmente autorizados por la Administración Estadounidense de Medicamentos y Alimentos para el tratamiento de pacientes con síndromes mielodisplásicos, y la decitabina está siendo actualmente desarrollada como un fármaco para el tratamiento de leucemia mielógena crónica (LMC), síndrome mielodisplásico (SMD), cáncer de pulmón de células no pequeñas (CPSNP), anemia de células falciformes y leucemia mielógena aguda (LMA).

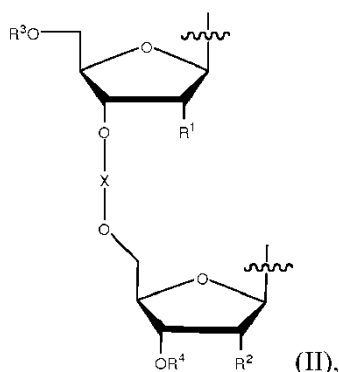
## 30 Sumario de la invención

En algunas realizaciones, la invención proporciona una combinación que comprende los siguientes componentes separados:

35 (i) un compuesto de fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo:



40 en donde L es un conector que contiene fósforo de la fórmula (II):

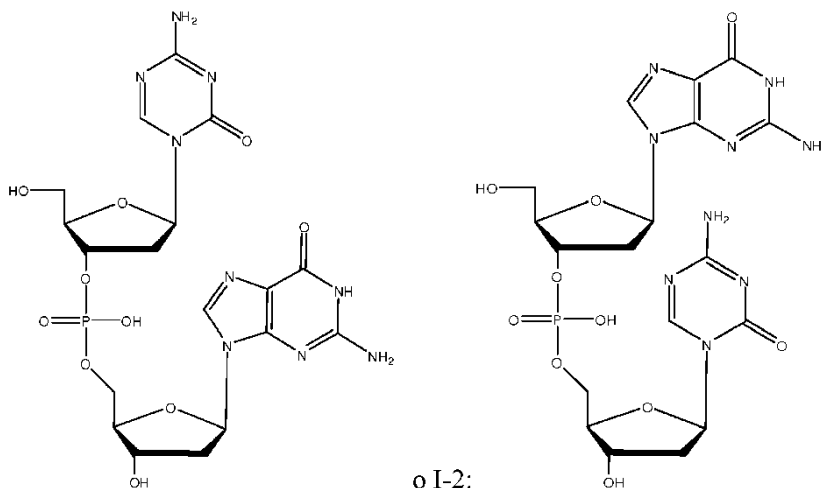


45 en donde  $R^1$  y  $R^2$  son independientemente H, OH, un grupo alcoxi, un grupo alcoxialcoxi, un grupo aciloxi, un grupo carbonato, un grupo carbamato o un halógeno;  $R^3$  es H, o  $R^3$  junto con el átomo de oxígeno al que se une  $R^3$  forma un éter, un éster, un carbonato o un carbamato;  $R^4$  es H, o  $R^4$  junto con el átomo de oxígeno al que se une  $R^4$  forma un éter, un éster, un carbonato o un carbamato; y X junto con los átomos de oxígeno a los que se une X forma un fosfodiéster, un diéster de fosforotioato, un diéster de boranofosfato o un diéster de metilfosfonato; y

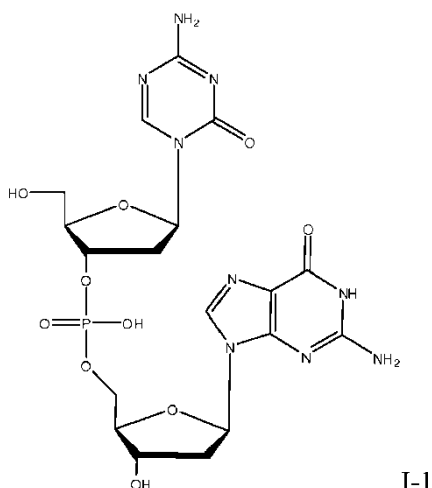
50 (ii) uno o más componente(s) terapéutico(s) complementario(s), en donde dicho componente terapéutico complementario es un agente de activación de linfocitos T; en donde dicho compuesto de fórmula I, o su sal farmacéuticamente aceptable, es para administración antes de dicho componente terapéutico complementario.

En algunas realizaciones, R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> son independientemente H, OH, OMe, OEt, OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OMe, OBn o F, y X junto con los átomos de oxígeno a los que se une X forman un fosfodiéster. En algunas realizaciones, R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> son H.

5 En algunas realizaciones, el compuesto de fórmula I es uno cualquiera de I-(1-44). En algunas realizaciones, el compuesto de fórmula I es:



10 En algunas realizaciones, el compuesto de fórmula I es de la fórmula:



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En algunas realizaciones, la sal es una sal de sodio.

15 El compuesto o su sal pueden estar en forma de una formulación, por ejemplo que disuelve en un disolvente sustancialmente anhidro que comprende 45 % a 85 % de propilenglicol; 5 % a 45 % de glicerina; y 0 % a 30 % de etanol. En dichas realizaciones, dicho disolvente puede comprender 65 % a 70 % de propilenglicol; 25 % a 30 % de glicerina y 0 % a 10 % de etanol, por ejemplo: (a) 65 % a 70 % de propilenglicol y 25 % a 30 % de glicerina, siendo el resto etanol; (b) 65 % de propilenglicol; 25 % de glicerina; y 10 % de etanol; (c) 65 % de propilenglicol; 25 % de glicerina; y 10 % de etanol; (d) 70 % de propilenglicol y 30 % de glicerina, estando ausente el etanol; (e) 45 % a 85 % de propilenglicol; 5 % a 45 % de glicerina; y 0 % a 30 % de etanol; (f) 65 % a 70 % de propilenglicol; 25 % a 30 % de glicerina y 0 % a 10 % de etanol. La formulación puede comprender además DMSO, opcionalmente a una relación DMSO:compuesto de 2:1; 1:1; 0,5:1; 0,3:1 o 0,2-0,3:1. La combinación puede ser adecuada para administración por inyección subcutánea.

25 Cuando se presenta como parte de una formulación, el compuesto puede estar presente a una concentración de 80 mg/mL a 110 mg/mL, opcionalmente 100 mg/mL.

30 En algunas realizaciones, la invención proporciona un kit que comprende:

- (a) un primer recipiente que contiene el compuesto o su sal como se describe en el presente documento;
- (b) un segundo recipiente que contiene un disolvente sustancialmente anhidro como se describe en el presente documento; y

(c) uno o más componente(s) terapéutico(s) complementario(s) como se describen en el presente documento.

El compuesto puede estar presente en el kit en forma de un polvo sustancialmente anhidro, por ejemplo que está liofilizado. En algunas realizaciones, el primer recipiente puede contener 80 mg a 110 mg de dicho compuesto, por ejemplo 100 mg de dicho compuesto, y puede comprender además instrucciones para administración por inyección subcutánea.

También se describe en el presente documento un proceso de preparación de una composición farmacéutica, comprendiendo el proceso disolver un compuesto o su sal como se ha definido anteriormente en un disolvente sustancialmente anhidro como también se ha definido anteriormente, y luego combinar el compuesto disuelto con uno o más componente(s) terapéutico(s) complementario(s) como también se han definido anteriormente. También se describe en el presente documento un proceso que comprende además las etapas preliminares de:

- (a) disolver dicho compuesto en DMSO para producir una solución de dicho compuesto en DMSO; y
- (b) liofilizar dicha solución de la etapa (a) para proporcionar dicho compuesto como un polvo sustancialmente anhidro.

También se describe en el presente documento un proceso de producción de una composición farmacéutica que comprende un compuesto o su sal como se han definido anteriormente en forma de un polvo sustancialmente anhidro, comprendiendo el proceso disolver dicho compuesto en DMSO para producir una solución en DMSO, liofilizar dicha solución para proporcionar dicho compuesto como un polvo sustancialmente anhidro y luego combinar el polvo con uno o más componente(s) terapéutico(s) complementario(s). Descrito en el presente documento, dicho polvo sustancialmente anhidro comprende DMSO residual, por ejemplo: (a) presente en una cantidad de  $\leq 2000$ , o aproximadamente 0,1 a aproximadamente 2000 mg/g de dicho compuesto; o (b) presente en una cantidad de  $\leq 1000$ , o aproximadamente 0,1 a aproximadamente 1000 mg/g;  $\leq 600$ , o aproximadamente 0,1 a aproximadamente 600 mg/g;  $\leq 500$ , o aproximadamente 0,1 a aproximadamente 500 mg/g;  $\leq 400$ , o aproximadamente 0,1 a aproximadamente 400 mg/g;  $\leq 300$ , o aproximadamente 0,1 a aproximadamente 300 mg/g; o aproximadamente 200 - aproximadamente 300 mg/g de dicho compuesto; o (c) presente en una cantidad de 200-300 mg/g de dicho compuesto.

También se describe en el presente documento un polvo sustancialmente anhidro que consiste esencialmente en un compuesto o su sal como se han definido anteriormente y DMSO, estando el DMSO presente en una cantidad de  $\leq 200$ , o aproximadamente 0,1 % a aproximadamente 200 % p/p, en combinación con uno o más componente(s) terapéutico(s) complementario(s) como se han definido anteriormente. Descrito en el presente documento, el DMSO está presente en una cantidad de  $\leq 100$  %, o aproximadamente 0,1 % a aproximadamente 100 %,  $\leq 60$  %, o aproximadamente 0,1 % a aproximadamente 60 %,  $\leq 50$  %, o aproximadamente 0,1 % a aproximadamente 50 %,  $\leq 40$  %, o aproximadamente 0,1 % a aproximadamente 40 %, o  $\leq 30$  %, o aproximadamente 0,1 % a aproximadamente 30 % p/p de DMSO/compuesto, por ejemplo en una cantidad de aproximadamente 20 - aproximadamente 30 % p/p de DMSO/compuesto.

También se describe una composición farmacéutica obtenible por, u obtenida por, los procesos de la invención.

En algunas realizaciones, el componente terapéutico complementario comprende un agente de activación de linfocitos T.

En algunas realizaciones, el componente terapéutico complementario comprende una vacuna contra el cáncer.

En algunas realizaciones, el componente terapéutico complementario comprende un adyuvante.

En algunas realizaciones, el componente terapéutico complementario comprende un agente de activación de linfocitos T y una vacuna contra el cáncer.

En algunas realizaciones, el componente terapéutico complementario comprende un agente de activación de linfocitos T, que se selecciona, por ejemplo, de agonistas o anticuerpos para: ICOS, GITR, MHC, CD80, CD86, galectina 9 y LAG-3.

En otras realizaciones, el agente de activación de linfocitos T es un anticuerpo, que se selecciona, por ejemplo, de: (a) un antagonista de CD137; (b) un antagonista de CD40; (c) un agonista de OX40; (d) un mAb PD-1; (e) un mAb PD-L1; (f) un mAb PD-L2; (g) un mAb CTLA-4; y (h) combinaciones de (a)-(g).

En algunas realizaciones, el componente terapéutico complementario es Tremelimumab o Ipilimumab.

En algunas realizaciones, el componente terapéutico complementario comprende una vacuna contra el cáncer de CTA, que se basa, por ejemplo, en un antígeno CTA seleccionado de: NY-ESO-1, LAGE-1, MAGE-A1, -A2, -A3, -A4, -A6, -A10, -A12, CT7, CT10, GAGE1-6, GAGE 1-2, BAGE, SSX1-5, SSX 2, HAGE, PRAME, RAGE-1, XAGE-1, MUC2, MUC5B, B7, 1/2, CD28, B7-H1, HLA, CD40L y HMW-MAA, por ejemplo basada en MAGE-A3 (por ejemplo,

recMAGE-A3), NY-ESO-1 y PRAME.

En algunas realizaciones, el componente terapéutico complementario comprende un inhibidor deIDO, por ejemplo, seleccionado de INCB24360, 1-metilriptófano y NLG919.

5 En algunas realizaciones, la invención proporciona una combinación o kit como se describen en el presente documento para su uso en el tratamiento de una enfermedad seleccionada de:

- 10 (a) un síndrome mielodisplásico (SMD);  
 (b) un cáncer;  
 (c) un trastorno hematológico; o  
 (d) una enfermedad asociada a la síntesis anormal de hemoglobina,

15 en donde el compuesto de fórmula I o su sal se administran primero (como una terapia de sensibilización), seguido por administración del (de los) componente(s) terapéutico(s) complementario(s).

El SMD se puede seleccionar de SMD de riesgo bajo, medio y alto, y neoplasias mieloproliferativas.

20 El trastorno hematológico puede ser leucemia, por ejemplo, seleccionada de: leucemia mieloide aguda (LMA), leucemia promielocítica aguda, leucemia linfoblástica aguda y leucemia mielógena crónica. En algunas realizaciones, la LMA se puede seleccionar de AML en ancianos, LMA en primera recaída y LMA en segunda recaída.

25 El cáncer se pueden seleccionar de cáncer de mama, cáncer de piel, cáncer de huesos, cáncer de próstata, cáncer de hígado, cáncer de pulmón, cáncer de pulmón de células no pequeñas, adenocarcinoma de pulmón de células no pequeñas escamosas, cáncer cerebral, cáncer de laringe, vesícula biliar, páncreas, recto, paratiroides, tiroides, suprarrenal, tejido neural, cabeza y cuello, colon, estómago, bronquios, y cáncer de riñón, carcinoma de células basales, carcinoma de células escamosas de tanto tipo ulcerante como papilar, carcinoma metastásico de la piel, osteosarcoma, sarcoma de Ewing, sarcoma de células del retículo, mieloma, tumor de células gigantes, tumor de pulmón de células pequeñas, tumor de células de los islotes, tumor cerebral primario, tumores agudos y crónicos linfocíticos y granulocíticos, tumor de tricoleucocitos, adenoma, hiperplasia, carcinoma medular, feocromocitoma, neuroma mucoso, ganglioneuromas intestinales, tumor nervioso hiperplásico de la córnea, tumor de hábito marfanóide, tumor de Wilms, seminoma, tumor de ovario, cáncer de ovario resistente a platino, tumor leiomiomatoso, displasia cervical y carcinoma *in situ*, neuroblastoma, retinoblastoma, sarcoma de tejido blando, carcinoide maligno, micosis fungoide, rhabdomyosarcoma, sarcoma de Kaposi, sarcoma osteogénico, hipercalcemia maligna, tumor de células renales, policitemia vera, adenocarcinoma, glioblastoma multiforme, leucemia, linfoma, melanoma, carcinoma epidermoide, carcinoma hepatocelular y un tumor sólido.

40 En algunas realizaciones, el cáncer se selecciona de cáncer pancreático, cáncer de ovario, melanoma y cáncer de pulmón.

En algunas realizaciones, la enfermedad asociada a la síntesis anormal de hemoglobina se selecciona de anemia de células falciformes y  $\beta$ -talasemia.

45 En algunas realizaciones, la invención proporciona la combinación, kit, proceso, polvo o composición como se define en las reivindicaciones adjuntas a la presente o como se describen en el presente documento para su uso en terapia o profilaxis, por ejemplo para su uso en inmunoterapia o para tratar una enfermedad como se define en las reivindicaciones adjuntas a la presente y descrita anteriormente o en el presente documento.

50 En algunas realizaciones, la invención proporciona el uso de la combinación, kit, proceso, polvo o composición como se define en las reivindicaciones adjuntas a la presente o como se describen en el presente documento para la fabricación de un medicamento para su uso en inmunoterapia o en un método de tratamiento de una enfermedad en las reivindicaciones adjuntas a la presente y descrita anteriormente o en el presente documento.

55 La combinación, kit, proceso, polvo o composición de la invención se pueden administrar a un sujeto según una pauta posológica de: (a) una vez, dos veces, tres veces, cuatro veces, cinco veces, seis veces o siete veces a la semana; o (b) cada día durante 5, 6, 7, 8, 9 o 10 días; o (c) cada día durante hasta 10 días; o (d) cada día durante entre 5 y 10 días; o (e) cada día durante 5 días, inmediatamente seguido por dos días libres de dosis y luego cada día durante los siguientes 5 días. La administración puede ser subcutánea.

60 Breve descripción de los dibujos

La FIGURA 1 ilustra las concentraciones plasmáticas medias del compuesto I-1 en monos cinomolgos macho y hembra administrados semanalmente con dosis subcutáneas del compuesto I-1 en un estudio farmacocinético.

65 La FIGURA 2 ilustra las concentraciones plasmáticas medias de decitabina en monos cinomolgos macho y hembra administrados semanalmente con dosis subcutáneas de decitabina en un estudio farmacocinético.

La FIGURA 3 ilustra la disminución en los niveles de metilación de LINE1 observada en muestras de sangre extraídas de monos cinomolgos en diversos días (D) después del ensayo previo.

La FIGURA 4 ilustra el cambio en las sustancias relacionadas totales de la sal de sodio de un compuesto de fórmula I-1 en diversas composiciones de DMSO y DMSO/agua.

La FIGURA 5 ilustra el efecto antitumoral de SGI-110 en combinación con anti-CTLA-4 de ratón.

La FIGURA 6 ilustra el efecto antitumoral de dos ciclos de administración secuencial de SGI-110 seguido por el mAb anti-CTLA-4 de ratón 9H10.

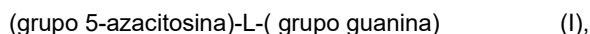
Descripción detallada de la invención

Las combinaciones de la presente invención activan la expresión de, o regulan fuertemente por incremento, niveles constitutivos de la expresión de, componentes del complejo de reconocimiento tumoral en células neoplásicas de diversos histotipos. Por tanto, se pueden usar como agentes inmunomoduladores para aumentar la inmunogenicidad y el reconocimiento inmunitario de células neoplásicas. Esto, a su vez, debe permitir los mejores resultados terapéuticos en términos de control y regresión del tumor, prolongar la progresión sin enfermedad y mejorar la supervivencia global.

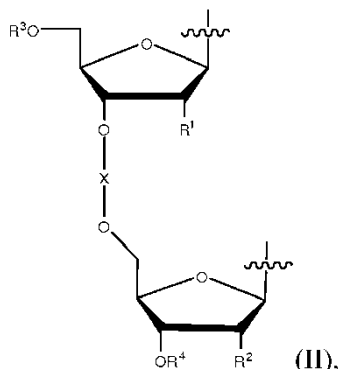
Los DHAs de segunda generación derivados de decitabina, que incluyen el agente hipometilante de ADN del compuesto I-1 (un dinucleótido de 5-aza-2'-desoxicitidina y desoxiguanosina), se describen en el documento de patente WO2007/041071.

Compuestos de la fórmula I para su uso en las combinaciones de la invención

En algunas realizaciones, la invención proporciona combinaciones que comprenden un compuesto de la fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo:



en donde L es un conector que contiene fósforo de la fórmula II.



en donde R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> son independientemente H, OH, un grupo alcoxi, un grupo alcoxialcoxi, un grupo aciloxi, un grupo carbonato, un grupo carbamato, o un halógeno; R<sup>3</sup> es H, o R<sup>3</sup> junto con el átomo de oxígeno al que se une R<sup>3</sup> forma un éter, un éster, un carbonato o un carbamato; R<sup>4</sup> es H, o R<sup>4</sup> junto con el átomo de oxígeno al que se une R<sup>4</sup> forma un éter, un éster, un carbonato o un carbamato; y X junto con los átomos de oxígeno a los que se une X forma un fosfodiéster, un diéster de fosforotioato, un diéster de boranofosfato o un diéster de metilfosfonato.

El grupo 5-azacitosina se puede unir a cualquier extremo de L, y el grupo guanina se puede unir al otro extremo de L, en tanto que el compuesto contenga un grupo 5-azacitosina y un grupo guanina. Así se pueden preparar isómeros constitucionales intercambiando la conectividad del grupo 5-azacitosina y el grupo guanina.

R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> pueden ser iguales o diferentes. En algunas realizaciones, R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> son independientemente H, OH, OMe, OEt, OPh, OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OMe, OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OEt, OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OBn, OBn, OAc, OBz, OCOOMe, OCOOEt, OCOOBn, OCONH<sub>2</sub>, OCONMe<sub>2</sub>, OCONEt<sub>2</sub>, OCONBn<sub>2</sub>, OCONHMe, OCONHEt, OCONHBn, F, Cl, Br o I. En algunas realizaciones, R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> son independientemente H, OH, OMe, OEt, OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OMe, OBn o F. En algunas realizaciones, R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> son independientemente H u OH. En algunas realizaciones, R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> son H. En algunas realizaciones, R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> son OH.

R<sup>3</sup> y R<sup>4</sup> pueden ser iguales o diferentes.

En algunas realizaciones, R<sup>3</sup> es H, o R<sup>3</sup> junto con el átomo de oxígeno al que se une R<sup>3</sup> forma OH, OMe, OEt, OPh, OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OMe, OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OEt, OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OBn, OBn, OAc, OBz, OCOOMe, OCOOEt, OCOOBn, OCONH<sub>2</sub>, OCONMe<sub>2</sub>, OCONEt<sub>2</sub>, OCONBn<sub>2</sub>, OCONHMe, OCONHEt o OCONHBn. En algunas realizaciones, R<sup>3</sup> es H, o R<sup>3</sup>

junto con el átomo de oxígeno al que se une  $R^3$  forma OH, OMe, OEt,  $OCH_2CH_2OMe$  o OBn. En algunas realizaciones,  $R^3$  es H.

5 En algunas realizaciones,  $R^4$  es H, o  $R^4$  junto con el átomo de oxígeno al que se une  $R^4$  forma OH, OMe, OEt, OPh,  $OCH_2CH_2OMe$ ,  $OCH_2CH_2OEt$ ,  $OCH_2CH_2OBn$ , OBn, OAc, OBz,  $OCOOMe$ ,  $OCOOEt$ ,  $OCOOBn$ ,  $OCONH_2$ ,  $OCONMe_2$ ,  $OCONEt_2$ ,  $OCONBn_2$ ,  $OCONHMe$ ,  $OCONHEt$  o  $OCONHBn$ . En algunas realizaciones,  $R^4$  es H, o  $R^4$  junto con el átomo de oxígeno al que se une  $R^4$  forma OH, OMe, OEt,  $OCH_2CH_2OMe$  o OBn. En algunas realizaciones,  $R^4$  es H.

10 En algunas realizaciones, X es  $P(O)OH$ ,  $P(O)SH$ ,  $P(\rightarrow O)BH_3^-$ , o  $P(O)Me$ . En algunas realizaciones, X es  $P(O)OH$ . En algunas realizaciones, X junto con los átomos de oxígeno a los que se une X forma un fosfodiéster.

15 Los ejemplos no limitantes de alquilo incluyen grupos alquilo lineales, ramificados y cíclicos. Los ejemplos no limitantes de grupos alquilo lineales incluyen metilo, etilo, propilo, butilo, pentilo, hexilo, heptilo, octilo, nonilo y decilo.

Los grupos alquilo ramificados incluyen cualquier grupo alquilo lineal sustituido con cualquier número de grupos alquilo. Los ejemplos no limitantes de grupos alquilo ramificados incluyen isopropilo, isobutilo, sec-butilo y t-butilo.

20 Los ejemplos no limitantes de grupos alquilo cíclicos incluyen grupos ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, cicloheptilo y ciclooctilo. Los grupos alquilo cíclicos también incluyen bicíclos condensados, unidos por puentes y espiro-bicíclos y sistemas superiores condensados, unidos por puentes y espiro-sistemas. Un grupo alquilo cíclico se pueden sustituir con cualquier número de grupos alquilo lineales o ramificados.

25 Un grupo halo-alquilo puede ser cualquier grupo alquilo sustituido con cualquier número de átomos de halógeno, por ejemplo, átomos de flúor, cloro, bromo y yodo.

30 Un grupo alcoxi puede ser, por ejemplo, un átomo de oxígeno sustituido con cualquier grupo alquilo. Un grupo éter o éter comprende un grupo alcoxi. Los ejemplos no limitantes de grupos alcoxi incluyen metoxi, etoxi, propoxi, isopropoxi e isobutoxi.

Un grupo alcoxialcoxi puede ser, por ejemplo, un grupo alcoxi sustituido en cualquier posición con cualquier grupo alcoxi. Los ejemplos no limitantes de grupos alcoxialcoxi incluyen metoxietoxi, etoxietoxi, etoxietoxietoxi, grupos derivados de cualquier orden de glima, y grupos derivados de polietilenglicol.

35 Un grupo arilo puede ser heterocíclico o no heterocíclico. Un grupo arilo puede ser monocíclico o policíclico. Un grupo arilo se puede sustituir con cualquier número de grupos hidrocarbilo, grupos alquilo y átomos de halógeno. Los ejemplos no limitantes de grupos arilo incluyen fenilo, toluílo, naftilo, pirrolilo, piridilo, imidazolilo, tiofenilo y furilo.

40 Un grupo ariloxi puede ser, por ejemplo, un átomo de oxígeno sustituido con cualquier grupo arilo, tal como fenoxi.

Un grupo aralquilo puede ser, por ejemplo, cualquier grupo alquilo sustituido con cualquier grupo arilo, tal como bencilo.

45 Un grupo arilalcoxi puede ser, por ejemplo, un átomo de oxígeno sustituido con cualquier grupo aralquilo, tal como benciloxi.

50 Un heterociclo puede ser cualquier anillo que contiene un átomo que no es carbono. Un heterociclo puede estar sustituido con cualquier número de grupos alquilo y átomos de halógeno. Los ejemplos no limitantes de heterocíclos incluyen pirrol, pirrolidina, piridina, piperidina, succinamida, maleimida, morfolina, imidazol, tiofeno, furano, tetrahidrofurano, pirano y tetrahidropirano.

55 Un grupo acilo puede ser, por ejemplo, un grupo carbonilo sustituido con hidrocarbilo, alquilo, hidrocarbilo, alcoxi, arilo, ariloxi, aralquilo, arilalcoxi, o un heterociclo. Los ejemplos no limitantes de acilo incluyen acetilo, benzoilo, benciloxicarbonilo, fenoxicarbonilo, metoxicarbonilo y etoxicarbonilo.

Un grupo aciloxi puede ser un átomo de oxígeno sustituido con un grupo acilo. Un grupo éster o éster comprende un grupo aciloxi.

60 Un grupo carbonato puede ser un átomo de oxígeno sustituido con hidrocarbilo, alcoxi, arilalcoxi, ariloxi, aralquilo, arilalcoxi, o un heterociclo. Los ejemplos no limitantes de carbonato incluyen acetato, benzoato, benciloxicarbonato, fenoxicarbonato, metoxicarbonato y etoxicarbonato.

65 Un grupo carbamato puede ser un átomo de oxígeno sustituido con un grupo carbamoilo, en donde el átomo de nitrógeno del grupo carbamoilo está sustituido, monosustituido, o disustituido con uno o más de hidrocarbilo, alquilo, arilo, heterocíclico o aralquilo. Cuando el átomo de nitrógeno está disustituido, los dos sustituyentes junto con el átomo de nitrógeno pueden formar un heterociclo.

Cualquier grupo funcional de un compuesto descrito en el presente documento puede estar opcionalmente terminado con un grupo de terminación. Para ejemplos de grupos de terminación véanse GREENE'S PROTECTIVE GROUPS IN ORGANIC SYNTHESIS, 4ª Ed. (Wiley 2006) (1980) y PROTECTING GROUPS, 3ª Ed. (Thieme 2005) (1994).

5 Los ejemplos no limitantes de grupos de terminación adecuados para un grupo hidroxilo incluyen grupos alquilo, haloalquilo, arilo, aralquilo, carbonato, carbamato y acilo.

10 Los ejemplos no limitantes de grupos de terminación adecuados para funcionalidades de nitrógeno incluyen alquilo, arilo, aralquilo, un grupo acilo, un grupo alcoxicarbonilo, un grupo ariloxicarbonilo y un grupo aminocarbonilo. Un grupo de terminación junto con el átomo de nitrógeno al que está unido el grupo de terminación pueden formar, por ejemplo, una amida, un carbamato, un uretano, un heterociclo o una amina. Dos grupos de terminación unidos al mismo átomo de nitrógeno pueden formar junto con el átomo de nitrógeno un heterociclo.

15 La invención proporciona sales farmacéuticamente aceptables de cualquier compuesto descrito en el presente documento. Las sales farmacéuticamente aceptables incluyen, por ejemplo, sales de adición de ácido y sales de adición de base. El ácido que se añade a un compuesto para formar una sal de adición de ácido puede ser un ácido orgánico o un ácido inorgánico. Una base que se añade a un compuesto para formar una sal de adición de base puede ser una base orgánica o una base inorgánica. En algunas realizaciones, una sal farmacéuticamente aceptable es una sal metálica. En algunas realizaciones, una sal farmacéuticamente aceptable es una sal de amonio.

20 Las sales de adición de ácido pueden surgir de la adición de un ácido a un compuesto descrito en el presente documento. En algunas realizaciones, el ácido es orgánico. En algunas realizaciones, el ácido es inorgánico. Los ejemplos no limitantes de ácidos adecuados incluyen ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido yodhídrico, ácido nítrico, ácido nitroso, ácido sulfúrico, ácido sulfuroso, un ácido fosfórico, ácido nicotínico, ácido isonicotínico, ácido láctico, ácido salicílico, ácido 4-aminosalicílico, ácido tartárico, ácido ascórbico, ácido gentísico, ácido glucónico, ácido glucarónico, ácido sacárico, ácido fórmico, ácido benzoico, ácido glutámico, ácido pantoténico, ácido acético, ácido propiónico, ácido butírico, ácido fumárico, ácido succínico, ácido cítrico, ácido oxálico, ácido maleico, ácido hidroximaleico, ácido metilmaleico, ácido glicólico, ácido málico, ácido cinámico, ácido mandélico, ácido 2-fenoxibenzoico, ácido 2-acetoxibenzoico, ácido embónico, ácido fenilacético, ácido N-ciclohexilsulfámico, ácido metanosulfónico, ácido etanosulfónico, ácido bencenosulfónico, ácido p-toluenosulfónico, ácido 2-hidroxietanosulfónico, ácido etano-1,2-disulfónico, ácido 4-metilbencenosulfónico, ácido naftaleno-2-sulfónico, ácido naftaleno-1,5-disulfónico, ácido 2-fosfoglicérico, ácido 3-fosfoglicérico, ácido glucosa-6-fosfórico, y un aminoácido.

35 Los ejemplos no limitantes de sales de adición de ácido adecuadas incluyen una sal de clorhidrato, una sal de bromhidrato, una sal de yodhidrato, una sal de nitrato, una sal de nitrito, una sal de sulfato, una sal de sulfito, una sal de fosfato, una sal de hidrogenofosfato, una sal de dihidrogenofosfato, una sal de carbonato, una sal de bicarbonato, una sal de nicotinato, una sal de isonicotinato, una sal de lactato, una sal de salicilato, una sal de 4-aminosalicilato, una sal de tartrato, una sal de ascorbato, una sal de gentisinato, una sal de gluconato, una sal de glucaronato, una sal de sacarato, una sal de formiato, una sal de benzoato, una sal de glutamato, una sal de pantotenato, una sal de acetato, una sal de propionato, una sal de butirato, una sal de fumarato, una sal de succinato, una sal de citrato, una sal de oxalato, una sal de maleato, una sal de hidroximaleato, una sal de metilmaleato, una sal de glicolato, una sal de malato, una sal de cinamato, una sal de mandelato, una sal de 2-fenoxibenzoato, una sal de 2-acetoxibenzoato, una sal de embonato, una sal de fenilacetato, una sal de N-ciclohexilsulfamato, una sal de metanosulfonato, una sal de etanosulfonato, una sal de bencenosulfonato, una sal de p-toluenosulfonato, una sal de 2-hidroxietanosulfonato, una sal de etano-1,2-disulfonato, una sal de 4-metilbencenosulfonato, una sal de naftaleno-2-sulfonato, una sal de naftaleno-1,5-disulfonato, una sal de 2-fosfoglicerato, una sal de 3-fosfoglicerato, una sal de glucosa-6-fosfato, y una sal de aminoácido.

50 Las sales metálicas pueden surgir de la adición de una base inorgánica a un compuesto descrito en el presente documento. La base inorgánica consiste en un catión metálico emparejado con un contraión básico, tal como, por ejemplo, hidróxido, carbonato, bicarbonato o fosfato. El metal puede ser un metal alcalino, metal alcalinotérreo, metal de transición, o metal de grupo principal. Los ejemplos no limitantes de metales adecuados incluyen litio, sodio, potasio, cesio, cerio, magnesio, manganeso, hierro, calcio, estroncio, cobalto, titanio, aluminio, cobre, cadmio y cinc.

55 Los ejemplos no limitantes de sales metálicas adecuadas incluyen una sal de litio, una sal de sodio, una sal de potasio, una sal de cesio, una sal de cerio, una sal de magnesio, una sal de manganeso, una sal de hierro, una sal de calcio, una sal de estroncio, una sal de cobalto, una sal de titanio, una sal de aluminio, una sal de cobre, una sal de cadmio y una sal de cinc.

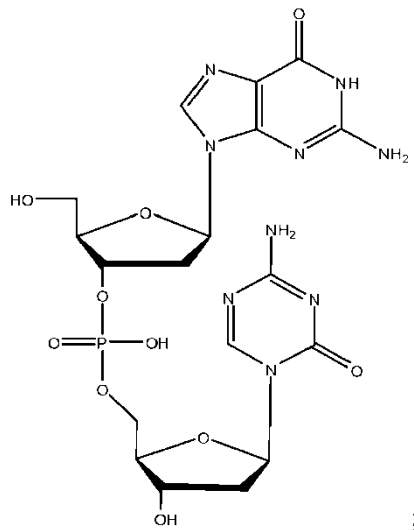
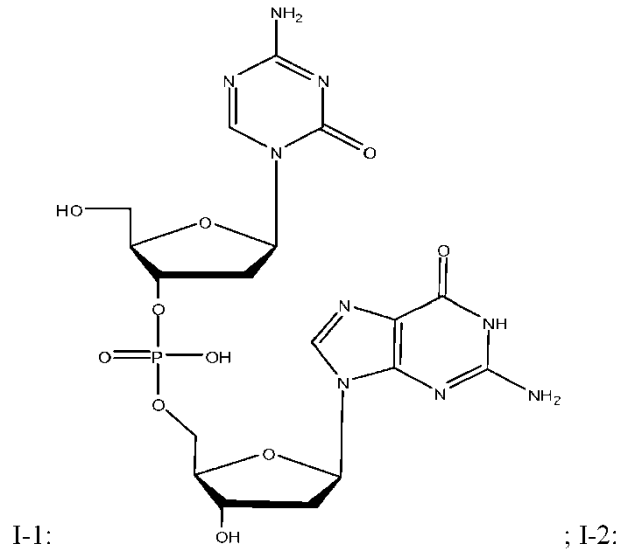
60 Las sales de amonio pueden surgir de la adición de amoniaco o una amina orgánica a un compuesto descrito en el presente documento. Los ejemplos no limitantes de aminas orgánicas adecuadas incluyen trietilamina, diisopropilamina, etanolamina, dietanolamina, trietanolamina, morfolina, N-metilmorfolina, piperidina, N-metilpiperidina, N-etilpiperidina, dibencilamina, piperazina, piridina, pirrazol, piperazina, piperazina, etilendiamina, N,N'-dibenciletilendiamina, procaína, cloroprocaína, colina, dicitlohexilamina y N-metilglucamina.

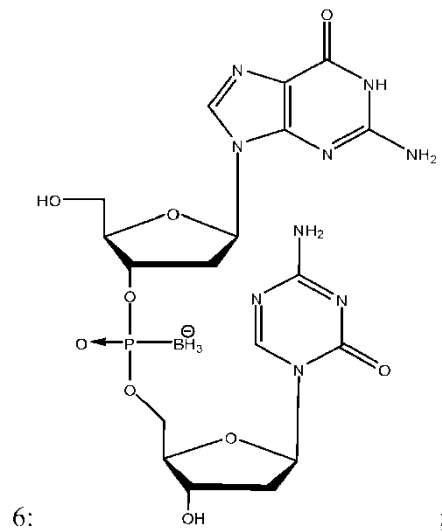
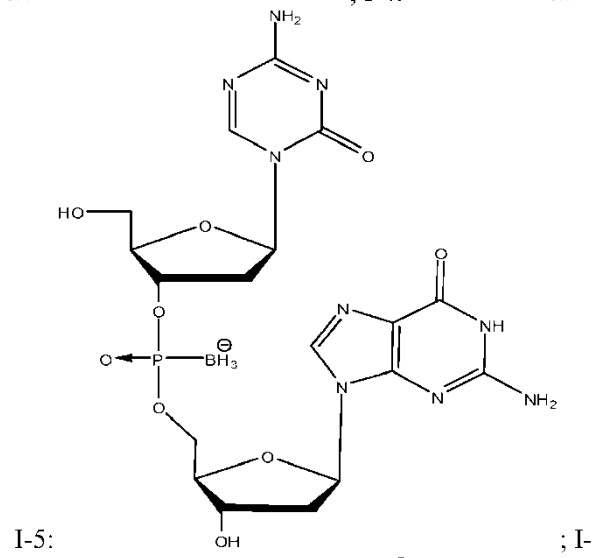
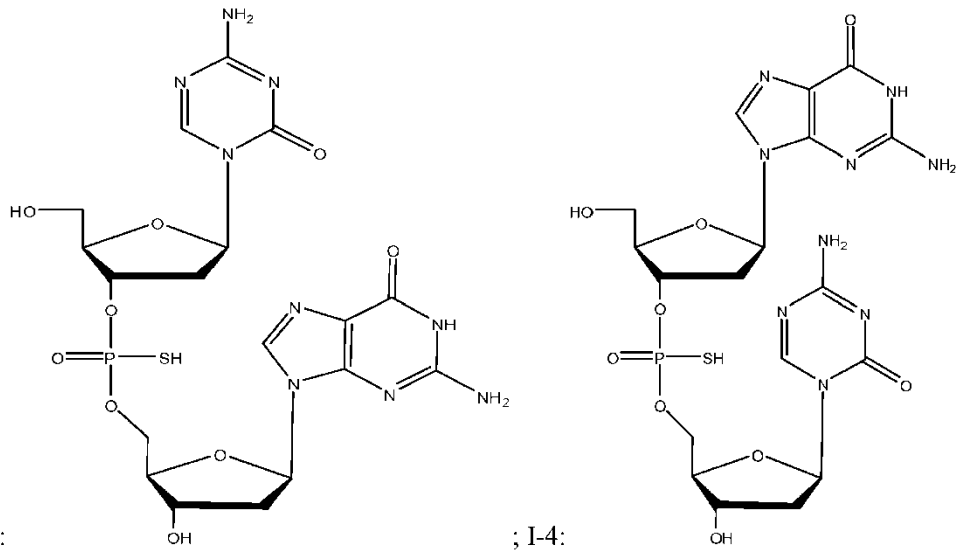


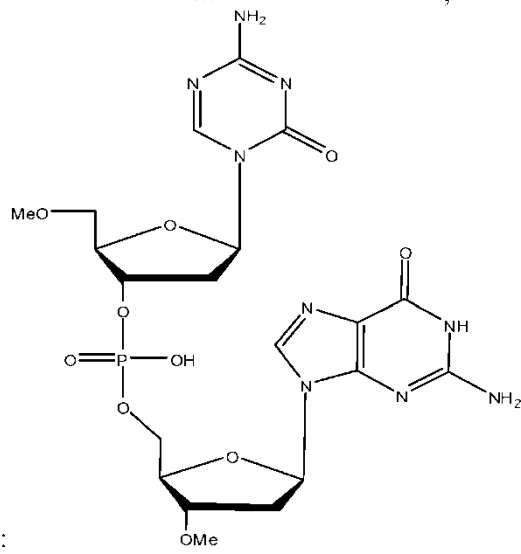
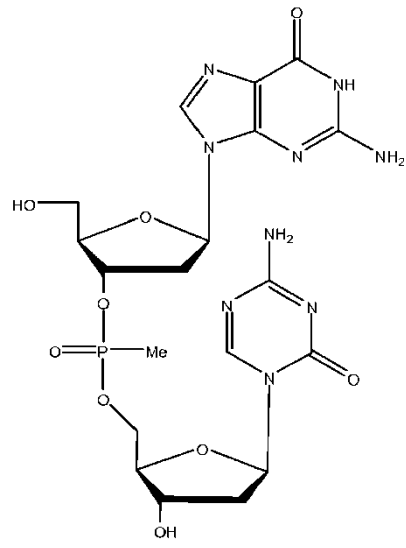
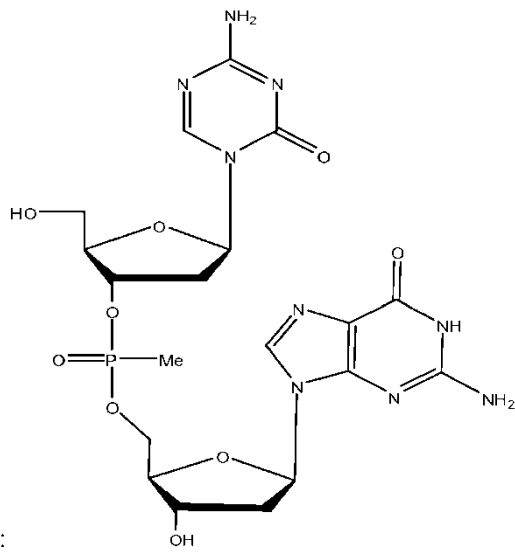
5 Los ejemplos no limitantes de sales de amonio adecuadas incluyen una sal de trietilamina, una sal de diisopropilamina, una sal de etanolamina, una sal de dietanolamina, una sal de trietanolamina, una sal de morfolina, una sal de N-metilmorfolina, una sal de metilpiperidina, una sal de N-metilpiperidina, una sal de N-etilpiperidina, una sal de dibencilamina, una sal de piperazina, una sal de piridina, una sal de pirrazol, una sal de pipirrazol, una sal de imidazol, una sal de pirazina, una sal de pipirazina, una sal de etilendiamina, una sal de N,N'-dibenciletildiamina, una sal de procaína, una sal de cloroprocaína, una sal de colina, una sal de dicitohexilamina y una sal de N-metilglucamina.

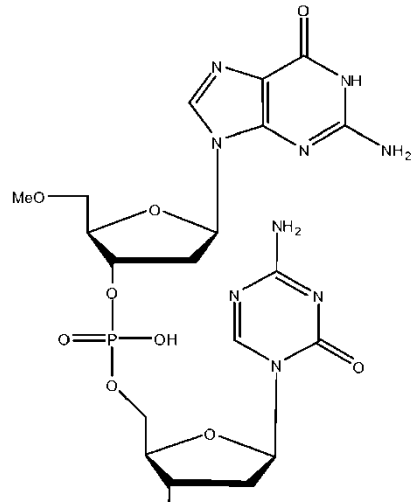
10

Los ejemplos no limitantes de compuestos de la fórmula I incluyen:

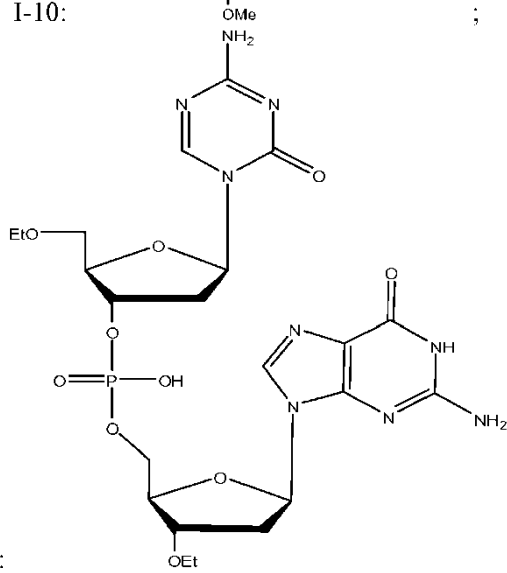




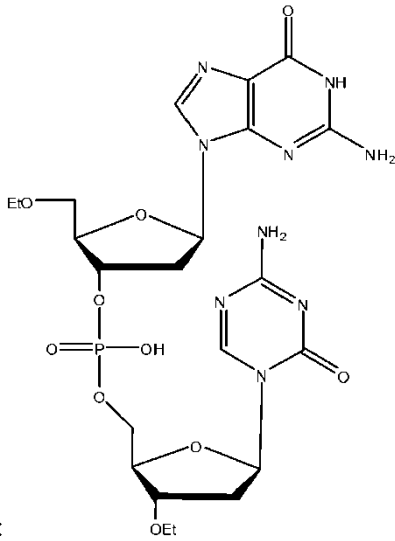




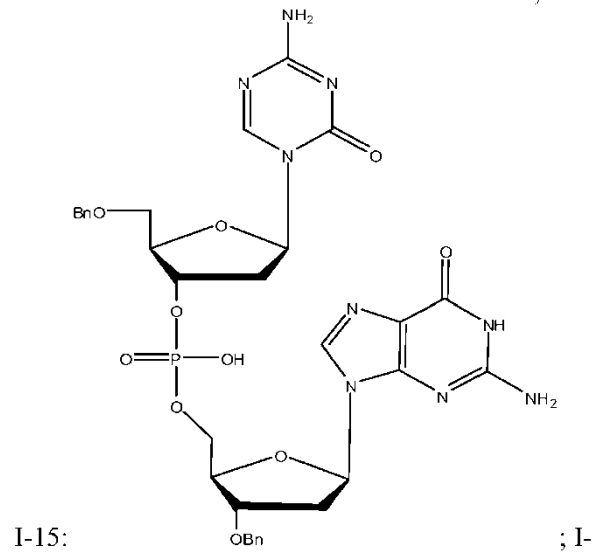
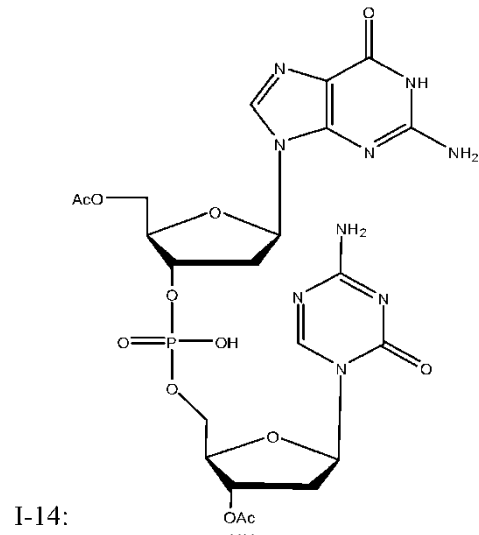
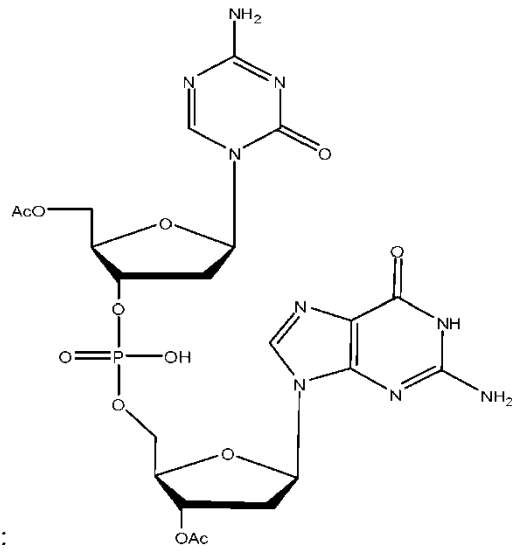
I-10: ;

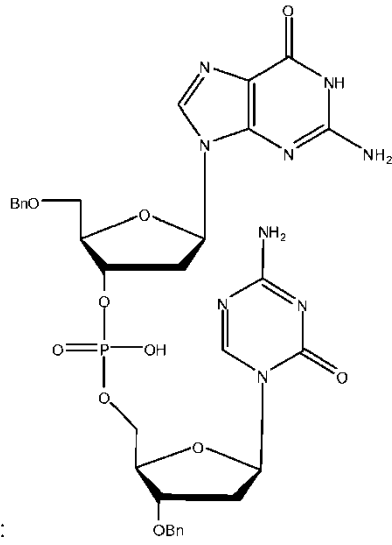


I-11: ; I-

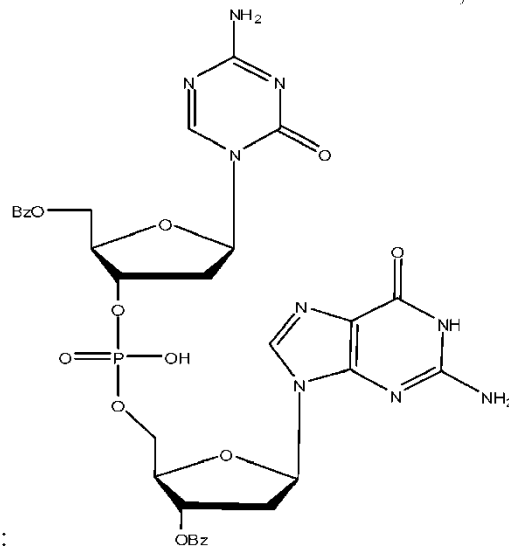


12: ;

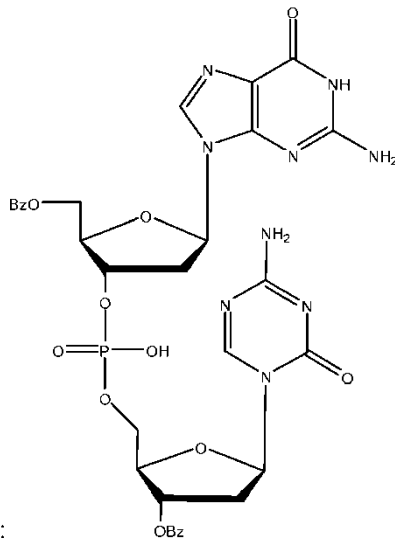




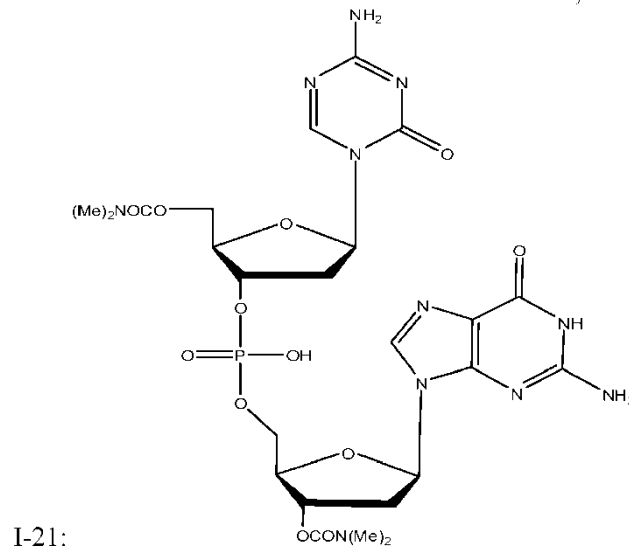
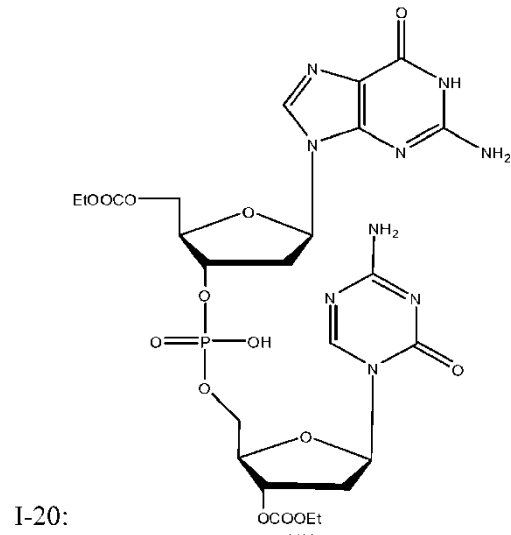
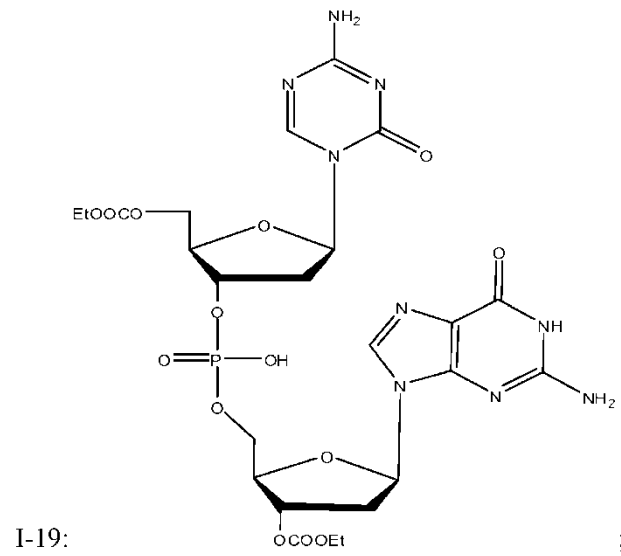
16: ;

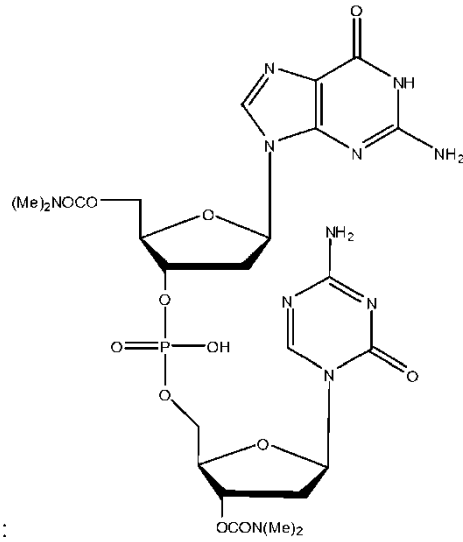


I-17: ; I-

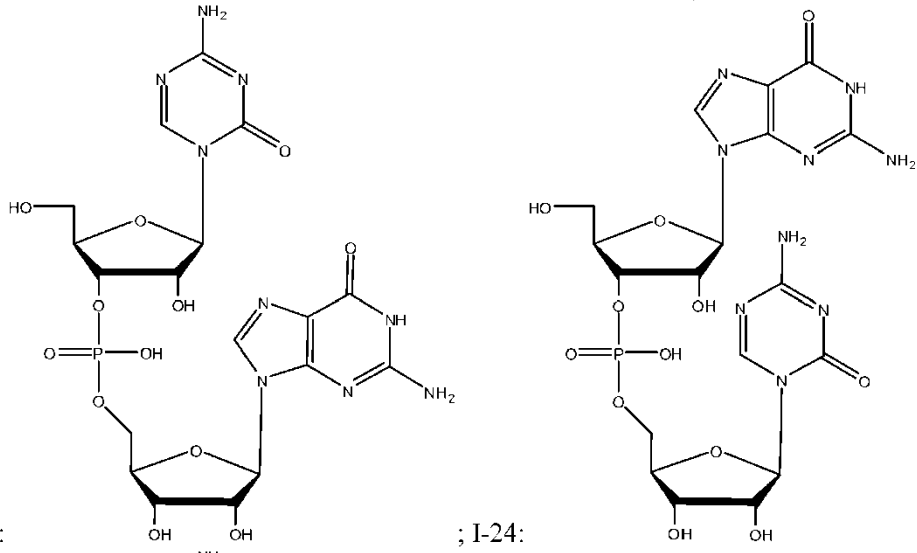


18: ;



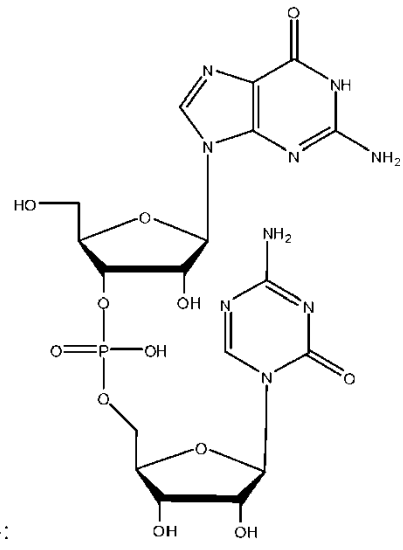


I-22:

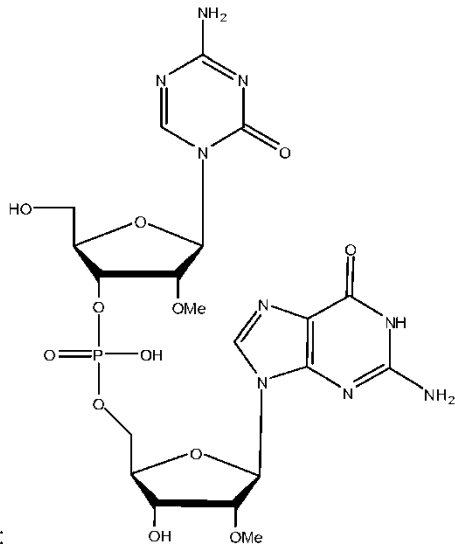


I-23:

; I-24:

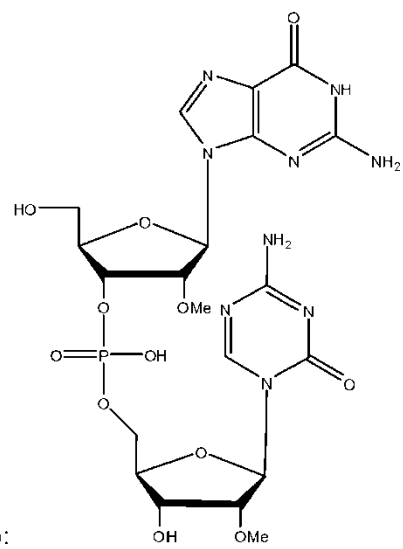


;



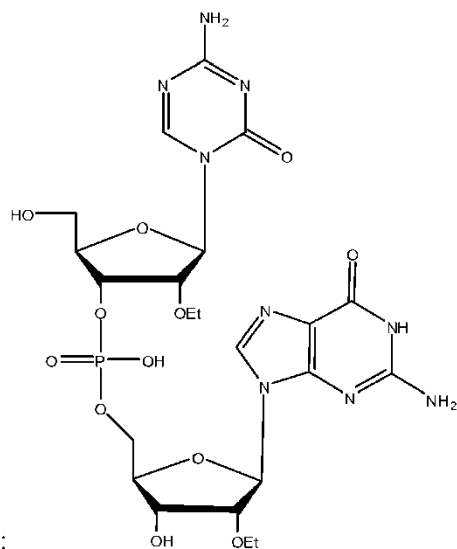
I-25:

; I-26:

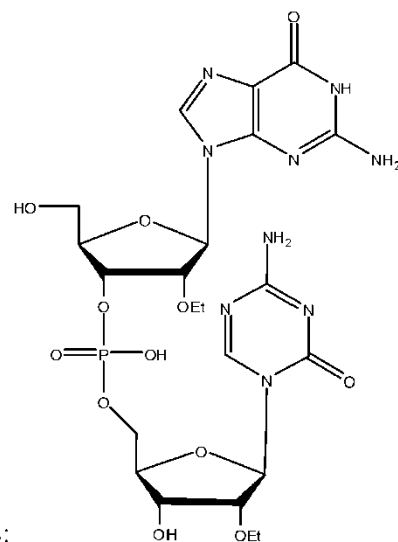


;

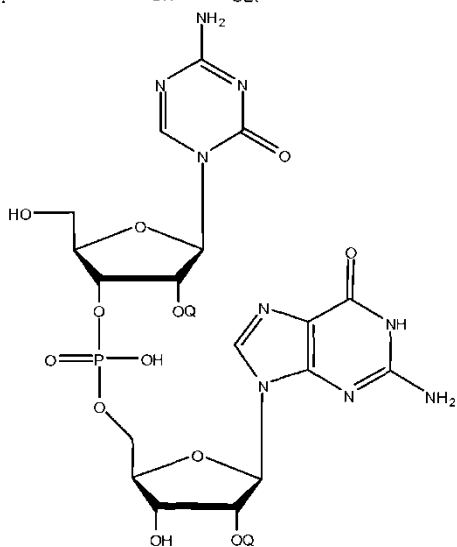




I-27:

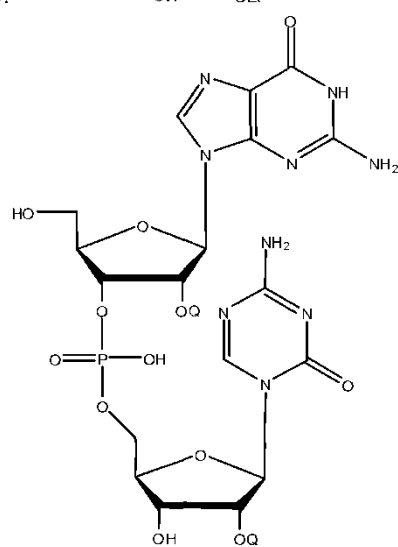


; I-28:



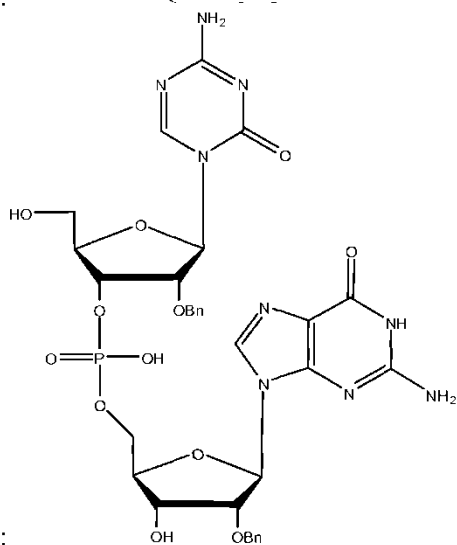
I-29:

OQ = OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OMe

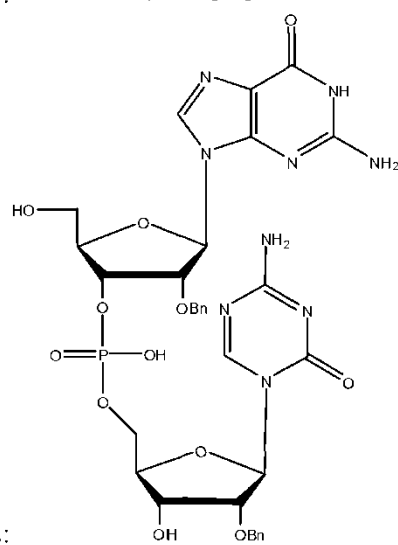


; I-30:

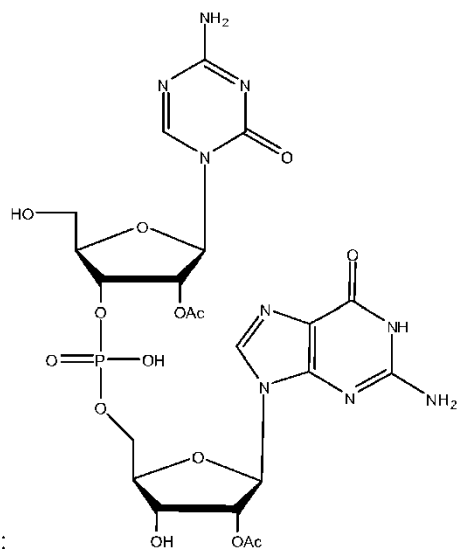
OQ = OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OMe



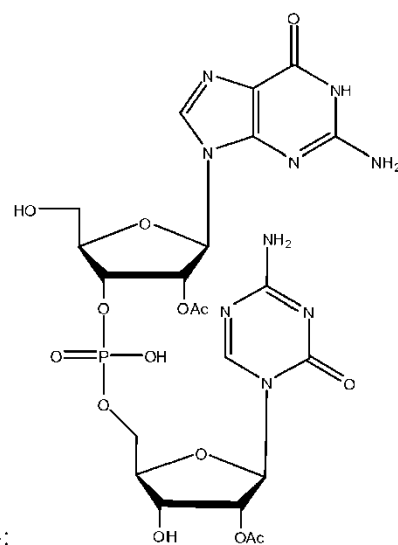
I-31:



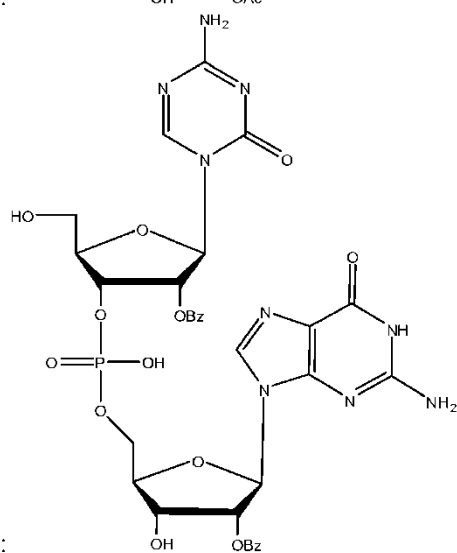
; I-32:



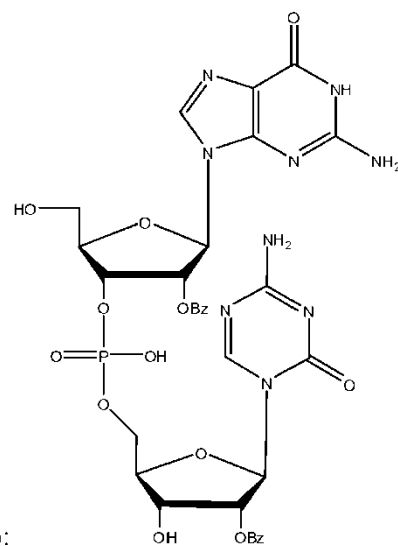
I-33:



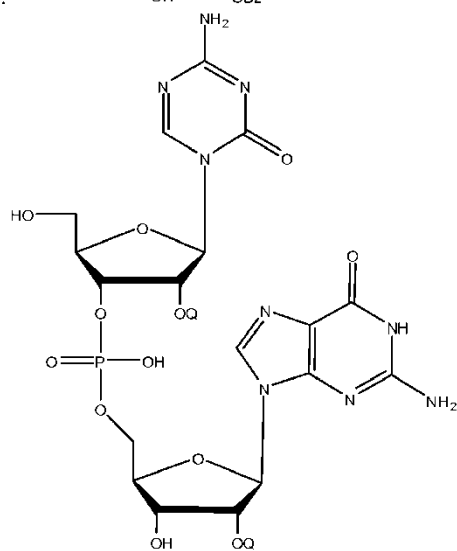
; I-34:



I-35:

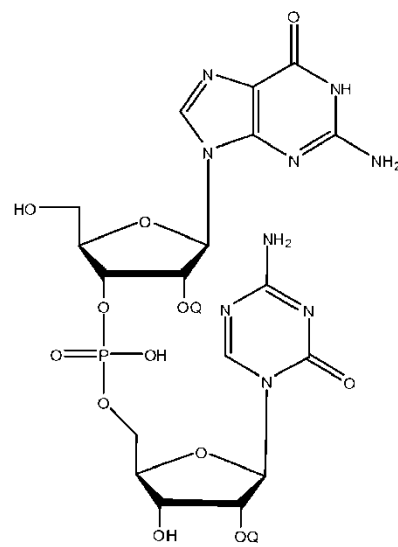


; I-36:



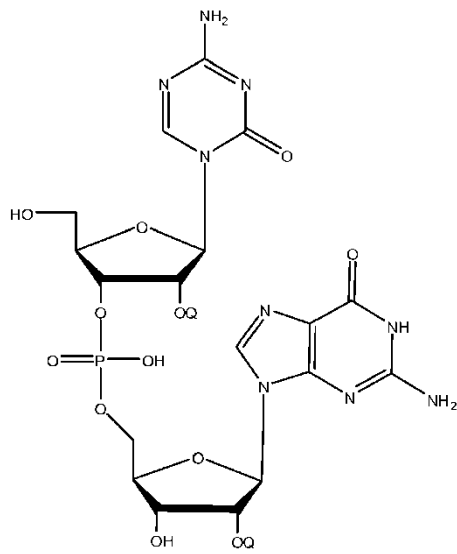
I-37:

OQ - OCOOEt



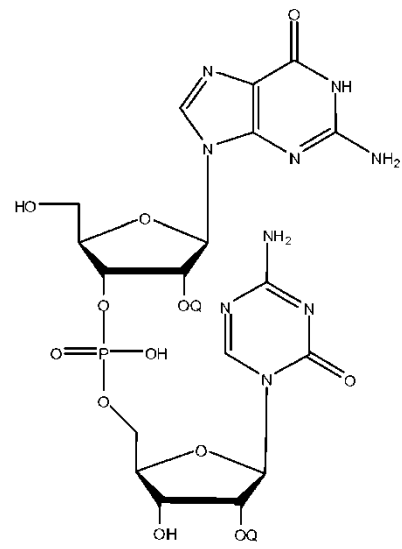
; I-38:

OQ - OCOOEt



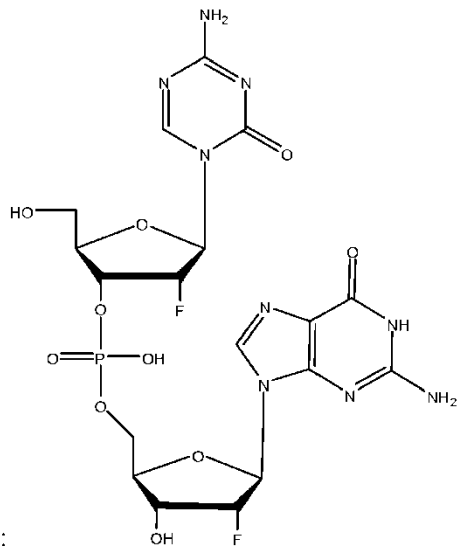
I-39:

OO - OCON(Me)<sub>2</sub>

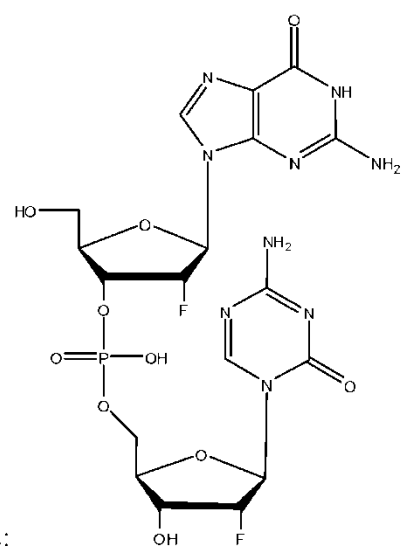


; I-40:

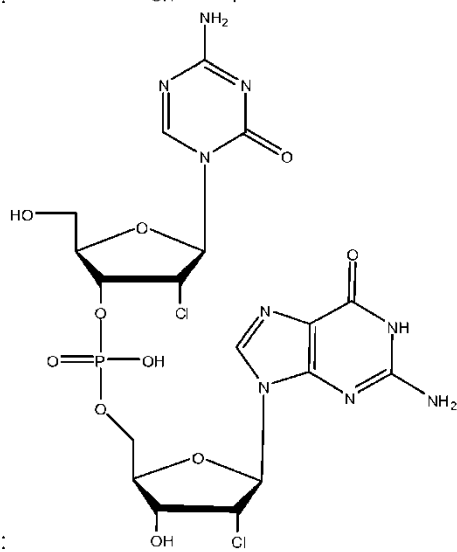
OO - OCON(Me)<sub>2</sub>



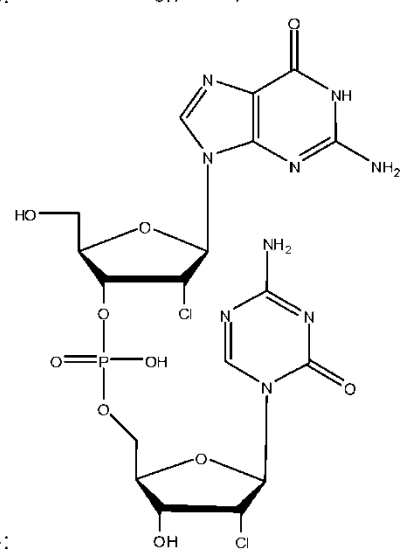
I-41:



; I-42:



I-43:



; I-44:

5 y sales farmacéuticamente aceptables de cualquiera de los anteriores. En algunas realizaciones, una sal es una sal de sodio de cualquiera de los anteriores.

Los compuestos descritos en el presente documento se pueden sintetizar por métodos conocidos en la técnica, por ejemplo, síntesis en fase en solución o en fase sólida. Para descripciones de la síntesis de compuestos de la invención, y para una descripción del mecanismo de acción de los compuestos de la invención, véase el documento de patente WO2007/041071.

5

Formulaciones para su uso en las combinaciones de la invención.

Los compuestos para su uso en las combinaciones de la invención se pueden proporcionar en cualquier forma adecuada y se pueden formular según técnicas conocidas (véase, por ejemplo, Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Easton, PA, EE.UU.). Los ejemplos de formulaciones adecuadas se describen en el documento de patente WO2007/041071 en las páginas 13-23.

10

Una terapia eficaz puede proporcionar efectos ventajosos tales como aditividad, sinergia, efectos secundarios reducidos, toxicidad reducida, elevado tiempo hasta la progresión de la enfermedad, elevado tiempo de supervivencia, sensibilización o desensibilización de un agente a otro, o tasa de respuesta mejorada. Ventajosamente, un efecto eficaz puede permitir dosis más bajas de cada componente o cualquier componente a administrar a un paciente, disminuyendo así la toxicidad de la quimioterapia, mientras que se produce y/o mantiene el mismo efecto terapéutico.

15

Una tasa de respuesta puede describir el porcentaje de pacientes que alcanzan un estado de respuesta. Así, por ejemplo, una tasa de respuesta de 50 % significa que la mitad de los pacientes tratados alcanzan un estado de respuesta. Un estado de respuesta se puede referir a un tipo de tumor maligno, por ejemplo, tanto sólido como hematológico. En el primer caso se define normalmente por los criterios de RECIST (Criterios de evaluación de respuestas en tumores sólidos), mientras que en el último se usan otros criterios de respuesta (principalmente los del IWG (Grupo internacional de trabajo)).

20

25

Un efecto sinérgico puede ser un efecto terapéutico producido por la combinación que es mayor que la suma de los efectos terapéuticos de los componentes de la combinación cuando se presentan individualmente.

Un efecto aditivo puede ser un efecto terapéutico producido por la combinación que es mayor que el efecto terapéutico de cualquiera de los componentes de la combinación cuando se presenta individualmente.

30

Los ejemplos no limitantes de composiciones farmacéuticas incluyen cualquier composición adecuada para administración a un paciente, que está, por ejemplo, en una, concentración y/o nivel de pureza adecuados para administración a un sujeto humano o animal. En algunas realizaciones, las composiciones farmacéuticas son estériles y/o no pirógenas. Una composición farmacéutica no pirógena no provoca respuestas inflamatorias no deseables cuando se administra a un paciente.

35

Los ejemplos no limitantes de un kit farmacéutico incluyen una matriz de una o más dosis unitarias de una composición farmacéutica junto con un dispositivo de dosificación (por ejemplo, dispositivo de medida) y/o un dispositivo de administración (por ejemplo, inhalador o jeringa), opcionalmente todos contenidos dentro de un envoltorio externo común. En los kits farmacéuticos que comprenden una combinación de dos o más compuestos/agentes, los compuestos/agentes individuales puede ser formulaciones unitarias o no unitarias. En algunas realizaciones, la(s) dosis unitaria(s) puede(n) estar contenida(s) dentro de un envase alveolado. En algunas realizaciones, el kit farmacéutico comprende además instrucciones para su uso.

40

45

Un envase farmacéutico puede ser una matriz de una o más dosis unitarias de una composición farmacéutica, opcionalmente contenidas dentro de envoltorio externo común. En los envases farmacéuticos que comprenden una combinación de dos o más compuestos/agentes, los compuestos/agentes individuales pueden ser formulaciones unitarias o no unitarias. La(s) dosis unitaria(s) pueden estar contenidas dentro de un envase alveolado. En algunas realizaciones, el envase farmacéutico comprende además instrucciones para su uso.

50

Un envase para el paciente puede ser un envase, recetado a un paciente, que contiene composiciones farmacéuticas para el ciclo completo de tratamiento. Los envases para el paciente pueden contener uno o más envase(s) alveolado(s). Los envases para el paciente tienen una ventaja con respecto a las prescripciones tradicionales, donde un farmacéutico divide un suministro al paciente de un suministro farmacéutico desde un suministro a granel, en el que el paciente siempre tiene acceso al prospecto contenido en el envase para el paciente, normalmente ausente en las prescripciones para el paciente. Se ha mostrado que la inclusión de un prospecto mejora el cumplimiento del paciente con las instrucciones del médico.

55

60

Los ejemplos no limitantes de compuestos/agentes combinados no físicamente asociados incluyen:

- material (por ejemplo, una formulación no unitaria) que comprende al menos uno de los dos o más compuestos/agentes junto con instrucciones para la asociación extemporánea del al menos un compuesto/agente para formar una asociación física de los dos o más compuestos/agentes;

65

- material (por ejemplo, una formulación no unitaria) que comprende al menos uno de los dos o más compuestos/agentes junto con instrucciones para la terapia de combinación con los dos o más compuestos/agentes;
- material que comprende al menos uno de los dos o más compuestos/agentes junto con instrucciones para administración a una población de pacientes en el que el (los) otro(s) de los dos o más compuestos/agentes han sido (o están siendo) administrados;
- material que comprende al menos uno de los dos o más compuestos/agentes en una cantidad o en una forma que está específicamente adaptada para su uso en combinación con el (los) otro(s) de los dos o más compuestos/agentes.

Los ejemplos no limitantes de terapias de combinación incluyen terapias que comprenden el uso de una combinación de dos o más compuestos/agentes (como se ha definido anteriormente). Los compuestos se pueden administrar como parte de la misma pauta de tratamiento general. Como tal, puede diferir la posología de cada uno de los dos o más compuestos/agentes: cada uno se puede administrar al mismo tiempo o en momentos diferentes. En algunas realizaciones, los compuestos/agentes de la combinación se pueden administrar secuencialmente (por ejemplo, antes o después) o simultáneamente, ya sea en la misma formulación farmacéutica (es decir, juntos), o en formulaciones farmacéuticas diferentes (es decir, por separado). Simultáneamente en la misma formulación es como una formulación unitaria, mientras que simultáneamente en diferentes formulaciones farmacéuticas es no unitaria. En algunas realizaciones, el compuesto de la fórmula I o su sal se administran primero (como una terapia de sensibilización), seguido por administración del (de los) componente(s) terapéutico(s) complementario(s). Las posologías de cada uno de los dos o más compuestos/agentes en una terapia de combinación también pueden diferir con respecto a la vía de administración.

En algunas realizaciones, las combinaciones de la invención producen un efecto terapéuticamente eficaz con respecto al efecto terapéutico de los compuestos/agentes individuales cuando se administran por separado.

Un componente terapéutico complementario puede ser un compuesto/agente que da una combinación eficaz cuando se combina con un compuesto de fórmula (I). El componente auxiliar puede contribuir a la eficacia de la combinación (por ejemplo, produciendo un efecto sinérgico o aditivo o mejorando la tasa de respuesta).

La eficacia antitumoral de las combinaciones se puede evaluar como referencia a efectos sobre la metilación de ADN y/o modulación del perfil inmunológico tumoral. La metilación de ADN global o específica de gen se puede monitorizar por análisis de ADN tratado con bisulfito de sodio usando pirosecuenciación, PCR o RT-PCR cuantitativa específica de metilación y análisis de RT-PCR cuantitativa en tiempo real. El perfil inmunológico tumoral se puede caracterizar por inmunohistoquímica (IHC) para la presencia y frecuencia relativa de linfocitos T activados. También se puede evaluar la actividad inmunomoduladora de las combinaciones por análisis de RT-PCR y de RT-PCR cuantitativa en tiempo real de la inducción o modulación de antígeno de cáncer-testículo (CTA), tal como la familia de antígenos NY-ESO-1 o MAGE. La eficacia del tratamiento de combinación también se puede determinar por la respuesta inmunitaria a la actividad antitumoral de las combinaciones. Por ejemplo, se puede evaluar la modulación de una respuesta antitumoral de linfocitos T por ensayos de células tumorales de linfocitos mixtos (MLTC). Más detalles de dichas técnicas analíticas se proporcionan en, por ejemplo, Coral et al. (2012) Immunomodulatory activity of SGI-110, a 5-aza-2'-deoxycytidine-containing demethylating dinucleotide *Cancer Immunol. Immunother.* DOI 10.1007/s00262-012-1365-7.

Los ejemplos no limitantes de anticuerpos incluyen: i) anticuerpos completos (incluyendo anticuerpos policlonales y anticuerpos monoclonales (mAbs)); ii) fragmentos de anticuerpos, que incluyen F(ab), F(ab'), F(ab')<sub>2</sub>, Fv, Fc<sub>3</sub> y anticuerpos monocatenarios (y sus combinaciones), que se pueden producir por técnicas de ADN recombinante o por escisión enzimática o química de anticuerpos intactos; iii) anticuerpos biespecíficos o bifuncionales, que son anticuerpos híbridos sintéticos que tienen dos pares diferentes de cadenas pesadas/ligeras y dos sitios de unión diferentes; iv) anticuerpos quiméricos (anticuerpos que tienen un dominio de inmunoglobulina de anticuerpo constante humano acoplado a uno o más dominios de inmunoglobulina de anticuerpo variables no humanos, o sus fragmentos); v) minicuerpos (véase el documento de patente WO 94/09817), fusiones monocatenarias Fv-Fc y anticuerpos humanos producidos por animales transgénicos; y vi) anticuerpos multímeros y complejos de orden superior de proteínas (por ejemplo, anticuerpos heterodiméricos). Se pueden producir anticuerpos biespecíficos mediante una variedad de métodos que incluyen fusión de hibridomas o enlace de fragmentos Fab'. En algunas realizaciones, los anticuerpos quiméricos son anticuerpos humanizados.

Los ejemplos no limitantes de inmunoterapia incluyen una intervención (por ejemplo, la administración de la combinación de la invención a un sujeto) que cura, mejora o reduce los síntomas de una enfermedad o elimina (o reduce el impacto de) sus causa(s), y que está mediada, al menos en parte, por componentes del sistema inmunitario hospedador. La inmunoterapia se puede lograr por inmunomodulación, pueden ser la estimulación y/o supresión de uno o más componentes o actividades del sistema inmunitario.

Las formulaciones descritas en el presente documento proporcionan los compuestos descritos en el presente documento en una forma con alta solubilidad, bajo volumen de inyecciones y buena estabilidad química y estabilidad

en almacén. Estas propiedades proporcionan formulaciones que retienen un alto porcentaje de la eficacia inicial y administran una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto incluso después de almacenamiento a temperatura ambiente o inferior durante tiempos prolongados.

- 5 En algunas realizaciones, la invención proporciona combinaciones que comprenden una formulación que comprende: a) un compuesto de la fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo:

(grupo 5-azacitosina)-L-(grupo guanina) (I),

- 10 como se define en el presente documento; y b) un disolvente que comprende: 45 % a 85 % de propilenglicol; 5 % a 45 % de glicerina; y 0 % a 30 % de etanol; y c) opcionalmente, un excipiente farmacéuticamente aceptable.

15 Las formulaciones adecuadas pueden ser soluciones o suspensiones de un compuesto en un disolvente o una mezcla de disolventes. Los ejemplos no limitantes de disolventes adecuados incluyen propilenglicol, glicerina, etanol, y cualquier combinación de los anteriores. Las formulaciones se pueden preparar como formulaciones no acuosas. Las formulaciones pueden ser anhidras o sustancialmente anhidras.

20 Una mezcla de disolventes puede contener un porcentaje de propilenglicol en tanto una base en masa como en volumen. En algunas realizaciones, el porcentaje de propilenglicol puede ser al menos 10 %, al menos 20 %, al menos 30 %, al menos 40 %, o al menos 50 %. En algunas realizaciones, el porcentaje de propilenglicol puede ser como máximo 90 %, como máximo 80 %, como máximo 70 %, o como máximo 60 %. En algunas realizaciones, el porcentaje de propilenglicol puede ser 30 % a 90 %, 45 % a 85 %, 55 % a 75 %, o 60 % a 70 %. En algunas realizaciones, el porcentaje de propilenglicol puede ser 30 %, 35 %, 40 %, 45 %, 50 %, 55 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, o 90 %.

25 Una mezcla de disolventes puede contener un porcentaje de glicerina en tanto una base en masa como en volumen. En algunas realizaciones, el porcentaje de glicerina puede ser al menos 5 %, al menos 10 %, al menos 15 %, al menos 25 %, o al menos 30 %. En algunas realizaciones, el porcentaje de glicerina puede ser como máximo 70 %, como máximo 60 %, como máximo 50 %, como máximo 40 %, o como máximo 30 %. En algunas realizaciones, el porcentaje de glicerina puede ser 0 % a 50 %, 5 % a 45 %, 15 % a 35 %, o 20 % a 30 %. En algunas realizaciones, el porcentaje de glicerina puede ser 0 %, 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 35 %, 40 %, 45 %, o 50 %.

35 Una mezcla de disolventes puede contener un porcentaje de etanol en tanto una base en masa como en volumen. En algunas realizaciones, el porcentaje de etanol puede ser al menos 1 %, al menos 3 %, al menos 5 %, al menos 10 %, o al menos 15 %. En algunas realizaciones, el porcentaje de etanol puede ser como máximo 30 %, como máximo 25 %, como máximo 20 %, como máximo 15 %, o como máximo 10 %. En algunas realizaciones, el porcentaje de etanol puede ser 0 % a 30 %, 0 % a 25 %, 0 % a 20 %, o 5 % a 15 %. En algunas realizaciones, el porcentaje de etanol puede ser 0 %, 1 %, 2 %, 3 %, 4 %, 5 %, 6 %, 7 %, 8 %, 9 %, 10 %, 11 %, 12 %, 13 %, 14 %, o 15 %.

40 En algunas realizaciones, un disolvente o una mezcla de disolventes comprende 45 % a 85 % de propilenglicol, 5 % a 45 % de glicerina y 0 % a 30 % de etanol. En algunas realizaciones, un disolvente o una mezcla de disolventes consiste esencialmente en 45 % a 85 % de propilenglicol, 5 % a 45 % de glicerina y 0 % a 30 % de etanol. En algunas realizaciones, un disolvente o una mezcla de disolventes es 45 % a 85 % de propilenglicol, 5 % a 45 % de glicerina y 0 % a 30 % de etanol.

45 En algunas realizaciones, un disolvente o una mezcla de disolventes comprende 55 % a 75 % de propilenglicol, 15 % a 35 % de glicerina y 0 % a 20 % de etanol. En algunas realizaciones, un disolvente o una mezcla de disolventes consiste esencialmente en 55 % a 75 % de propilenglicol, 15 % a 35 % de glicerina y 0 % a 20 % de etanol. En algunas realizaciones, un disolvente o una mezcla de disolventes es 55 % a 75 % de propilenglicol, 15 % a 35 % de glicerina y 0 % a 20 % de etanol.

50 En algunas realizaciones, un disolvente o una mezcla de disolventes comprende 60 % a 70 % de propilenglicol; 20 % a 30 % de glicerina; y 5 % a 15 % de etanol. En algunas realizaciones, un disolvente o una mezcla de disolventes consiste esencialmente en 60 % a 70 % de propilenglicol; 20 % a 30 % de glicerina; y 5 % a 15 % de etanol. En algunas realizaciones, un disolvente o una mezcla de disolventes es 60 % a 70 % de propilenglicol; 20 % a 30 % de glicerina; y 5 % a 15 % de etanol.

55 En algunas realizaciones, un disolvente o una mezcla de disolventes comprende 65 % de propilenglicol; 25 % de glicerina; y 10 % de etanol. En algunas realizaciones, un disolvente o una mezcla de disolventes consiste esencialmente en 65 % de propilenglicol; 25 % de glicerina; y 10 % de etanol. En algunas realizaciones, un disolvente o una mezcla de disolventes es 65 % de propilenglicol; 25 % de glicerina; y 10 % de etanol.

60 Las formulaciones para su uso en las combinaciones de la invención se pueden preparar, almacenar, transportar y manipular en forma anhidra o sustancialmente anhidra. Se puede ser un disolvente antes de preparar una formulación, y se puede secar un compuesto, por ejemplo, por liofilización. Se puede usar un agente secante, o

65

desecante, durante la preparación, almacenamiento, transporte o manipulación para regular el contenido de agua. Los ejemplos no limitantes de agentes secantes incluyen gel de sílice, sulfato de calcio, cloruro de calcio, fosfato de calcio, cloruro sódico, bicarbonato sódico, sulfato de sodio, fosfato de sodio, montmorillonita, tamices moleculares (perlas o en polvo), alúmina, titania, circonia y pirofosfato de sodio. Un agente secante se puede poner directamente en contacto con una formulación, insertar en la formulación en forma de un envase con una membrana permeable, o almacenar con la formulación en un entorno sellado, tal como un desecador, de forma que el agente secante y la formulación se expongan simultáneamente a la misma atmósfera controlada. Un agente secante se puede retirar de una formulación, por ejemplo, por filtración o canulación. Además, una formulación se pueden almacenar en un envase sellado dentro de una atmósfera controlada que consiste esencialmente en, o enriquecida en, nitrógeno o argón.

Las condiciones anhidras o sustancialmente anhidras benefician la estabilidad en almacén de una formulación desvelada en el presente documento a tanto temperaturas ambiente como reducida. Este beneficio reduce los costes asociados al almacenamiento, transporte y desecho de una formulación, aumenta la conveniencia de almacenamiento y manipulación, y evita la necesidad de administrar formulaciones frías, mejorándose así la tolerancia del sujeto y el cumplimiento de un régimen de una formulación de la invención.

Las formulaciones pueden incluir además un excipiente farmacéuticamente aceptable. Los ejemplos no limitantes de excipientes incluyen manitol, sorbitol, lactosa, dextrosa y ciclodextrinas. Los excipientes se pueden añadir para modular la densidad, reología, uniformidad y viscosidad de la formulación.

Las formulaciones pueden incluir excipientes ácidos o básicos para modular la acidez o basicidad de la formulación. Los ejemplos no limitantes de ácidos adecuados para aumentar la acidez de una formulación incluyen ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido yodhídrico, ácido sulfúrico, ácido fosfórico, ácido nítrico, ácido ascórbico, ácido cítrico, ácido tartárico, ácido láctico, ácido oxálico, ácido fórmico, ácido benenosulfónico, ácido benzoico, ácido maleico, ácido glutámico, ácido succínico, ácido aspártico, ácido diatrizoico y ácido acético. Los ejemplos no limitantes de bases adecuadas para aumentar la basicidad de una formulación incluyen hidróxido de litio, hidróxido sódico, hidróxido potásico, carbonato sódico, bicarbonato sódico, fosfato de sodio, fosfato de potasio, acetato sódico, benzoato de sodio, acetato de tetrabutilamonio, benzoato de tetrabutilamonio y trialkilaminas. También se pueden usar excipientes polifuncionales, tales como ácido etilendiaminatetraacético (EDTA), o su sal, para modular la acidez o basicidad.

El compuesto de la fórmula I como se define anteriormente en este documento puede estar presente en una formulación en cualquier cantidad. En algunas realizaciones, el compuesto está presente en una concentración de 1 mg/mL a 130 mg/mL, 10 mg/mL a 130 mg/mL, 40 mg/mL a 120 mg/mL, o 80 mg/mL a 110 mg/mL.

En algunas realizaciones, el compuesto está presente en una concentración de 10 mg/mL, 20 mg/mL, 30 mg/mL, 40 mg/mL, 50 mg/mL, 60 mg/mL, 70 mg/mL, 80 mg/mL, 90 mg/mL, 100 mg/mL, 110 mg/mL, 120 mg/mL, 130 mg/mL, 140 mg/mL, 150 mg/mL, 160 mg/mL, 170 mg/mL, 180 mg/mL, 190 mg/mL o 200 mg/mL. En algunas realizaciones, el compuesto está presente en una concentración de 100 mg/mL.

La formulación se puede preparar poniendo en contacto un compuesto descrito en el presente documento con un disolvente o una mezcla de disolventes. Alternativamente, el compuesto se puede poner en contacto con un único disolvente, y posteriormente se pueden añadir otros disolventes, como una mezcla, o secuencialmente. Cuando la formulación final es una solución, la solvatación completa que se puede lograr en cualquier etapa del proceso es práctica para la fabricación. Los excipientes opcionales que se pueden añadir a la formulación en cualquier etapa son prácticos para la fabricación.

Se puede promover opcionalmente la preparación de formulación por agitación, calentamiento, o extensión del periodo de disolución. Los ejemplos no limitantes de agitación incluyen agitación, sonicación, mezclar, remover, vórtex, y sus combinaciones.

En algunas realizaciones, se esteriliza opcionalmente la formulación. Los ejemplos no limitantes de técnicas de esterilización incluyen filtración, desinfección química, irradiación y calentamiento.

#### Sulfóxido de dimetilo (DMSO)

El uso de DMSO como disolvente en la preparación de formulaciones para su uso en las combinaciones de la invención permite la reducción en la solución de carga y los volúmenes de llenado (se pueden reducir tanto la carga como los volúmenes de llenado hasta 1/5 de los usados con sistemas acuosos) y alivia las restricciones de tiempo y temperatura en el aumento de escala. Además, el uso de DMSO sustancialmente anhidro aumenta enormemente la estabilidad: el aumento de la concentración de agua se correlaciona con una disminución en la estabilidad (como se muestra en la Figura 4, que muestra el % de cambio en sustancias relacionadas totales de la sal de sodio de un compuesto de la fórmula I-1 cuando se almacenan en DMSO o DMSO/agua (agua para inyección, "WFI") a 25 °C/60 % de HR durante 24 horas).

Se puede usar cualquier fuente de DMSO según la invención. En algunas realizaciones, la fuente de DMSO es

adecuada para aplicaciones sanitarias y de administración de fármacos, por ejemplo, según las monografías de USP o Ph. Eur, y se fabrica bajo las normas de cGMP y API. Se pueden usar según la invención calidades tales como disolvente anhidro o farmacéutico.

- 5 El DMSO para su uso según la invención puede tener impurezas a niveles muy bajos, por ejemplo <0,2 % de agua por KF, <0,01 % de residuo no volátiles y <0,1 % de compuestos relacionados.

En algunas realizaciones, el DMSO puede incluir sus isómeros, que incluyen en particular isómeros de DMSO en los que uno o más átomo(s) está(n) sustituido(s) por un isótopo relacionado, por ejemplo hidrógeno por deuterio.

10

#### Dosificación y administración

Las dosis adecuadas de las formulaciones de la invención se pueden administrar a un sujeto por métodos conocidos en la técnica, y parámetros de dosificación y administración a modo de ejemplo se describen en el documento de patente WO2007/041071.

15

Así, ejemplos no limitantes de métodos de administración incluyen inyección subcutánea, inyección intravenosa e infusión. En algunas realizaciones, un sujeto está en necesidad o deseo de la formulación. En algunas realizaciones, la administración es administración subcutánea.

20

Una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la invención se puede expresar como mg del compuesto por kg de la masa corporal del sujeto. En algunas realizaciones, una cantidad terapéuticamente eficaz es 1-1.000 mg/kg, 1-500 mg/kg, 1-250 mg/kg, 1-100 mg/kg, 1-50 mg/kg, 1-25 mg/kg, o 1-10 mg/kg. En algunas realizaciones, una cantidad terapéuticamente eficaz es 5 mg/kg, 10 mg/kg, 25 mg/kg, 50 mg/kg, 75 mg/kg, 100 mg/kg, 150 mg/kg, 200 mg/kg, 250 mg/kg, 300 mg/kg, 400 mg/kg, 500 mg/kg, 600 mg/kg, 700 mg/kg, 800 mg/kg, 900 mg/kg, o 1.000 mg/kg.

25

Una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la invención también se puede expresar como mg del compuesto por metro cuadrado de área corporal del sujeto. En algunas realizaciones, las combinaciones de la invención se pueden administrar por vía subcutánea en un intervalo de dosis, por ejemplo 1 a 1500 mg (0,6 a 938 mg/m<sup>2</sup>), o 2 a 800 mg (1,25 a 500 mg/m<sup>2</sup>), o 5 a 500 mg (3,1 a 312 mg/m<sup>2</sup>), o 2 a 200 mg (1,25 a 125 mg/m<sup>2</sup>) o 10 a 1000 mg (6,25 a 625 mg/m<sup>2</sup>), incluyendo ejemplos particulares de dosis 10 mg (6,25 mg/m<sup>2</sup>), 20 mg (12,5 mg/m<sup>2</sup>), 50 mg (31,3 mg/m<sup>2</sup>), 80 mg (50 mg/m<sup>2</sup>), 100 mg (62,5 mg/m<sup>2</sup>), 200 mg (125 mg/m<sup>2</sup>), 300 mg (187,5 mg/m<sup>2</sup>), 400 mg (250 mg/m<sup>2</sup>), 500 mg (312,5 mg/m<sup>2</sup>), 600 mg (375 mg/m<sup>2</sup>), 700 mg (437,5 mg/m<sup>2</sup>), 800 mg (500 mg/m<sup>2</sup>), 900 mg (562,5 mg/m<sup>2</sup>) y 1000 mg (625 mg/m<sup>2</sup>).

30

35

La combinación se puede administrar una vez o más de una vez cada día. La combinación normalmente se administra continuamente (es decir, se toma cada día sin pausa durante la duración de la pauta de tratamiento).

40

En algunas realizaciones, se puede administrar una cantidad terapéuticamente eficaz 1-35 veces por semana, 1-14 veces por semana, o 1-7 veces por semana. En algunas realizaciones, se puede administrar una cantidad terapéuticamente eficaz 1-10 veces por día, 1-5 veces por día, 1 vez, 2 veces, o 3 veces por día.

45

En algunas realizaciones, los materiales de la invención se pueden administrar según una pauta posológica de: (a) una vez, dos veces, tres veces, cuatro veces, cinco veces, seis veces o siete veces a la semana; o (b) cada día durante 5, 6, 7, 8, 9 o 10 días; o (c) cada día durante hasta 10 días; o (d) cada día durante entre 5 y 10 días; o (e) cada día durante 5 días, inmediatamente seguido por dos días libres de dosis y luego cada día durante los siguientes 5 días. En algunas realizaciones, la administración es subcutánea.

50

#### Usos terapéuticos

Las combinaciones de la presente invención se pueden usar para tratar una amplia variedad de enfermedades. En una realización, la combinación de la invención es para su uso en el tratamiento de una enfermedad seleccionada de:

55

- (a) un síndrome mielodisplásico (SMD);
- (b) un cáncer;
- (c) un trastorno hematológico; y
- (d) una enfermedad asociada a la síntesis anormal de hemoglobina;

60

Las indicaciones que se pueden tratar incluyen las que implican proliferación celular no deseable o incontrolada. Dichas indicaciones incluyen tumores benignos, diversos tipos de cánceres tales como tumores primarios y metástasis tumorales, reestenosis (por ejemplo, lesiones coronarias, de la carótida y cerebrales), trastornos hematológicos, estimulación anormal de células endoteliales (aterosclerosis), ataques al tejido corporal debidos a cirugía, cicatrización anormal, angiogénesis anormal, enfermedades que producen fibrosis de tejido, trastornos de movimientos repetitivos, trastornos de tejidos que no están altamente vascularizados y respuestas proliferativas

65



asociadas a trasplantes de órganos.

Generalmente, las células en un tumor benigno retienen sus características diferenciadas y no se dividen en una forma completamente incontrolada. Un tumor benigno está normalmente localizado y es no metastásico. Los tumores benignos de tipos específicos que se pueden tratar usando la presente invención incluyen hemangiomas, adenoma hepatocelular, hemangioma cavernoso, hiperplasia nodular focal, neuromas acústicos, neurofibroma, adenoma de conductos biliares, cistoma de conductos biliares, fibroma, lipomas, leiomiomas, mesoteliomas, teratomas, mixomas, hiperplasia regenerativa nodular, tracomias y granulomas piogénicos.

En un tumor maligno, las células tumorales se vuelven indiferenciadas, no responden a las señales de control de crecimiento del cuerpo y se multiplican de un modo incontrolado. El tumor maligno es invasivo y capaz de extenderse a sitios distantes (metastatizar). Los tumores malignos se dividen generalmente en dos categorías: primarios y secundarios. Los tumores primarios surgen directamente del tejido en el que se encuentran. Un tumor secundario, o metástasis, es un tumor que se origina en cualquier parte en el cuerpo, pero ahora se ha extendido a un órgano distante. Las vías comunes para la metástasis son el crecimiento directo en estructuras adyacentes, extensión a través de los sistemas vasculares o linfáticos, y seguimiento a lo largo de planos de tejido y espacios del cuerpo (líquido peritoneal, líquido cefalorraquídeo, etc.).

Los tipos específicos de cánceres o tumores malignos, ya sean primarios o secundarios, que se pueden tratar usando la presente invención incluyen cáncer de mama, cáncer de piel, cáncer de huesos, cáncer de próstata, cáncer de hígado, cáncer de pulmón, cáncer cerebral, cáncer de la laringe, vesícula biliar, páncreas, recto, paratiroides, tiroides, suprarrenal, tejido neural, cabeza y cuello, colon, estómago, bronquios, riñones, carcinoma de células basales, carcinoma de células escamosas de tanto tipo ulcerante como papilar, carcinoma metastásico de la piel, osteosarcoma, sarcoma de Ewing, sarcoma de células del retículo, mieloma, tumor de células gigantes, tumor de pulmón de células pequeñas, cálculos biliares, tumor de células de los islotes, tumor cerebral primario, tumores agudos y crónicos linfocíticos y granulocíticos, tumor de tricoleucocitos, adenoma, hiperplasia, carcinoma medular, feocromocitoma, neuromas mucosos, ganglioneuromas intestinales, tumor nervioso hiperplásico de la córnea, tumor de hábito marfanoide, tumor de Wilms, seminoma, tumor de ovario, leiomiomas, displasia cervical y carcinoma *in situ*, neuroblastoma, retinoblastoma, sarcoma de tejido blando, carcinoide maligno, lesión tópica de la piel, micosis fungoide, rhabdomyosarcoma, sarcoma de Kaposi, sarcoma osteogénico y otro sarcoma, hipercalcemia maligna, tumor de células renales, policitemia vera, adenocarcinoma, glioblastoma multiforme, leucemias, linfomas, melanomas malignos, carcinomas epidermoides, y otros carcinomas y sarcomas.

Los trastornos hematológicos incluyen crecimiento anormal de glóbulos sanguíneos que puede conducir a cambios displásicos en glóbulos sanguíneos y tumores malignos hematológicos tales como diversas leucemias. Los ejemplos de trastornos hematológicos incluyen, pero no se limitan a, leucemia mieloide aguda, leucemia promielocítica aguda, leucemia linfoblástica aguda, leucemia mielógena crónica, síndromes mielodisplásicos y anemia de células falciformes.

Puede ser posible el tratamiento de la proliferación celular anormal debida a ataques al tejido corporal durante la cirugía para una variedad de procedimientos quirúrgicos, que incluyen cirugía de las articulaciones, cirugía intestinal y queloide cicatricial. Las enfermedades que producen tejido fibrótico incluyen enfisema. Los trastornos de movimientos repetitivos que se pueden tratar incluyen síndrome del túnel carpiano. Un ejemplo de trastornos proliferativos de células que se pueden tratar usando la invención es un tumor óseo.

También descrito en el presente documento, se pueden tratar respuestas proliferativas asociadas a trasplante de órganos que incluyen las respuestas proliferativas que contribuyen a los posibles rechazos de órganos o complicaciones asociadas. Específicamente, estas respuestas proliferativas pueden ocurrir durante el trasplante de corazón, pulmón, hígado, riñón, y otros órganos del cuerpo o sistemas de órganos.

También descrito en el presente documento, se puede tratar angiogénesis anormal que incluye, por ejemplo, la angiogénesis anormal que acompaña a artritis reumatoide, edema y lesión cerebral relacionada con isquemia-reperusión, isquemia cortical, hiperplasia de ovario e hipervascularidad (síndrome del ovario poliquístico), endometriosis, psoriasis, retinopatía diabética, y otras enfermedades angiogénicas oculares tales como retinopatía de la prematuridad (fibroplasia retrolental), degeneración muscular, rechazo de injerto de córnea, glaucoma neovascular y síndrome de Oster Webber.

Las enfermedades asociadas a angiogénesis anormal requieren o inducen el crecimiento vascular. Por ejemplo, la angiogénesis corneal implica tres fases: un periodo latente pre-vascular, neovascularización activa y maduración y regresión vascular.

Descrito en el presente documento, las formulaciones y composiciones se pueden usar para tratar enfermedades asociadas a angiogénesis no deseada o anormal. Las formulaciones farmacéuticas son para su uso solas, o en combinación con agente antineoplásico cuya actividad como agente antineoplásico *in vivo* se afecta adversamente por altos niveles de metilación de ADN. La dosificación particular de estos agentes requeridos para inhibir la angiogénesis y/o enfermedades angiogénicas puede depender de la gravedad de la afección, la vía de

administración, y factores relacionados que se pueden decidir por el médico adjunto. Generalmente, las dosis diarias aceptadas y eficaces son la cantidad suficiente para inhibir eficazmente la angiogénesis y/o enfermedades angiogénicas.

5 Descrito en el presente documento, las formulaciones farmacéuticas se pueden usar para tratar una variedad de enfermedades asociadas a angiogénesis no deseables tales como neovascularización retiniana/coroidea y neovascularización corneal. Los ejemplos de neovascularización retiniana/coroidea incluyen, pero no se limitan a, enfermedades de Best, miopía, foveas ópticas, enfermedades de Stargardt, enfermedad de Paget, oclusión venosa, oclusión de arterias, anemia de células falciformes, sarcoidosis, sífilis, pseudoxantoma elástico, enfermedades obstructivas de la carótida, uveítis/vitritis crónica, infecciones micobacterianas, enfermedad de Lyme, lupus eritematoso sistémico, retinopatía de la prematuridad, enfermedad de Eales, retinopatía diabética, degeneración macular, enfermedades de Bechet, infecciones que provocan una retinitis o croiditis, presunta histoplasmosis ocular, pars planitis, desprendimiento crónico de retina, síndromes de hiperviscosidad, toxoplasmosis, traumatismo y complicaciones posteriores a láser, enfermedades asociadas a rubeosis (neovascularización del ángulo) y enfermedades causadas por la proliferación anormal de tejido fibrovascular o fibroso que incluyen todas las formas de vitreorretinopatía proliferativa.

Los ejemplos no limitantes de neovascularización corneal incluyen, pero no se limitan a, queratoconjuntivitis epidémica, deficiencia de vitamina A, uso excesivo de lentes de contacto, queratitis atópica, queratitis límbica superior, queratitis seca de terigián, Sjogren, acné rosácea, flictenulosis, retinopatía diabética, retinopatía de la prematuridad, rechazo de injerto de córnea, úlcera de Mooren, degeneración marginal de Terrien, queratolisis marginal, poliarteritis, sarcoidosis de Wegener, escleritis, queratotomía radial penfigoide, glaucoma neovascular y fibroplasia retrolental, sífilis, infecciones por Mycobacteria, degeneración de lípidos, quemaduras químicas, úlceras bacterianas, úlceras fúngicas, infecciones por herpes simple, infecciones por herpes zóster, infecciones por protozoos y sarcoma de Kaposi.

Descrito en el presente documento, las formulaciones farmacéuticas se pueden usar para tratar enfermedades inflamatorias crónicas asociadas a angiogénesis anormal. Las formulaciones farmacéuticas son para su uso solo, o en combinación con un agente antineoplásico cuya actividad como agente antineoplásico *in vivo* se ve adversamente afectada por altos niveles de metilación de ADN. La inflamación crónica depende de la formación continua de brotes capilares para mantener una entrada de células inflamatorias. La entrada y presencia de las células inflamatorias producen granulomas y así mantiene el estado inflamatorio crónico. La inhibición de la angiogénesis usando las formulaciones farmacéuticas de la presente invención puede prevenir la formación de los granulomas, aliviando así la enfermedad. Los ejemplos de enfermedad inflamatoria crónica incluyen, pero no se limitan a, enfermedades inflamatorias del intestino tales como enfermedad de Crohn y colitis ulcerosa, psoriasis, sarcoidosis y artritis reumatoide.

Las enfermedades inflamatorias del intestino, tales como enfermedad de Crohn y colitis ulcerosa, se caracterizan por inflamación crónica y angiogénesis en diversos sitios en el tubo gastrointestinal. Por ejemplo, la enfermedad de Crohn ocurre como una enfermedad inflamatoria transmural crónica que afecta más comúnmente al íleon distal y al colon, pero también puede ocurrir en cualquier parte del tubo gastrointestinal desde la boca hasta el ano y el área perianal. Los pacientes con enfermedad de Crohn tienen generalmente diarrea crónica asociada a dolor abdominal, fiebre, anorexia, pérdida de peso y distensión abdominal. La colitis ulcerosa también es una enfermedad crónica, no específica, inflamatoria y ulcerativa que surge en la mucosa colónica y se caracteriza por la presencia de diarrea sanguinolenta. Estas enfermedades inflamatorias del intestino generalmente se provocan por inflamación granulomatosa crónica a través del tubo gastrointestinal, que implican nuevos brotes capilares rodeados por un cilindro de células inflamatorias. La inhibición de la angiogénesis por las formulaciones farmacéuticas descritas en el presente documento debe inhibir la formación de los brotes y prevenir la formación de granulomas. Las enfermedades inflamatorias del intestino también presentan manifestaciones extraintestinales, tales como lesiones de la piel. Dichas lesiones se caracterizan por inflamación y angiogénesis y pueden ocurrir en muchos sitios distintos del tubo gastrointestinal. La inhibición de la angiogénesis por las formulaciones farmacéuticas descritas en el presente documento debe reducir la entrada de células inflamatorias y prevenir la formación de lesiones.

La sarcoidosis, otra enfermedad inflamatoria crónica, se caracteriza como un trastorno granulomatoso multisistémico. Los granulomas de esta enfermedad se pueden formar en cualquier parte en el cuerpo y, así, los síntomas dependen del sitio de los granulomas y si la enfermedad es activa. Los granulomas se crean por los brotes capilares angiogénicos proporcionando un suministro constante de células inflamatorias. Usando las formulaciones farmacéuticas descritas en el presente documento para inhibir la angiogénesis, dicha formación de granulomas puede ser inhibida. La psoriasis, también una enfermedad inflamatoria crónica y recurrente, se caracteriza por pápulas y placas de diversos tamaños. El tratamiento usando las formulaciones farmacéuticas descritas en el presente documento debe prevenir la formación de nuevos vasos sanguíneos necesarios para mantener las lesiones características y proporcionar al paciente el alivio de los síntomas.

La artritis reumatoide (AR) también es una enfermedad inflamatoria crónica caracterizada por inflamación no específica de las articulaciones periféricas. Se cree que los vasos sanguíneos en el revestimiento sinovial de las articulaciones experimentan angiogénesis. Además de formar nuevas redes vasculares, las células endoteliales

liberan factores y especies reactivas de oxígeno que conducen al crecimiento del paño y la destrucción de cartílago. Los factores implicados en la angiogénesis pueden contribuir activamente a, y ayudar a mantener, el estado crónicamente inflamado de la artritis reumatoide. El tratamiento usando las formulaciones farmacéuticas descritas en el presente documento solo o conjuntamente con otros agentes anti-AR puede prevenir la formación de nuevos vasos sanguíneos necesarios para mantener la inflamación crónica y proporcionar alivio al paciente con AR de los síntomas.

En algunas realizaciones, las formulaciones farmacéuticas de la presente invención se pueden usar para tratar enfermedades asociadas a la síntesis anormal de hemoglobina. El método comprende administrar las formulaciones farmacéuticas de la presente invención a un paciente que padece enfermedad asociada a la síntesis anormal de hemoglobina. Las formulaciones que contienen decitabina estimulan la síntesis de hemoglobina fetal debido a que el mecanismo de incorporación en ADN está asociado con la hipometilación de ADN. Los ejemplos de enfermedades asociadas a la síntesis anormal de hemoglobina incluyen, pero no se limitan a, anemia de células falciformes y beta-talasemia.

En algunas realizaciones, las formulaciones farmacéuticas descritas en el presente documento se pueden usar para controlar la expresión génica intracelular. El método comprende administrar las formulaciones farmacéuticas a un paciente que padece enfermedad asociada a niveles anormales de expresión génica. La metilación de ADN está asociada al control de la expresión génica. Específicamente, la metilación en o cerca de promotores inhibe la transcripción, mientras que la desmetilación restaura la expresión. Los ejemplos de las posibles aplicaciones de los mecanismos descritos incluyen, pero no se limitan a, inhibición terapéuticamente modulada del crecimiento, inducción de la apoptosis y diferenciación celular.

La activación génica facilitada por las formulaciones farmacéuticas descritas en el presente documento puede inducir la diferenciación de células para fines terapéuticos. La diferenciación celular se induce a través del mecanismo de hipometilación. Los ejemplos de diferenciación morfológica y funcional incluyen, pero no se limitan a, diferenciación hacia la formación de células musculares, miotubos, células de linajes eritroide y linfoide.

Los síndromes mielodisplásicos (SMD) son trastornos de células madre hematopoyéticas clonales heterogéneas asociados a la presencia de cambios displásicos en uno o más de los linajes hematopoyéticos, que incluyen cambios displásicos en las series mieloide, eritroide y megacariocítica. Estos cambios dan como resultado citopenias en uno o más de los tres linajes. Los sujetos aquejados con SMD normalmente desarrollan complicaciones relacionadas con anemia, neutropenia (infecciones) o trombocitopenia (hemorragia). Generalmente, desde aproximadamente 10 % hasta aproximadamente 70 % de sujetos con SMD desarrollan leucemia aguda. Los síndromes mielodisplásicos representativos incluyen leucemia mieloide aguda, leucemia promielocítica aguda, leucemia linfoblástica aguda y leucemia mielógena crónica.

La leucemia mieloide aguda (LMA) es el tipo más común de leucemia aguda en adultos. Varios trastornos genéticos hereditarios y estados de inmunodeficiencia están asociados con un riesgo elevado de LMA. Estos incluyen trastornos con defectos en la estabilidad del ADN que conducen a la rotura cromosómica aleatoria, tal como síndrome de Bloom, anemia de Fanconi, familias de Li-Fraumeni, ataxia-telangiectasia y agammaglobulinemia ligada al cromosoma X.

La leucemia promielocítica aguda (LPA) representa un subgrupo distinto de LMA. Este subtipo se caracteriza por blastos promielocíticos que contienen la translocación cromosómica 15; 17. Esta translocación conduce a la generación de un transcrito de fusión que comprende una secuencia de receptores de ácido retinoico y una secuencia de leucemia promielocítica.

La leucemia linfoblástica aguda (LLA) es una enfermedad heterogénea con distintas características clínicas presentadas por diversos subtipos. Se han demostrado anomalías citogenéticas recurrentes en LLA. La anomalía citogenética asociada más común es la translocación 9; 22 que conduce al desarrollo del cromosoma Filadelfia.

La leucemia mielógena crónica (LMC) es un trastorno mieloproliferativo clonal de una célula madre pluripotente, generalmente provocada por radiación ionizante. La LMC se caracteriza por una anomalía cromosómica específica que implica la translocación de cromosomas 9 y 22, creando el cromosoma Filadelfia.

Los compuestos descritos en el presente documento y sus formulaciones se pueden usar para proporcionar terapia para una SMD. En algunas realizaciones, un compuesto o su formulación puede proporcionar terapia para más de una SMD en una única administración.

En algunas realizaciones, la combinación de la invención es para su uso en el tratamiento de un síndrome mielodisplásico (SMD). En algunas realizaciones, la combinación de la invención es para su uso en el tratamiento de uno o más síndromes mielodisplásicos, leucemia, o tumores sólidos. En algunas realizaciones, la combinación de la invención es para su uso en el tratamiento de leucemia mieloide aguda (LMA). En algunas realizaciones, la combinación de la invención es para su uso en el tratamiento de leucemia promielocítica aguda (LPA) en un sujeto. En algunas realizaciones, la combinación de la invención es para su uso en el tratamiento de leucemia linfoblástica

aguda (LLA). En algunas realizaciones, la combinación de la invención es para su uso en el tratamiento de leucemia mielógena crónica (LMC).

5 En algunas realizaciones, el síndrome mielodisplásico es leucemia mieloide aguda (LMA), leucemia promielocítica aguda (LPA), leucemia linfoblástica aguda (LLA) o leucemia mielógena crónica (LMC).

En algunas realizaciones, la administración es subcutánea.

10 El tratamiento de cualquier afección descrita anteriormente, tal como crecimiento tumoral, un síndrome mielodisplásico, o una afección relacionada con la angiogénesis, se puede llevar a cabo con un nivel de eficacia. Un nivel de eficacia puede ser 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 35 %, 40 %, 45 %, 50 %, 55 %, 60 %, 62,9 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 84,4 %, 85 %, 90 %, 95 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 %. Un nivel de eficacia puede ser al menos 5 %, al menos 10 %, al menos 15 %, al menos 20 %, al menos 25 %, al menos 30 %, al menos 35 %, al menos 40 %, al menos 45 %, al menos 50 %, al menos 55 %, al menos 60 %, al menos 62,9 %, al menos 65 %, al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 84,4 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 %, al menos 97 %, al menos 98 %, o al menos 99 %.

#### Terapia de combinación

20 Los compuestos, composiciones y formulaciones de la presente invención se usan en combinación con uno o más componentes terapéuticos complementarios en donde dicho componente terapéutico complementario es un agente de activación de linfocitos T, que incluye anticuerpos inmunomoduladores. En una realización preferida, el componente terapéutico complementario comprende: (a) un agente de activación de linfocitos T y una vacuna contra el cáncer; o (b) un agente de activación de linfocitos T y un inhibidor de IDO; opcionalmente en donde el componente terapéutico complementario comprende además un adyuvante.

25 En algunas realizaciones, un agente complementario puede ser una forma iónica, sal, solvato, isómero, tautómero, N-óxido, éster, profármaco, isótopo o forma protegida de un agente complementario (por ejemplo, las sales o tautómeros o isómeros o N-óxidos o sus solvatos).

30 1. Agentes de activación de linfocitos T, que incluyen anticuerpos inmunomoduladores

Los componentes terapéuticos complementarios adecuados para su uso en las combinaciones de la invención incluyen agentes de activación de linfocitos T.

35 Dichos agentes incluyen, por ejemplo, los que promueven la activación de linfocitos T y convierten los linfocitos T efectores en resistentes a linfocitos T reguladores (Tregs), que incluyen agentes que bloquean CTLA-4.

40 La terapia con mAb anti-CTLA-4 representa una estrategia antitumoral implicada en aumentar el sistema inmunitario mediado por células bloqueando las vías inhibitoras de la activación de linfocitos T (O'Day SJ, et al. Cancer 2007; 110:2614-2627). Se ha mostrado que el bloqueo de la señalización de CTLA-4 induce el rechazo tumoral en modelos animales, cuando se usa solo o combinado con otras estrategias inmunoterapéuticas (Leach DR, et al. Science 1996;271:1734-1736; Weber J, Semin Oncol 2010;37:430-439). Los mAb anti-CTLA-4 están demostrando ser eficaces en inducir las respuestas clínicas de larga duración y mejoraron la supervivencia en pacientes con melanoma cutáneo metastásico (Hodi FS, et al. N Engl J Med 2010;363:711-23; Di Giacomo A, et al. Cancer Immunol Immunother 2011;60:467-77).

45 En realizaciones en las que el componente terapéutico complementario comprende un agente que bloquea la señalización de CTLA-4 (por ejemplo, un mAb anti-CTLA-4 como se describe más adelante), el compuesto de la fórmula I o su sal se administran preferentemente primero (como una terapia de sensibilización), seguido por la administración del agente que bloquea CTLA-4 (por ejemplo, mAb anti-CTLA-4).

50 Los ejemplos no limitantes de mAb anti-CTLA-4 adecuados incluyen Tremelimumab (CP675,206) (Pfizer), un anticuerpo monoclonal de isotipo IgG2 e Ipilimumab (MDX-010) (BMS/Medarex), un anticuerpo monoclonal de isotipo IgG1.

Tremelimumab se describe en, por ejemplo, el documento de patente WO00/037504 y; y en el documento de patente WO2006/048749.

60 Ipilimumab se describe en, por ejemplo, el documento de patente WO01/014424; y en el documento de patente WO2012/033953.

65 Otra clase de agentes de activación de linfocitos T adecuados para su uso como componentes terapéuticos complementarios son los agentes que eliminan o suprimen la tolerancia periférica y/o reducen los números de Tregs en el sitio tumoral. Los ejemplos de dichos agentes incluyen agentes que bloquean el receptor-1 de muerte programada (PD-1), el ligando del receptor-1 de muerte programada (PD-L1) y el ligando del receptor-2 de muerte

programada (PD-L2), que incluyen los anticuerpos contra PD-1, PD-L1 y PD-L2.

La proteína de muerte programada 1 (PD-1), un receptor coinhibidor de linfocitos T, y sus ligandos, PD-L1 y PD-L2, desempeñan una función crucial en la capacidad de las células tumorales para evadir el sistema inmunitario del hospedador. El bloqueo de las interacciones entre PD-1 y PD-L1/2 media en la actividad antitumoral en modelos preclínicos (Iwai Y et al., Proc Natl Acad Sci USA (2002) 99: 12293-12297). Los estudios identificaron actividad clínica de tanto mAb anti-PD-1 y anti-PD-L1 en pacientes con cánceres avanzados, que incluyen cáncer de pulmón de células no pequeñas, melanoma y cáncer de células renales (Brahmer JR, et al. N Engl J Med. 2012 Jun 2; Topalian SL, et al. N Engl J Med. 2012 Jun 2).

Los ejemplos no limitantes de adecuados mAbs anti-PD-1 y anti-PD-L1 incluyen BMS-936558 (Nivolumab, ONO 4538), un anticuerpo IgG4 monoclonal completamente humano contra PD-1 y BMS-936559 (un anticuerpo monoclonal IgG4, específico de PD-L1, completamente humano (S228P) que inhibe la unión de PD-L1 a PD-1 y CD80) descrito en el documento de patente WO2007/005874. Estos mAbs puede ser administrados según las recomendaciones de los fabricantes, y dosificaciones adecuadas para Nivolumab se describen en los documentos de patente WO2006/121168.

Otros agentes anti-PD-1 incluyen MK-3475 (Lambrolizumab), un anticuerpo monoclonal IgG4 anti-PD-1 humanizado. Las dosificaciones adecuadas para Lambrolizumab incluyen 10 mg/kg una vez cada 2 semanas.

Otros agentes anti-PDL-1 incluyen MED14736 (un anticuerpo monoclonal IgG1 humano contra PDL-1) y MPDL3280A (es un anticuerpo monoclonal IgG humano cuyo dominio Fc se ha manipulado específicamente para prevenir la citotoxicidad celular dependiente de anticuerpo). Estos mAbs puede ser administrados según las recomendaciones de los fabricantes.

Otras clases de agentes de activación de linfocitos T adecuados para su uso como componentes terapéuticos complementarios incluyen agonistas para CD137, CD40 y OX40. Los ejemplos de dichos agentes incluyen anticuerpos monoclonales que actúan de agonistas de CD137, CD40 u OX40.

CD137 también se conoce como el receptor de 4-1BB (4-1BBR), una glucoproteína que es un miembro de la superfamilia 1-4 del receptor del factor de necrosis tumoral y se une a un ligando de alta afinidad (4-1BBL) expresado en varias células presentadoras de antígenos tales como macrófagos y linfocitos B activados. Un agonista adecuado para CD137 es PF-05082566, un mAb IgG2 completamente humano que se une al dominio extracelular de CD137 humano con alta afinidad y especificidad (véase Fisher et al. (2012) Cancer Immunology, Immunotherapy, Volumen 61, edición 10, pp 1721-1733).

Otras clases de agentes de activación de linfocito T adecuados para su uso como componentes terapéuticos complementarios incluyen agonistas para ICOS, GITR, MHC, CD80, CD86, galectina 9 y LAG-3. Los ejemplos de dichos agentes incluyen anticuerpos monoclonales que actúan de agonistas de ICOS, GITR, MHC, CD80, CD86, galectina 9 y LAG-3.

También se pueden usar combinaciones de dos o más agentes de activación de linfocitos T (por ejemplo, combinaciones de anticuerpos bloqueantes de CTLA-4 y/o anticuerpos contra PD-1 y PD-L1 y/o PD-L2) como componentes terapéuticos complementarios para su uso según la invención.

## 2. Vacunas contra el cáncer

Las vacunas contra el cáncer que estimulan la respuesta inmunitaria adaptativa encuentran aplicación como componentes terapéuticos complementarios para su uso en las combinaciones de la invención.

Las vacunas contra el cáncer presentan antígeno(s) asociado(s) a tumor (TAA) al sistema inmunitario de un hospedador para provocar que el hospedador organice una respuesta inmunitaria celular adaptativa y/o humoral terapéutica, por ejemplo mediante activación de linfocitos T y/o activación de células dendríticas (DC). Las vacunas contra el cáncer se pueden basar en células tumorales completas, de extractos o fracciones de células tumorales. También son adecuadas para su uso según la invención las vacunas contra el cáncer de subunidad, vacunas contra el cáncer conjugadas y vacunas de ADN.

Se puede usar cualquier antígeno adecuado o combinación de TAAs en las vacunas de la invención, que incluyen, por ejemplo, ácido(s) nucleico(s) (ADN o ARN) que codifican uno o más TAA(s); proteína(s) o péptido(s); glucoproteína(s); polisacárido(s) y otro(s) hidrato(s) de carbono(s)); proteína(s) de fusión; lípido(s); glucolípido(s); peptidomimético(s) de polisacáridos; hidrato(s) de carbono(s) y proteína(s) en mezcla; conjugado(s) de hidrato de carbono-proteína; células o sus extractos o células tumorales o sus extractos.

Las vacunas de subunidad se basan en antígenos sintéticos o aislados creados usando técnicas (bio)químicas y/o recombinantes (por ejemplo, péptidos recombinantes, síntesis o purificación de proteínas y/o hidratos de carbono). Las vacunas conjugadas implican el enlace (normalmente por reticulación química) de antígenos relativamente no

5 inmunogénicos (normalmente basados en hidratos de carbono) a proteínas transportadoras más fuertemente inmunogénicas. Las vacunas de ADN/ARN suministran el (los) antígeno(s) en forma de ácido nucleico codificante y así se basan en la expresión endógena de la secuencia codificante después de la administración. Dichas vacunas normalmente requieren un vector apropiado (por ejemplo, plásmido, vesícula viral o lípido) para administrar el ácido nucleico codificante al compartimento apropiado del hospedador.

Las vacunas contra el cáncer adecuadas para su uso en combinación con las composiciones, formulaciones y compuestos de la invención se pueden clasificar según la naturaleza del TAA, e incluyen las vacunas de antígeno de cáncer-testículo (CTA).

10 Los antígenos de cáncer/testículo (CTAs) son altamente inmunogénicos sin expresión o expresión altamente restringida en tejidos normales (testículo y placenta). Los ejemplos incluyen vacunas basadas en: NY-ESO-1, LAGE-1, MAGE-A1, -A2, -A3, -A4, -A6, -A10, -A12, CT7, CT10, GAGE1-6, GAGE 1-2, BAGE, SSX1-5, SSX 2, HAGE, PRAME, RAGE-1, XAGE-1, MUC2, MUC5B, B7,1/2, CD28, B7-H1, HLA, CD40L y HMW-MAA. En algunas realizaciones, las vacunas de CTA incluye las basadas en MAGE-A1, MAGE-A3 (por ejemplo, recMAGE-A3), NY-ESO-1 y PRAME. Los anteriores CTA se pueden usar solos o en combinación, por ejemplo, se puede usar una mezcla de dos o más de MAGE-A1, MAGE-A3 (por ejemplo, recMAGE-A3), NY-ESO-1 y/o PRAME.

20 MAGE-A1 se describe en, por ejemplo, el documento de patente WO2002/094859. Se puede usar sin adyuvantar o adyuvantado.

25 MAGE-A3 (y en particular recMAGE-A3), o Astuprotimut-R) se describe en, por ejemplo, el documento de patente WO1999/040188. Se puede usar sin adyuvantar o adyuvantado, por ejemplo en forma de Astuprotimut-R. Se puede usar a una dosis de aproximadamente 1 a aproximadamente 1000 µg de proteína. En algunas realizaciones, la dosis es aproximadamente 30 - aproximadamente 300 µg.

NY-ESO-1 se describe en, por ejemplo, el documento de patente WO2005/032475. Se puede usar sin adyuvantar o adyuvantado, y se pueden usar con otros agentes quimioterapéuticos (incluyendo, por ejemplo, doxorubicina).

30 PRAME (también denominado el antígeno de melanoma preferencial, MAPE, DAGE y OIP4) se describe en, por ejemplo, el documento de patente WO2006/071983. Se puede usar sin adyuvantar o adyuvantado.

35 Los diversos antígenos de CTA descritos anteriormente se pueden usar en el contexto de diversas vacunas basadas en células, por ejemplo, vacunas basadas en células dendríticas. Por ejemplo, en un paradigma de tratamiento basado en células dendríticas, las células se cargan (pulsadas, sensibilizadas o enriquecidas) con un antígeno o antígenos particulares (por ejemplo, MAGE-A1, MAGE-A3 (por ejemplo recMAGE-A3), NY-ESO-1 o PRAME) y entonces se administran para promover una respuesta inmunitaria. Este enfoque se pueden usar conjuntamente con diversos adyuvantes, que incluyen, por ejemplo, agonistas de TLR (por ejemplo, imiquimod).

40 En un ejemplo ilustrativo de un paradigma de tratamiento basado en células, el paciente recibe 3 ciclos mensuales del compuesto de la fórmula I (o su sal) durante 5 días, con cada ciclo seguido por 2 vacunas semanales que comprenden células dendríticas autólogas pulsadas con péptidos de solapamiento derivados de MAGE-A1, MAGE-A3 y NY-ESO-1 de longitud completa (JPT Peptide Technologies, Berlín, Alemania). Imiquimod se administra en el sitio de vacuna antes y después de la vacunación, para promover la infiltración de células inmunitarias en el sitio de vacunación.

Otra clase adecuada de vacunas contra el cáncer son las basadas en antígenos de diferenciación, que incluyen MART-1, tirosinasa y Gp100.

50 En algunas realizaciones, las vacunas contra el cáncer se usan en combinación con uno o más adyuvantes como componentes terapéuticos complementarios adicionales para su uso en las combinaciones de la invención, como se describen a continuación.

### 55 3. Inhibidores deIDO

Los componentes terapéuticos complementarios adecuados para su uso con las combinaciones de la invención incluyen inhibidores de indolamina 2,3-dioxigenasa (IDO).

60 LaIDO es un regulador inmunitario importante, que tiene una función clave en inmunovigilancia tumoral. El escape inmunitario es un rasgo fundamental del cáncer en el que la citocina de tipo Th1 interferón-γ (IFN-γ) parece desempeñar una función clave. Entre otras vías bioquímicas tumorocidas, IFN-γ induce IDO en una variedad de células que incluyen macrófagos, células dendríticas (DCs) y células tumorales. LaIDO funciona previniendo la activación de linfocitos T y bloqueando las respuestas inmunitarias a células cancerosas. Aunque son desconocidas las vías responsables del agotamiento de triptófano, la hipermetilación podría ser uno de los mecanismos causantes que dan como resultado el dejar de organizar una respuesta inmunitaria.

Los inhibidores de IDO pueden, por tanto, aumentar la eficacia de la inmunoterapia contra el cáncer, y se pueden usar en las combinaciones de la invención para prevenir el escape inmunitario/tolerancia inmunológica mediada por IDO (véase, por ejemplo, Sucher et al. (2010) IDO-Mediated Tryptophan Degradation in the pathogenesis of Malignant Tumor Disease. International Journal of Tryptophan Research: 3, 113-120).

Se puede usar cualquier inhibidor de IDO adecuado según la invención. También son adecuadas isoenzimas de inhibidores de IDO, que incluyen, por ejemplo, triptófano (2,3)-dioxigenasa (TDO) y/o IDO2. Así, el inhibidor de IDO para su uso con las combinaciones de la invención puede inhibir, directamente o indirectamente, IDO y/o TDO y/o IDO2.

Los inhibidores de IDO adecuados incluyen los basados en productos naturales, tales como el extracto de col brasinina, el extracto de hidroide marino anulina B y el extracto de esponja marina exiguamina A, que incluye sus derivados sintéticos.

Otros inhibidores de IDO adecuados incluyen análogos moleculares de su sustrato, el triptófano. Dichos inhibidores incluyen el mimético de triptófano 1-metil triptófano (1-MT). El 1-MT ocurre como dos estereoisómeros: el isómero L inhibe significativamente IDO1, mientras que el isómero D es más específico para IDO2. El isómero D (D-1-MT, indoximod) está siendo actualmente evaluado en un ensayo de fase II, de doble ciego, aleatorizado, controlado por placebo.

Otros inhibidores de IDO adecuados incluyen INCB24360, un inhibidor de hidroxiamidina de molécula pequeña. A diferencia de los inhibidores basados en 1-MT, los inhibidores de hidroxiamidina también inhiben la triptófano (2,3)-dioxigenasa (TDO), una enzima con actividad idéntica a IDO.

Otro inhibidor de IDO más adecuado es NLG919.

Los agentes que no inhiben la enzima IDO directamente, sino que bloquean los efectos aguas abajo de la activación de IDO, también son adecuados para su uso con las combinaciones de la invención. Dichos inhibidores de la vía de IDO pretenden estar englobados por el término "inhibidores de IDO", como se usa en el presente documento.

#### 4. Adyuvantes

Los componentes terapéuticos complementarios adecuados para su uso con las combinaciones de la invención incluyen adyuvantes.

Un adyuvante es cualquier compuesto o composición que aumente la intensidad y/o duración de una respuesta inmunitaria a un antígeno extraño con respecto a la provocada por el antígeno solo. Las características funcionales clave de un adyuvante incluyen, por tanto, su capacidad para potenciar una respuesta inmunitaria apropiada al antígeno diana, seguridad a largo plazo en la aplicación generalizada y flexibilidad en el uso con diferentes aplicaciones de antígeno/enfermedad. Un adyuvante puede ser, por ejemplo, un agente que no constituye un antígeno específico, sino que refuerza la intensidad y/o longevidad de la respuesta inmunitaria (incluyendo, por ejemplo, la respuesta inmunitaria innata) a un antígeno co-administrado.

Si se usa un adyuvante como componente terapéutico complementario, el compuesto y adyuvante se pueden coadministrar, es decir, simultáneamente o secuencialmente. Cuando los adyuvantes se administran simultáneamente, se pueden administrar en las mismas formulaciones o formulaciones separadas, y en el último caso en los mismos sitios o en sitios separados, pero se pueden administrar al mismo tiempo. Los adyuvantes se pueden administrar secuencialmente, cuando se separa temporalmente la administración de los al menos dos adyuvantes. La separación en el tiempo entre la administración de los dos adyuvantes puede ser cuestión de minutos o puede ser mucho mayor. La separación en el tiempo puede ser inferior a 14 días, inferior a 7 días, o inferior a 1 día. La separación en el tiempo también pueden ser, por ejemplo, con un adyuvante en la sensibilización y uno en el refuerzo, o uno en la sensibilización y la combinación en el refuerzo, o la combinación de uno en la sensibilización y uno en el refuerzo.

Los ejemplos no limitantes de adyuvantes adecuados/clases de adyuvante incluyen ligandos de receptores de reconocimiento de patógenos (PRRs). Estos incluyen ligandos/agonistas para receptores de RIG-1, ligandos de NOD-proteína, ligandos de receptor del tipo toll (TLR) y ligandos de lectina de tipo C. Los ligando de PRR adecuados se unen a uno o más de TLR1, TLR2, TLR3, TLR4, TLR5, TLR6, TLR7, TLR8, TLR9, TLR10 y TLR11, es decir, ligandos de TLR. En algunas realizaciones, un ligando es un ligando de TLR9 o TLR4. En algunas realizaciones, un ligando es un adyuvantes que comprende ligandos de TLR para dos o más TLRs diferentes, que incluyen, por ejemplo, adyuvantes que comprenden ligandos de TLR dobles o triples, por ejemplo TLR2 y/o TLR6 y/o TLR3 y/o TLR9. En algunas realizaciones, un ligando de TLR triple comprende un ligando de TLR2, TLR3 y TLR9. En algunas realizaciones, el adyuvante comprende una combinación de: (i) un agonista de TLR 7/8 con un agonista de TLR 9; (ii) un agonista de TLR 7/8 con un agonista de TLR 4; o (iii) un agonista de TLR 9 con un agonista de TLR 3.

Los adyuvantes basados en TLR se revisan en Steinhagen et al. (2011) TLR-Based Immune Adjuvants Vaccine 29(17): 3341-3355.

5 Las combinaciones de la invención también se pueden usar adicionalmente con otros tratamientos quimioterapéuticos y/o no quimioterapéuticos tales como radioterapia, cirugía y trasplante de células madre. Por ejemplo, las combinaciones de la invención se pueden usar tras cirugía y/o radioterapia de un tumor primario para prevenir o retrasar la recaída/metástasis. En el caso de uso adicional con trasplantes de células madre, las combinaciones se pueden usar como un "puente al trasplante", donde las combinaciones de la invención se usan para lograr una tasa de respuesta suficiente (por ejemplo, curativa) para el trasplante de células madre. Las combinaciones también se pueden usar a una dosis de mantenimiento más baja después del trasplante de células madre para reducir / prevenir la reaparición.

### Ejemplos

15 EJEMPLO 1: Efectos moleculares, fenotípicos y funcionales *in vivo* de SGI-110 combinado con mAb inmunoestimulante en un modelo de cáncer murino

Se utiliza un modelo singénico de cáncer murino para evaluar, a nivel preclínico, los efectos moleculares, fenotípicos y funcionales *in vivo* de la sal de sodio de un compuesto de la fórmula I-1 (SGI-110), administrado solo o combinado con mAb inmunoestimulante anti-murino.

El estudio analiza: (a) la eficacia terapéutica de la administración combinada de SGI-110 y mAb inmunoestimulante en cáncer murino; y (b) la participación de la respuesta inmunitaria del hospedador en los posibles efectos antitumorales de la administración terapéutica más eficaz de SGI-110 y mAb inmunoestimulante.

#### 25 Actividad inmunomoduladora *in vitro* de SGI-110 en cáncer murino

Se llevarán a cabo experimentos preliminares *in vitro* para estudiar los efectos inmunomoduladores de SGI-110 sobre las células de carcinoma de mama murino, TS/A, seleccionadas por su inmunofenotipo, tasa de crecimiento y captura tumoral en ratones. Se tratan células *in vitro* según un programa estándar y los análisis de RT-PCR y RT-PCR cuantitativa en tiempo real investigan la eficacia de tratamiento para inducir y/o regular por incremento CTA murino (incluyendo P1A, familia de Mage-a) en células cancerosas.

#### 35 Eficacia terapéutica de SGI-110 en combinación con mAb inmunoestimulante en cáncer de ratón

Se administra tratamiento con mAb inmunoestimulante ya sea simultáneamente o posteriormente a programas de SGI-110 según la pauta posológica descrita a continuación. Se injertan ratones BALB/c (6 por grupo) en la región del flanco con células TS/A y se tratan con SGI-110, administrado solo o en combinación con los mAbs anti-CTLA-4 murino o anti-PD-1 murino. Se evalúan la eficacia y tolerabilidad de los tratamientos por mediciones de volumen tumoral y peso corporal, respectivamente.

- Día -6: Se inoculan células murinas de TS/A por vía subcutánea en la región del flanco de todos los ratones.
- Día 0: Después de un periodo de latencia de 7 días, se separan los ratones que llevan injertos de tumor claramente palpables y visibles (diámetro  $\geq 0,2$  cm) en diferentes grupos de tratamiento (6 animales por grupo).

45 Programa de tratamiento: administración subcutánea (SC) durante 5 días ("SC5")

- Grupo 1: Vehículo qdx5 SC en los días 1-5
- Grupo 2: SGI-110, 3 mg/kg qdx5 SC en los días 1-5
- Grupo 3: anti-CTLA-4 murino en los días 2, 5, 8
- Grupo 4: anti-CTLA-4 murino en los días 8, 11, 14
- Grupo 5: SGI-110, 3 mg/kg qdx5 SC (en los días 1-5) + anti-CTLA-4 murino (en los días 2, 5, 8) (programa simultáneo)
- Grupo 6: SGI-110, 3 mg/kg qdx5 SC (en los días 1-5) + anti-CTLA-4 murino (en los días 8, 11, 14) (programa posterior)
- Grupo 7: anti-PD-1 murino en los días 2, 5, 8
- Grupo 8: anti-PD-1 murino en los días 8, 11, 14
- Grupo 9: SGI-110, 3 mg/kg qdx5 SC (en los días 1-5) + anti-PD-1 murino (en los días 2, 5, 8) (programa simultáneo)
- Grupo 10: SGI-110, 3 mg/kg qdx5 SC (en los días 1-5) + anti-PD-1 murino (en los días 8, 11, 14) (programa posterior)

Programa de tratamiento: i.p. semanalmente

- 50 Grupo 11: Vehículo (3 inyecciones i.p. cada 3 horas) en los días 1 y 8



- Grupo 12: SGI-110, 36,6 mg/kg día (3 inyecciones i.p. cada 3 horas) en los días 1 y 8  
 Grupo 13: anti-CTLA-4 murino en los días 3, 6, 9  
 Grupo 14: SGI-110, 36,6 mg/kg día (3 inyecciones i.p. cada 3 horas) en los días 1 y 8 + anti-CTLA-4 murino (en los días 3, 6, 9)

Eficacia terapéutica del programa SC5

- 5 Basándose en los resultados generados por la administración *in vivo* de SGI-110 según el programa SC5 (véase anteriormente), se prueba una dosis única del programa "SC semanal" de administración de SGI-110 en combinación con el mAb inmunoestimulante. El tratamiento de mAb se administra ya sea simultáneamente o posteriormente a los programas de SGI-110. Para este fin, se injertan ratones BALB/c (6 por grupo) en la región del flanco con células TS/A y se tratan con SGI-110, administrado solo o en combinación con los mAbs anti-CTLA-4 murino o anti-PD-1 murino. Se evalúa la eficacia y tolerabilidad de los tratamientos por mediciones de volumen tumoral y peso corporal, respectivamente.

Programa de tratamiento: SC semanal.

- Grupo 1: Vehículo SC semanal en los días 1, 8, 15  
 Grupo 2: SGI-110, 24,4 mg/kg SC semanal en los días 1, 8, 15  
 Grupo 3: anti-CTLA-4 murino en los días 3, 6, 9  
 Grupo 4: anti-CTLA-4 murino en los días 17, 20, 23  
 Grupo 5: SGI-110, 24,4 mg/kg SC semanal (en los días 1, 8, 15) + anti-CTLA-4 murino (en los días 3, 6, 9) (programa simultáneo)  
 Grupo 6: SGI-110, 24,4 mg/kg SC semanal (en los días 1, 8, 15) + anti-CTLA-4 murino (en los días 17, 20, 23) (programa posterior)  
 Grupo 7: anti-PD-1 murino en los días 3, 6, 9  
 Grupo 8: anti-PD-1 murino en los días 17, 20, 23  
 Grupo 9: SGI-110, 24,4 mg/kg SC semanal (en los días 1, 8, 15) + anti-PD-1 murino (en los días 3, 6, 9) (programa simultáneo)  
 Grupo 10: SGI-110, 24,4 mg/kg SC semanal (en los días 1, 8, 15) + anti-PD-1 murino (en los días 17, 20, 23) (programa posterior)

15 Programa de tratamiento: i.p. semanal.

- Grupo 11: Vehículo (3 inyecciones i.p. cada 3 horas) en los días 1 y 8  
 Grupo 12: SGI-110, 36,6 mg/kg día (3 inyecciones i.p. cada 3 horas) en los días 1 y 8  
 Grupo 13: SGI-110, 36,6 mg/kg día (3 inyecciones i.p. cada 3 horas) en los días 1 y 8 + anti-CTLA-4 murino (en los días 3, 6, 9)

Correlatos moleculares, fenotípicos y funcionales de SGI-110 combinado con mAb inmunoestimulante

- 20 Se investigan las modificaciones inducidas *in vivo* por la pauta terapéutica más eficaz utilizando SGI-110, combinado con el mAb inmunoestimulante en tanto tumores como compartimentos inmunitarios del hospedador. Para este fin, basándose en los resultados generados en la etapa 2, se injertan ratones BALB/c (6 por grupo) en la región del flanco con células TS/A y se tratan con la pauta terapéutica más eficaz de SGI-110, administrado en combinación con un mAb inmunoestimulante.

- 25 Se evalúa la hipometilación de ADN, así como la modulación del perfil inmunitario de tejidos de tumor murino, cortados de ratones de control y tratados, por ensayos moleculares (incluyendo análisis de PCR específica de metilación cuantitativa, RT-PCR y RT-PCR cuantitativa en tiempo real). Se caracterizan los infiltrados inmunitarios de tejidos neoplásicos para la presencia y frecuencia relativa de linfocitos T activados por inmunohistoquímica (IHC).  
 30 Además, se retiran quirúrgicamente tejidos normales de ratones de control y tratados y se conservan adecuadamente para los siguientes análisis experimentales (véase a continuación).

Efectos inmunomoduladores *in vivo* de la administración combinada de SGI-110 y mAb inmunoestimulante, en tejidos benignos

- 35 Se investiga la asociación de la actividad inmunomoduladora *in vivo* con fenómenos de autoinmunidad sistémica (incluyendo la inducción y/o modulación de genes relacionados con la inmunidad en tejidos normales).

- 40 Se evalúan la presencia y los niveles de expresión de CTA murino (es decir, P1A, familia de Mage-a) por análisis de RT-PCR y RT-PCR cuantitativa en tiempo real en al menos 4 muestras benignas (incluyendo el corazón, pulmón, hígado, intestino, riñón, músculo y piel). Además, se caracterizan infiltrados inmunitarios de tejidos normales para la presencia y frecuencia relativa de linfocitos T activados por IHC.

Contribución de la respuesta inmunitaria a la actividad antitumoral de las terapias de combinación investigadas

- 5 Se investiga la participación de la respuesta inmunitaria del hospedador en los posibles efectos antitumorales del régimen combinado seleccionado. Se injertan tanto cepas de ratón inmunocompetentes (es decir, BALB/c) como inmunodeficientes (es decir, ratones sin pelo atímicos deficientes en linfocitos T y SCID/Beige deficientes en linfocitos T, linfocitos B y linfocitos citotóxicos espontáneos) (6 ratones por grupo) en la región del flanco con células TS/A y se tratan con la pauta terapéutica elegida. Se evalúa la eficacia del tratamiento por evaluación del volumen tumoral, cuyo análisis comparativo permite determinar la contribución de la inmunidad de linfocitos T, B y NK a la presunta actividad antitumoral de quimio-inmunoterapias combinadas.
- 10 Se puede evaluar la modulación de la respuesta antitumoral de linfocitos T mediante MLTC, proliferación celular, liberación de IFN-g y/o ensayos de citotoxicidad.

EJEMPLO 2: Inhibición de la metilación de ADN por compuestos de la invención

- 15 Se probó la actividad desmetilante de los compuestos en un ensayo de proteína verde fluorescente (GFP) basado en células. En el ensayo, una disminución en la metilación resultante de la exposición a un inhibidor de metilación conduce a la expresión de GFP, y se puntúa fácilmente.

20 Se usó la línea celular CMV-EE210 que contiene el transgén GFP epigenéticamente silenciado para ensayar la reactivación de la expresión de GFP por citometría de flujo. Se preparó CMV-EE210 transfectando células NIH 3T3 con el plásmido pTR-UF/UF1/UF2, que contenía pBS(+) (Stratagene, Inc.) con un promotor de citomegalovirus (CMV) que conduce un gen GFP humanizado adaptado para la expresión en células de mamífero. Después de la transfección, se seleccionaron inicialmente células que expresan GFP de alto nivel por análisis de FACS y clasificación usando un citómetro MoFlo (Cytomation, Inc.).

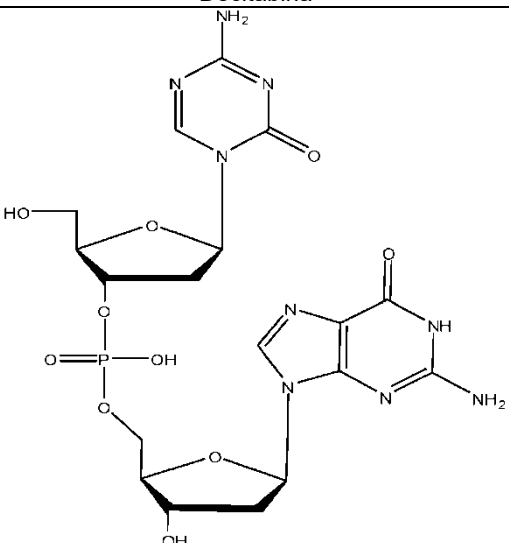
25 Se usó decitabina, un potente inhibidor de DNMT1 de mamífero, como control positivo. Para cribar para la reactivación de CMV-EE210, se añadió decitabina (1  $\mu$ M) o un compuesto de prueba (30-50  $\mu$ M) a medio completo (DMEM libre de rojo de fenol (Gibco, Life Technologies) complementado con 10 % de suero bovino fetal (Hyclone)). Entonces se sembraron las células hasta 30 % de confluencia (~5000 célula/pocillo) en una placa de 96 pocillos que contenía los compuestos de prueba, y se cultivaron durante tres días a 37 °C en 5 % de CO<sub>2</sub>.

30 Se examinaron las placas bajo un microscopio fluorescente usando un filtro de excitación a 450-490 (cubo de 13 filtros, Leica, Deerfield Ill). Se puntuaron los pocillos g1 positivo, g2 positivo o g3 si se expresó GFP en 10 %, 30 %, >75 % de las células viables, respectivamente.

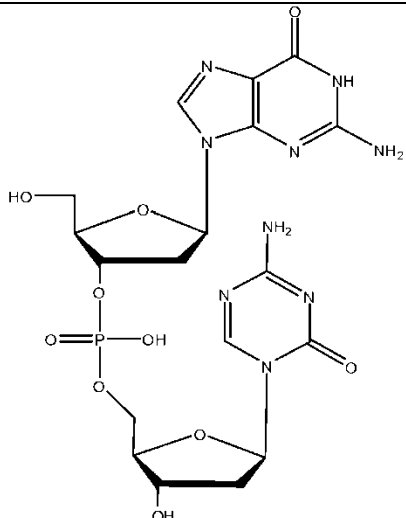
35 La Tabla 1 proporciona los resultados de la prueba para decitabina y los compuestos de prueba como inhibidores de metilación de ADN. GFP<sub>50</sub> es la concentración de un inhibidor a la que el nivel de expresión de proteína verde fluorescente (GFP) se reduce desde g3 hasta g1/2. La Tabla 1 demuestra que los compuestos probados inhibieron la metilación de ADN eficazmente a bajas concentraciones, dando como resultado la reactivación de la transcripción génica de GFP.

40

TABLA 1.

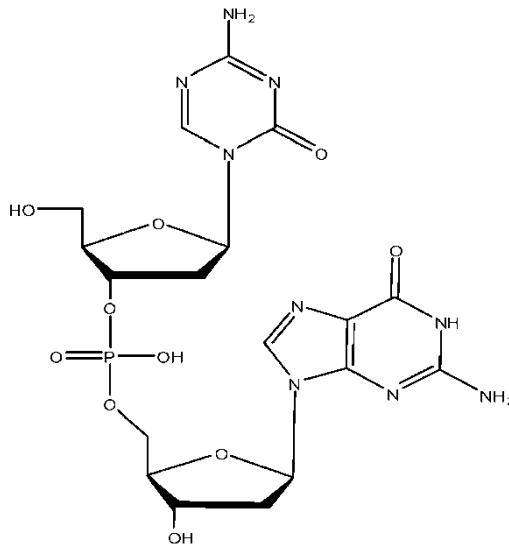
Compuesto	Nivel de expresión de GFP	GFP <sub>50</sub> (nM)
Decitabina	g3	500
 <p>I-1:</p>	g3	400

(continuación)

Compuesto	Nivel de expresión de GFP	GFP50 (nM)
Decitabina	g3	500
	g3	700

EJEMPLO 3: Estabilidad de un compuesto representativo en formulaciones de disolvente.

- 5 Se investigó la estabilidad de un compuesto de la invención en diversas formulaciones en diversas condiciones de almacenamiento. Se determinó por HPLC la estabilidad en los intervalos de tiempo diseñados. Los resultados se resumen en la Tabla 2 para las formulaciones que comprenden una sal de sodio del compuesto I-1 (es decir, SGI-110):



10

TABLA 2.

Formulación	Condiciones de almacenamiento	Momento de tiempo	Porcentaje de compuesto detectado	% de descomposición por hora
agua, pH 7,0	2-8 °C	0	95,8 %	0,14
		5 horas	95,1 %	
agua, pH 7,0	Temperatura ambiente	0	95,8 %	1,1
		5 horas	90,4 %	
DMSO / agua (1:1, p/p)	25 °C/60 % de humedad relativa	0	93,7 %	0,72
		5 horas	90,1 %	
DMSO / agua (3:1, p/p)	25 °C/60 % de humedad relativa	0	96,6 %	0,10
		24 horas	94,2 %	
Propilenglicol / Glicerina (70:30, v/v)	Temperatura ambiente	0	96,8 %	0,021
		24 horas	96,3 %	

(continuación)

Formulación	Condiciones de almacenamiento	Momento de tiempo	Porcentaje de compuesto detectado	% de descomposición por hora
Propilenglicol / Glicerina / Etanol (65:25:10, p/p/w)	2-8 °C	0	95,8 %	0,00032
		3 meses	95,1 %	
	25 °C / 60 % de humedad relativa	0	95,8 %	0,013
		3 meses	67,6 %	

La disolución de SGI-110 en agua a pH 7, el pH al que los compuestos de esta clase son los más estables, condujo a la rápida descomposición en algunas horas, incluso a temperaturas más bajas, haciéndolo inadecuado para el proceso de fabricación. El uso de DMSO / agua (1:1) dio resultados ligeramente mejores a temperaturas más altas. Se observó una ligera mejora en el uso de la formulación 3:1 de DMSO / agua. Dicho compuesto es estable en DMSO anhidro, por tanto, un disolvente de elección para el proceso de fabricación.

Con respecto a la selección de disolventes farmacéuticamente aceptables para la formulación final lista para administración, el sistema anhidro de propilenglicol / glicerina proporcionó la mejor estabilidad. La formulación final se preparó sustituyendo pequeñas cantidades de propilenglicol y glicerina con etanol, para proporcionar propilenglicol / glicerina / etanol (65:25:10). Esta formulación fue la única de varias probadas que proporcionaron una gran mejora en la solubilidad y estabilidad del compuesto a tanto temperaturas más altas como más bajas.

Basándose en los experimentos realizados en agua, se podría haber esperado una mejora de 10 veces en la estabilidad tras cambiar de condiciones de almacenamiento a temperatura ambiente a más frías (2-8 °C). Sin embargo, en el sistema de propilenglicol / glicerina / etanol (65:25:10), el cambiar de condiciones de almacenamiento más calientes a más frías proporcionó una mejora de 40 veces en la estabilidad. Los efectos combinados del enfriamiento más la adición de etanol al sistema de propilenglicol / glicerina proporcionó una mejora de 66 en la estabilidad. Podrían no haberse esperado dichas grandes mejoras en la estabilidad de SGI-110 durante el almacenamiento.

El sistema de propilenglicol / glicerina / etanol (65:25:10) proporcionó SGI-110 como solución, que fue suave, fluida y adecuada para paso a través de una aguja de 23 de calibre sin complicaciones u obstrucción. Se determinó que la máxima solubilidad del compuesto en este medio era aproximadamente 130-150 mg/mL, que se compara favorablemente con la solubilidad acuosa de 20 mg/mL. La buena estabilidad química, tomada conjuntamente con la excelente solubilidad, identificó el sistema de glicol / glicerina / etanol (65:25:10) como una formulación para su uso en experimentos animales.

#### EJEMPLO 4: Estudios en animales con la formulación del Ejemplo 3

Se administró la formulación de glicol / glicerina / etanol (65:25:10) del Ejemplo 3, que contiene 100 mg/mL de base libre equivalente de la sal de sodio del compuesto I-1, a animales vivos. Se usó una formulación análoga de decitabina para comparación (vial de 50 mg de polvo de decitabina liofilizado reconstituido hasta 10 mg/mL con agua para inyección y administrada como infusiones diluyendo en bolsas para infusión).

La administración de una dosis única de las formulaciones a monos (10 mg/kg) produjo mayores concentraciones fisiológicas del compuesto I-1 ( $C_{\text{máx}}$  1,130 ng/mL; ABC de 1,469 ng•h/mL) que de decitabina ( $C_{\text{máx}}$  160 ng/mL; ABC de 340 ng•h/mL).

En un estudio de dosis repetidas, se dosificaron monos 3x semanalmente por vía subcutánea (3 mg/kg). En el día 15, la exposición sistémica al compuesto I-1 ( $C_{\text{máx}}$  181 ng/mL; ABC de 592 ng•h/mL) fue superior a la de decitabina ( $C_{\text{máx}}$  28 ng/mL; ABC de 99 ng•h/mL). Los parámetros farmacocinéticos de los compuestos no variaron significativamente durante el periodo de observación de 22 días, y se detectó acumulación mínima (FIGURAS 1 y 2). Se monitorizaron las propiedades farmacodinámicas (no mostradas) y fueron aceptables. Se extrajeron periódicamente muestras de sangre para ensayar la metilación de ADN de LINE-1.

Se observaron disminuciones en la metilación de ADN de LINE-1, el indicador de actividad biológica, y la disminución continuó hasta que terminó el estudio en el día 22. La metilación observada de LINE-1 fue significativamente diferente ( $p < 0,05$ ) del nivel de metilación observado antes de la dosis inicial (FIGURA 3).

La formulación fue bien tolerada en las especies probadas. Se evaluaron tres pautas: a) dosis subcutánea una vez al día en ratas y conejos durante 5 días; b) dosis subcutánea una vez a la semana en conejos y monos cinomolgos durante 28 días según se tolere; y c) dosis subcutánea dos veces a la semana en ratas durante 28 días según se tolere. Los conejos toleraron bien la pauta de 5 días, hasta una dosis de 1,5 mg/kg/día, que es equivalente a 18 mg/kg/día en seres humanos, y la pauta semanal hasta una dosis de 1,5 mg/kg/semana durante 3 semanas.

Monos cinomolgos toleraron bien la pauta semanal, hasta una dosis de 3,0 mg/kg/semana durante 3 semanas, que

es equivalente a 36 mg/kg/semana. Las ratas toleraron dosis mucho más altas: 30 mg/kg/día durante 5 días; y 20 mg/kg dos veces a la semana durante 4 semanas.

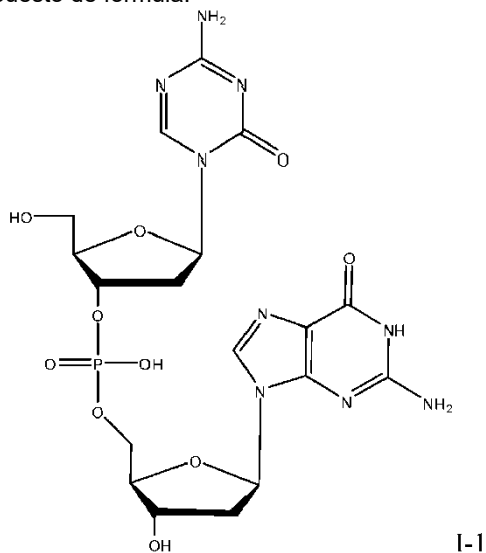
5 La principal toxicidad en todos los experimentos fue la mielosupresión. Sin embargo, la formulación subcutánea probada presentó menos mielosupresión y recuperación más rápida.

EJEMPLO 5: Preparación de un kit para su uso según la invención

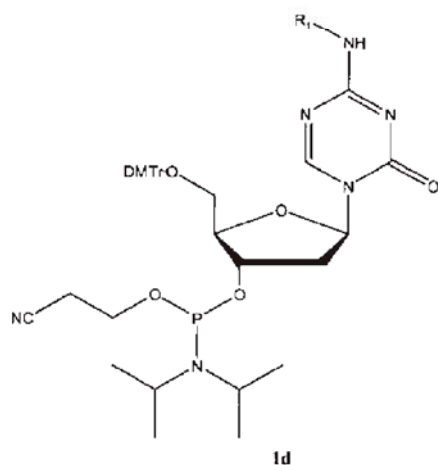
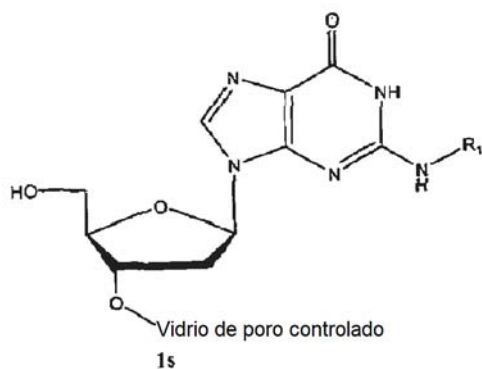
Primer recipiente: Compuesto de fórmula I-1 para inyección, 100 mg

10

Se preparó la sal de sodio del compuesto de fórmula:

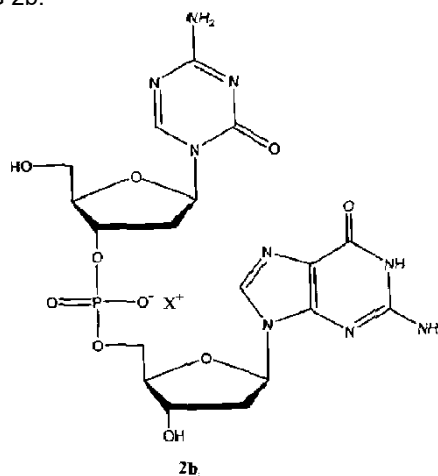


15 (también denominada en el presente documento "SGI-110") como se describe en el documento de patente US 7700567 acoplado 1s (donde R<sub>1</sub> = grupo protector de carbamato) con elemento estructural de fosforamidito 1d:



Se acopla un soporte sólido de CPG asociado a 2'-desoxiguanosina protegida 1s (donde R<sub>1</sub> = terc-butil-fenoxiacetilo) con 2-2,5 equivalentes de fosoramidito de fenoxiacetildecitabina (1d, donde R<sub>1</sub> = fenoxiacetilo) en presencia de 60 % de activador de benciltiotetrazol 0,3 M (en acetonitrilo) durante 10 minutos. El soporte sólido de CPG que contiene el dinucleótido DpG protegido se trata con 20 mL de K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 50 mM en metanol durante 1 hora y 20 minutos. Se oxida el producto acoplado, se retira el grupo protector, se lava, se filtra y se purifica por HPLC ÅKTA Explorer 100 con una columna preparativa Gemini C18 (Phenomenex), 250 x 21,2 mm, 10 µm con precolumna (Phenomenex), 50 x 21,2 mm, 10 µm, con acetato de trietilamonio 50 mM (pH 7) en agua MilliQ (fase móvil A) y 80 % de acetonitrilo en agua MilliQ (fase móvil B), con 2 % a 20/25 % de fase móvil B en volúmenes de columna.

La ESI-EM (-va) del dinucleótido DpG 2b:



donde X<sup>+</sup> = trietilamonio (la masa exacta calculada para el compuesto neutro C<sub>18</sub>H<sub>24</sub>N<sub>9</sub>O<sub>10</sub>P es 557,14), presentó m/z 556,1 [M-H]<sup>-</sup> y 1113,1 para [2M-H]<sup>-</sup> (véase el espectro de masas en la Figura 31 del documento de patente US 7700567).

Se obtiene la sal de sodio del compuesto de la fórmula I-1 (es decir, dinucleótido de DpG 2b, donde X<sup>+</sup> = sodio; SGI-

110) re-disolviendo la sal de trietilamonio en 4 mL de agua, 0,2 mL de solución NaClO<sub>4</sub> 2 M. Cuando se añaden 36 mL de acetona, precipita el dinucleótido. La solución se mantiene a -20 °C durante varias horas y se centrifuga a 4000 rpm durante 20 minutos. Se desecha el sobrenadante y se lava el sólido con 30 mL de acetona seguido por una centrifugación adicional a 4000 rpm durante 20 minutos. El precipitado se disuelve en agua y se liofiliza, que presentó m/z 556,0 [M-H]<sup>-</sup> (véase el espectro de masas en la Figura 36 del documento de patente US 7700567).

Combinación y llenado de formulación a granel

Basándose en el valor del ensayo del lote de SGI-110, se calculan las cantidades necesarias de SGI-110 y DMSO y se pesan apropiadamente para la escala de lote prevista.

2. Se disuelve SGI-110 en DMSO utilizando una mezcladora superior en un recipiente de acero inoxidable (AI) apropiadamente dimensionado.
3. Tras la completa solubilización del fármaco en DMSO, se prueban muestras de la solución a granel usando un método en el proceso de UV o HPLC para determinar que la cantidad de SGI-110 está dentro de 95-105 % de la concentración objetivo.
4. Se filtra la solución a granel a través de una serie de dos filtros de esterilización previamente esterilizados de 0,2 micrómetros que son compatibles con DMSO, y se recoge en un recipiente de estabilización de AI de 2 L.

La tasa de filtración se ajusta continuamente por monitorización visual de la cantidad disponible para llenar el recipiente de estabilización.

Se llena un gramo de la solución a granel filtrada en cada uno de los viales de vidrio claro despirogenados de 5 cm<sup>3</sup> y continúa la operación hasta que se llena toda la solución a granel filtrada.

Cada vial se cierra con tapón automáticamente y parcialmente en la línea de llenado con un tapón para liofilización de caucho clorobutílico recubierto con fluoropolímero, que se esteriliza previamente.

Se transfieren los viales de producto a un liofilizador en condiciones de transferencia aséptica para el inicio del ciclo de liofilización.

Liofilización y encapsulado de viales

Se liofilizan los viales usando los parámetros de ciclo del siguiente modo.

Congelación	Secado primario / secundario					Punto de consigna final (condiciones de cierre con tapón)
Temperatura	-40 °C	-5 °C	10 °C	30 °C	60 °C	25 °C
Tiempo de rampa (min)	133	117	50	67	100	-
Tiempo (min)	360	1440	1440	1440	1440	esperar
Vacío (mTorr)	- (nota: 100 mT para la evacuación a -50 °C)	100	100	50	50	50 mT antes de rellenar

2. Tras completarse el ciclo de liofilización, se rellena el liofilizador con nitrógeno, y se cierran completa y automáticamente con tapón los viales.
3. Se transfieren asépticamente los viales a un aislador donde cada uno de los viales se encapsula automáticamente con una cápsula sobrepuesta de aluminio azul.
4. Se inspeccionan visualmente los viales antes de proceder con el muestreo para la prueba de comercialización, y la operación de etiquetado y envasado. Los viales se mantienen a 2-8 °C hasta que estén listos.

Etiquetado y envasado

Se etiqueta cada vial por contenido autorizado, y se envasa individualmente en bolsa de papel de aluminio termosellado con un desecante a vacío. La bolsa de papel se etiqueta por fuera con la misma etiqueta que se usó para el vial del producto. Los viales etiquetados y envasados se almacenan a 2-8 °C hasta la posterior distribución.

DMSO residual

Se prepararon cuatro lotes de la misma escala de 3000 viales/lote usando el mismo proceso que se ha descrito anteriormente. Se retiró coherentemente DMSO hasta los siguientes niveles residuales dando un polvo blanco sólido, que demostró que la liofilización de SGI-110 libre de DMSO como se ha descrito anteriormente da un polvo

de SGI-110 seguro y químicamente estable:

Nº	DMSO en mg/vial
Lote 1	25
Lote 2	28
Lote 3	27
Lote 4	29

Segundo recipiente: Diluyente de SGI-110 para reconstitución, 3 mL

5

Combinación y llenado de formulación a granel

Se añaden las cantidades calculadas (véase la tabla a continuación) de propilenglicol, etanol y glicerina en el orden anteriormente mencionado a un recipiente de acero inoxidable apropiadamente dimensionado equipado con una mezcladora superior.

10

	% de cada componente	Calidad	Función
Propilenglicol	65	NF, PhEur	Disolvente
Glicerina	25	NF, PhEur	disolvente
Alcohol/Etanol	10	USP, PhEur	Agente fluidificante

2. La mezcla intermitente durante la adición de componentes va seguida por al menos 30 minutos de mezcla para dar una solución bien mezclada.

15

3. Se filtra la solución a granel a través de una serie de dos filtros de esterilización previamente esterilizados de 0,2 micrómetros compatibles, y se recoge en un recipiente de estabilización de Al de 2 L.

4. Se ajusta la tasa de filtración por monitorización visual de la cantidad disponible para el llenado del recipiente de estabilización.

20

Se llenan al menos 3,15 g, equivalentes a 3,0 mL, de la solución a granel filtrada en cada uno de los viales de vidrio claro despirogenado de 5 cm<sup>3</sup>, seguido por cierre con tapón automático usando cierres de caucho clorobutílico recubierto con fluoropolímero.

25

Se encapsulan los viales cerrados con tapón con cápsulas sobrepuestas de aluminio blanco esterilizadas.

Se inspeccionan visualmente los viales antes de muestrear para la prueba de comercialización y la operación de etiquetado y se almacenan a 2-30 °C hasta que estén listos.

30

Etiquetado y envasado

Se etiqueta cada vial de diluyente por contenido autorizado. Los viales etiquetados se almacenan a 2-30 °C hasta la posterior distribución.

35

EJEMPLO 6: Actividad antitumoral de SGI-110 en combinación con anticuerpo anti-CTLA-4

Se evaluó el efecto antitumoral de SGI-110 en combinación con anti-CTLA-4 de ratón en el modelo de cáncer de mama murino.

40

Materiales y métodos

TS/A es un carcinoma mamario murino originado a partir de un adenocarcinoma mamario débilmente inmunogénico moderadamente diferenciado que surge espontáneamente en un ratón BALB/c hembra de 20 meses de edad.

45

Anti-CTLA-4 de ratón fue el mAb contra CTLA-4 9H10, obtenido de BioXCell (West Lebanon, NH, USA), dosificado a 100 µg/ratón en 200 µl (ip).

Se inyectaron SC ratones Balb/c (6/grupo) en la región del flanco con células TS/A de carcinoma mamario murino (2×10<sup>5</sup>).

50

Se inyectaron por vía subcutánea ratones portadores de injertos de tumor palpable (diámetro ≥ 0,2 cm) con 3 mg/kg de SGI-110 reconstituido QDx5 (diariamente durante cinco días) en los días 1-5, solo o en combinación con 100 µg/hámster de anticuerpos monoclonales (mAb) anti-CTLA-4 murino, ya fuera simultáneamente (en los días 2, 5 y 8) o posteriormente (en los días 8, 11 y 14).

55

Se inyectaron los ratones de control con diluyente para reconstitución. Se evaluó la eficacia y tolerabilidad de los tratamientos por mediciones del volumen del tumor y peso corporal, respectivamente.



Resultados y conclusiones

Los resultados se muestran en la Figura 5. Se logró el mejor efecto antitumoral en ratones tratados con SGI-110 seguido por mAb anti-CTLA-4. En este caso, se observó una masa tumoral significativamente ( $p < 0,05$ ) más pequeña que la de ratones de control, que indica, en el día 26, una inhibición del crecimiento tumoral de 84,4 %. Además, ocurrió una reducción significativa, pero menor, en la masa tumoral en ratones tratados con SGI-110 en comparación con ratones de control, con una inhibición del crecimiento tumoral de 62,9 % en los días 26. No se observó diferencia en la inhibición del crecimiento tumoral en ratones tratados con SGI-110 combinado con el mAb anti-CTLA-4 administrado simultáneamente en comparación con ratones tratados con SGI-110 solo. No se observó pérdida en el peso corporal (datos no mostrados) en todos los ratones investigados, que demostró una buena tolerabilidad de todas las pautas terapéuticas probadas.

Así, la sensibilización epigenética con SGI-110 seguido por bloqueo de CTLA-4 proporciona actividad antitumoral mejorada.

EJEMPLO 7: Actividad antitumoral de dos ciclos de SGI-110 y anti-CTLA-4 secuencial

También se evaluó el efecto antitumoral de dos ciclos de administración secuencial de SGI-110 seguido por mAb anti-CTLA-4 de ratón 9H10 en el modelo murino TS/A.

Materiales y métodos

Se inyectaron SC ratones Balb/c (6/grupo) en la región del flanco con células TS/A de carcinoma mamario murino ( $2 \times 10^5$ ).

Se trataron ratones portadores de injertos de tumor palpable (diámetro  $\geq 0,2$  cm) con dos ciclos de 3 mg/kg de SGI-110 reconstituido QDx5 (inyectado por vía subcutánea diariamente durante cinco días) en los días 1-5 y 21-25, solo o en combinación con dos ciclos posteriores de 100  $\mu$ g/hámster de anticuerpos monoclonales (mAb) anti-CTLA-4 murino, en los días 8, 11, 14, 28, 31 y 34.

Se inyectaron los ratones de control con diluyente para reconstitución. Se evaluó la eficacia y tolerabilidad de los tratamientos por mediciones del volumen del tumor y peso corporal, respectivamente.

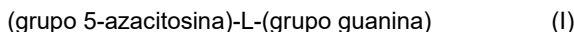
Resultados y conclusiones

Los resultados se muestran en la Figura 6: son eficaces dos ciclos de administración secuencial de SGI-110 y anticuerpo anti-CTLA4 y potencian el efecto antitumoral del anticuerpo. Las mediciones de peso corporal (no mostradas) mostraron que el tratamiento fue bien tolerado.

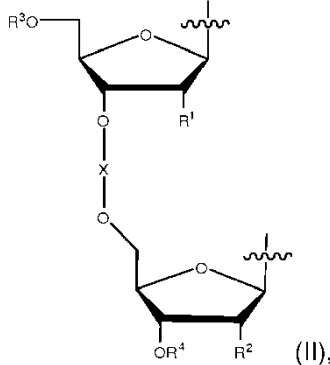
REIVINDICACIONES

1. Una combinación que comprende los siguientes componentes separados:

5 (i) un compuesto de la fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo:



en donde L es conector que contiene fósforo de fórmula (II):



10 en donde R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> son independientemente H, OH, un grupo alcoxi, un grupo aciloxi, un grupo carbonato, un grupo carbamato o un halógeno; R<sup>3</sup> es H, o R<sup>3</sup> junto con el átomo de oxígeno al que se une R<sup>3</sup> forma un éter, un éster, un carbonato o un carbamato; R<sup>4</sup> es H, o R<sup>4</sup> junto con el átomo de oxígeno al que se une R<sup>4</sup> forma un éter, un éster, un carbonato o un carbamato; y X junto con los átomos de oxígeno a los que se une X forma un fosfodiéster, un diéster de fosforotioato, un diéster de boranofosfato o un diéster de metilfosfonato; y

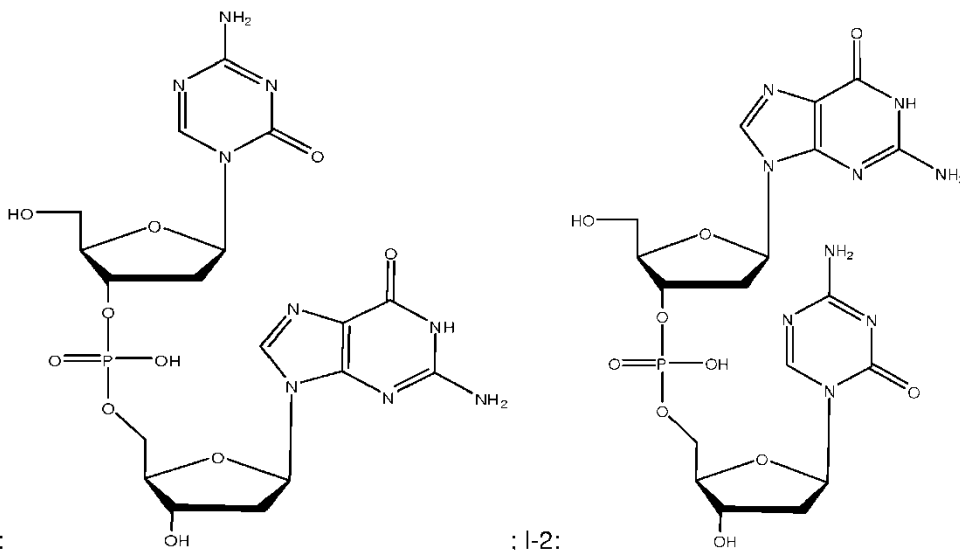
15 (ii) uno o más componente(s) terapéutico(s) complementario(s), en donde dicho componente terapéutico complementario es un agente de activación de linfocitos T;

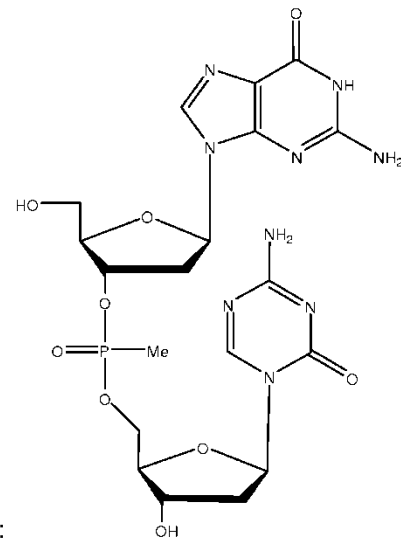
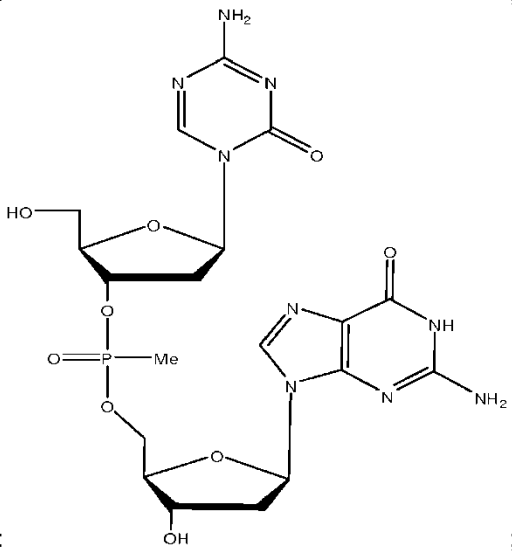
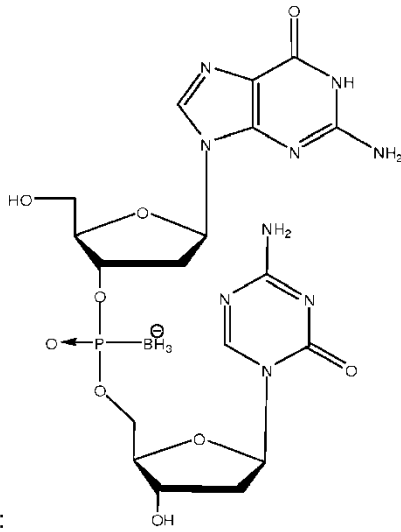
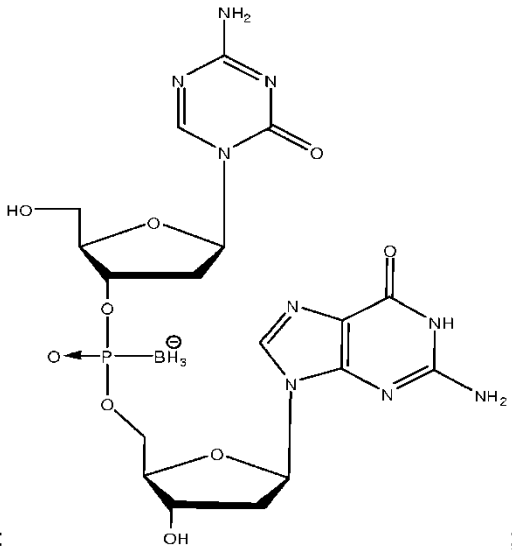
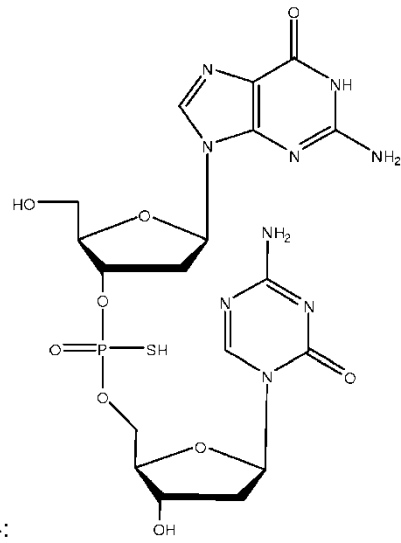
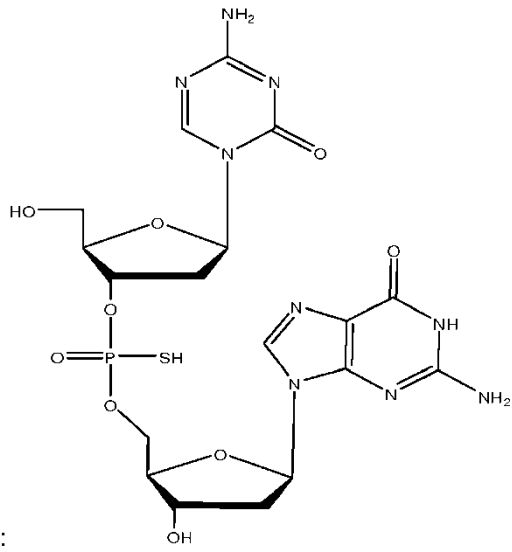
20 en donde dicho compuesto de la fórmula I, o su sal farmacéuticamente aceptable, es para administración antes que dicho componente terapéutico complementario.

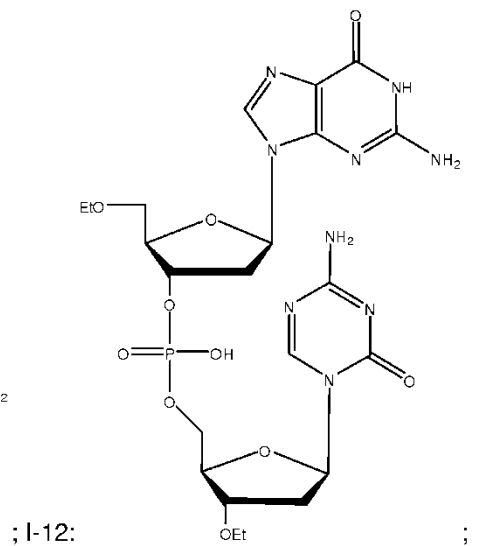
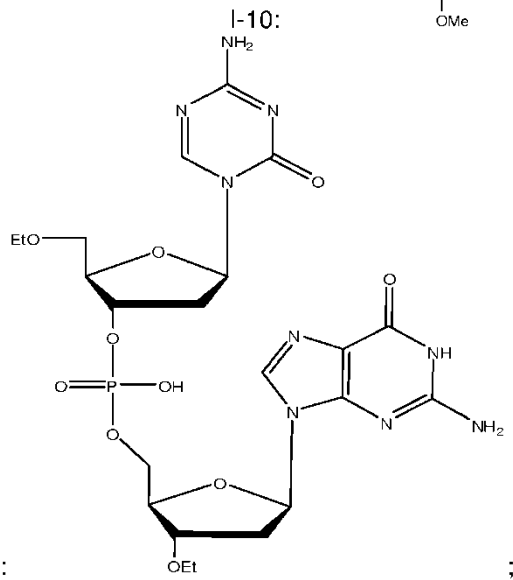
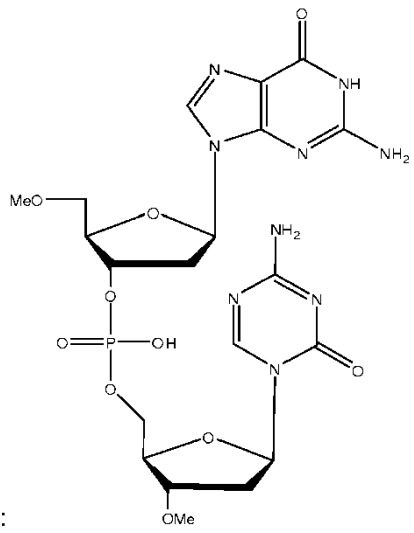
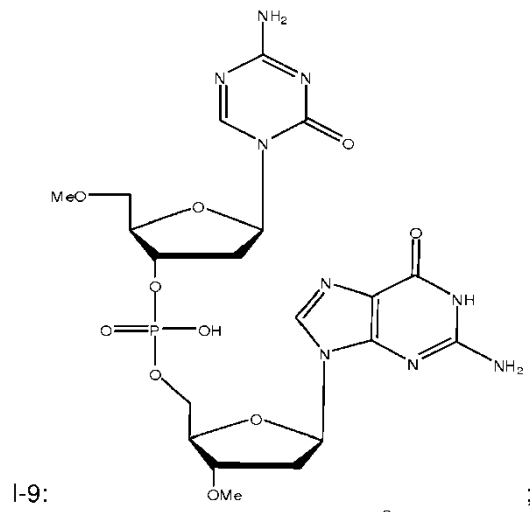
2. La combinación de la reivindicación 1, en donde R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> son independientemente H, OH, OMe, OEt, OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OMe, OBn o F, y preferentemente R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> son H.

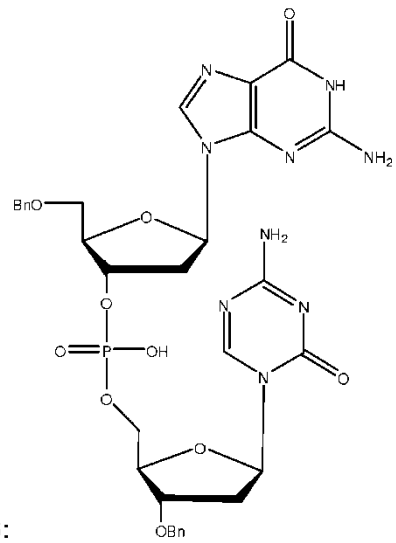
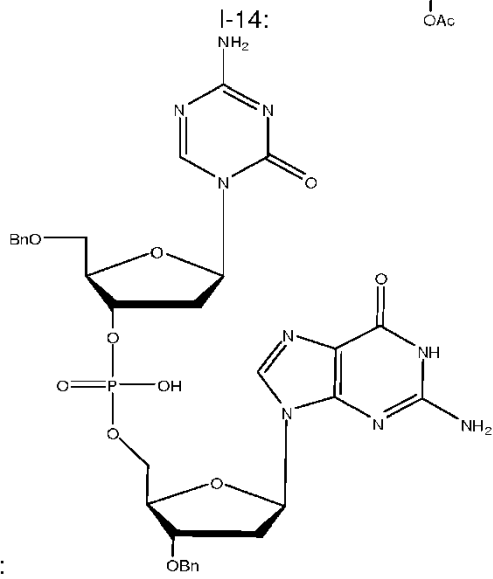
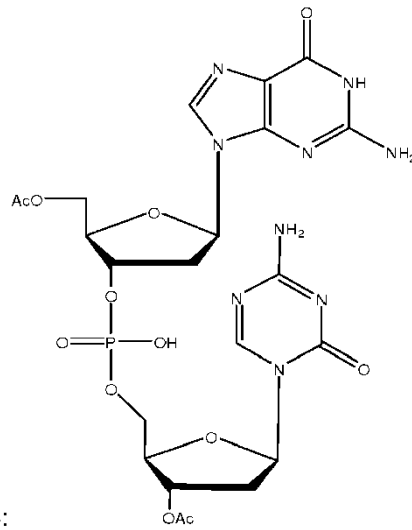
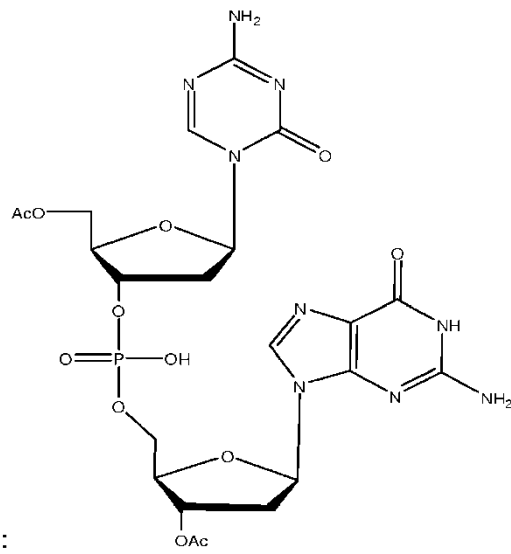
25 3. La combinación de la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en donde X junto con los átomos de oxígeno a los que se une X forma un fosfodiéster.

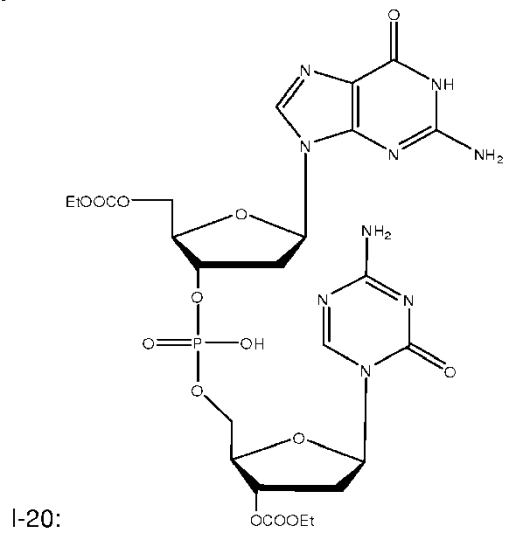
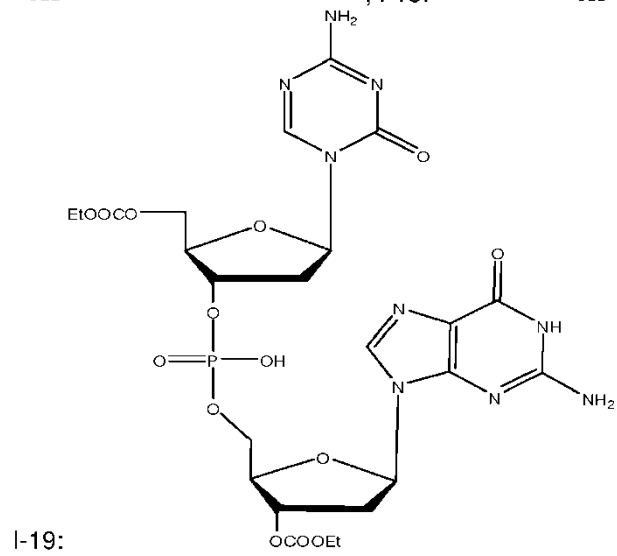
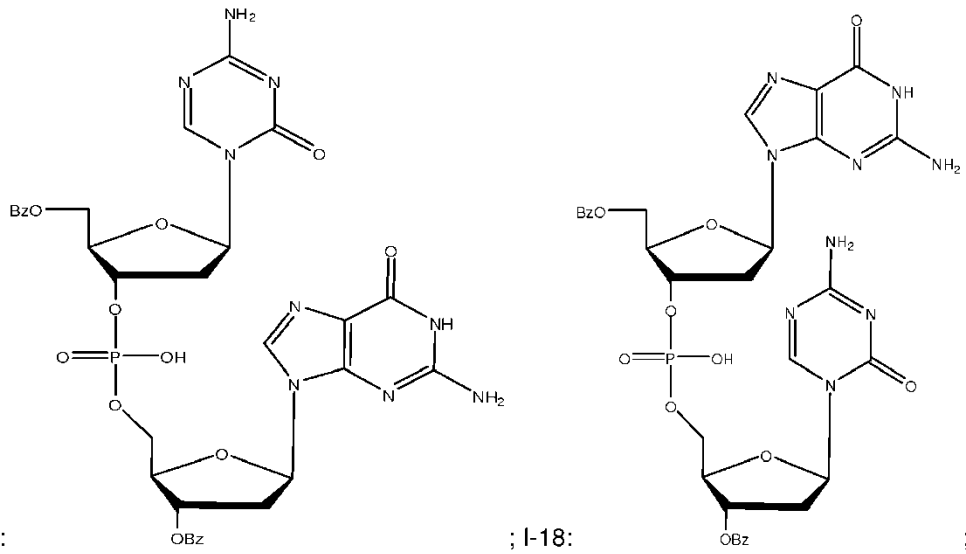
4. La combinación de una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde el compuesto de la fórmula I es uno cualquiera de I-(1-44):

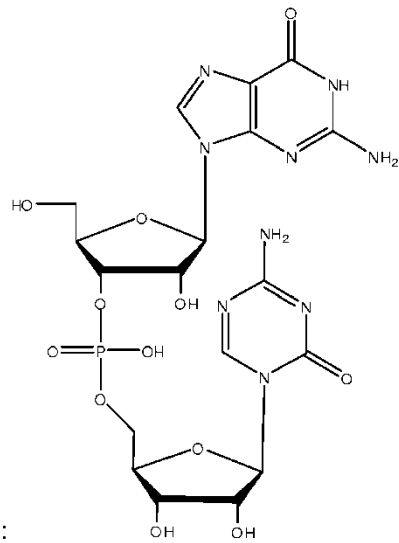
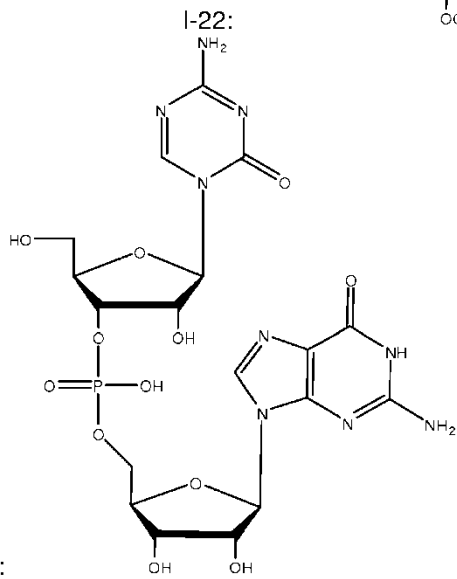
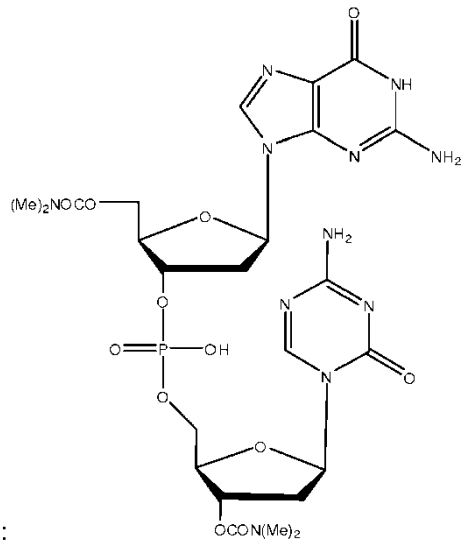
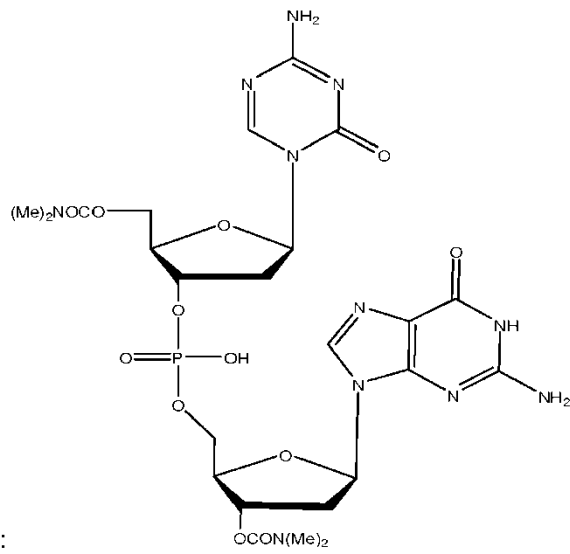


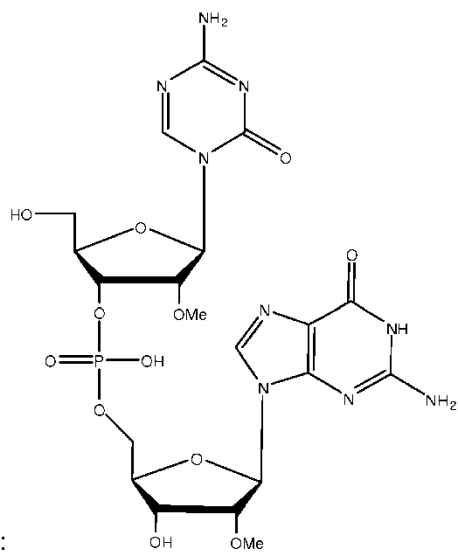




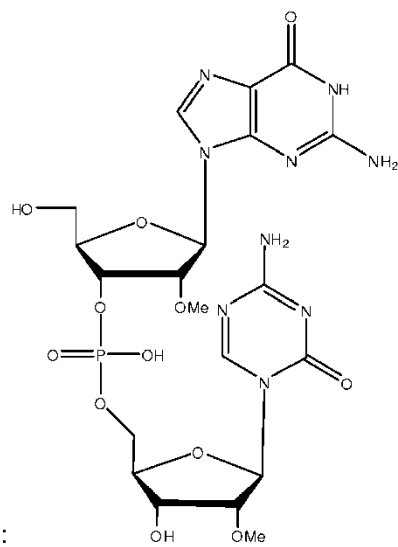




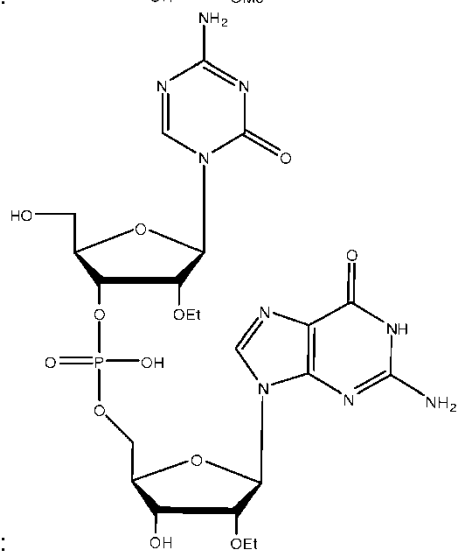




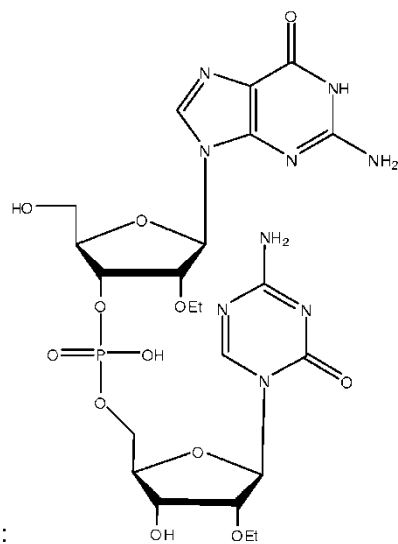
I-25:



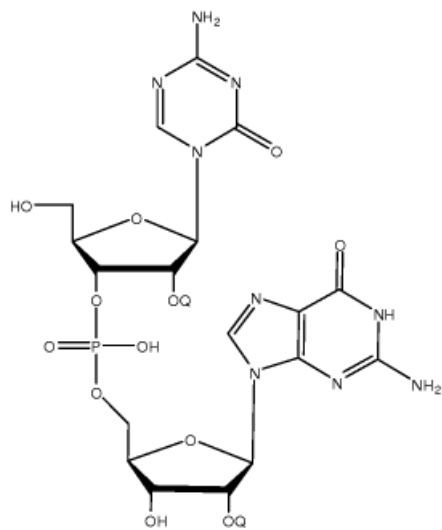
; I-26:



I-27:

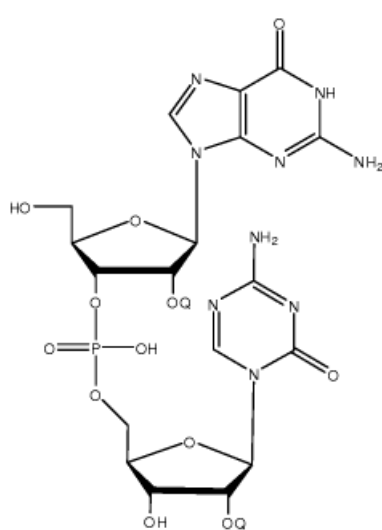


; I-28:



I-29:

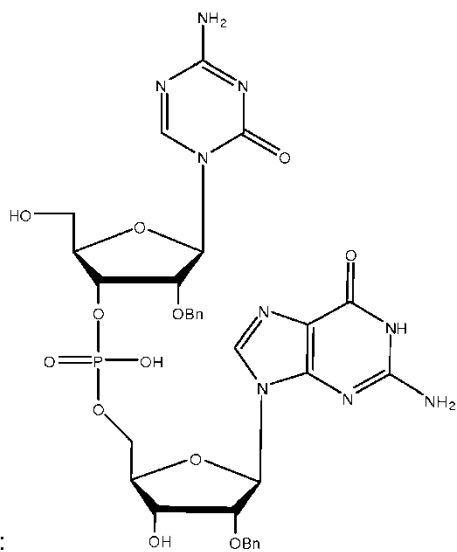
OQ = OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OMe



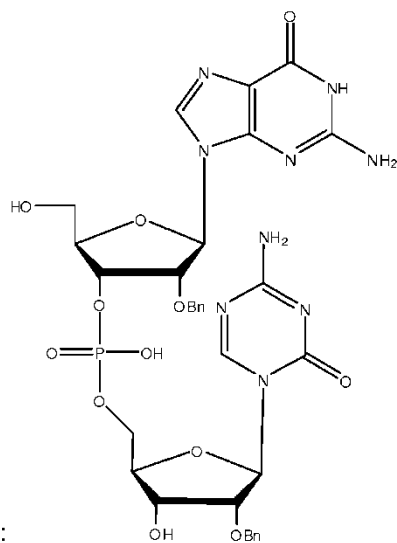
; I-30:

OQ = OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OMe

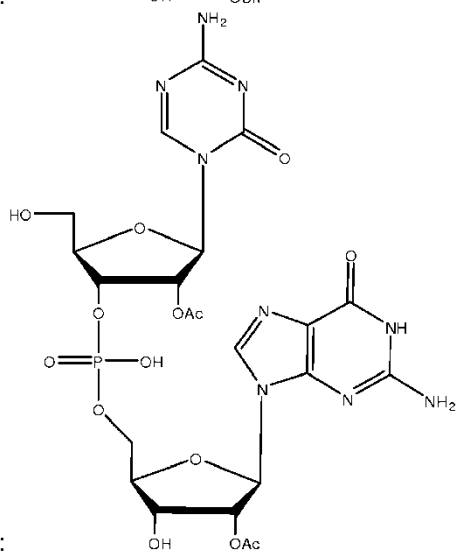




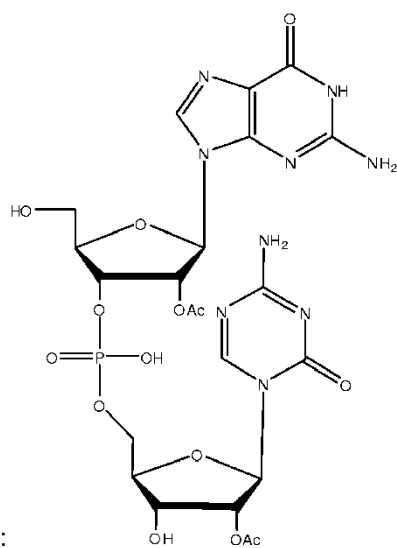
I-31:



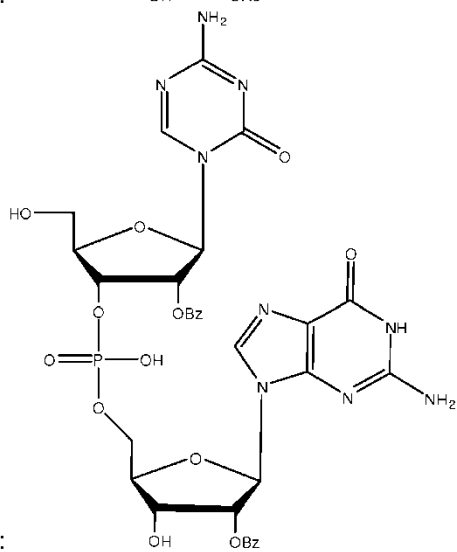
; I-32:



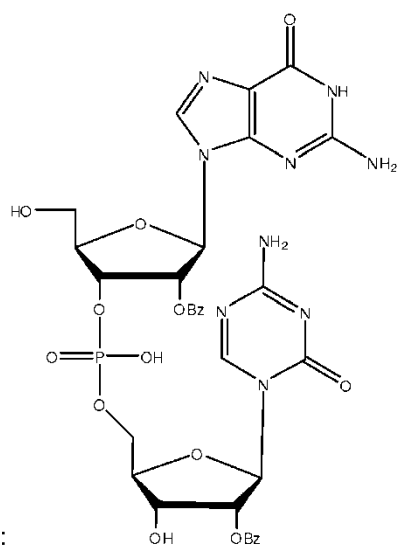
I-33:



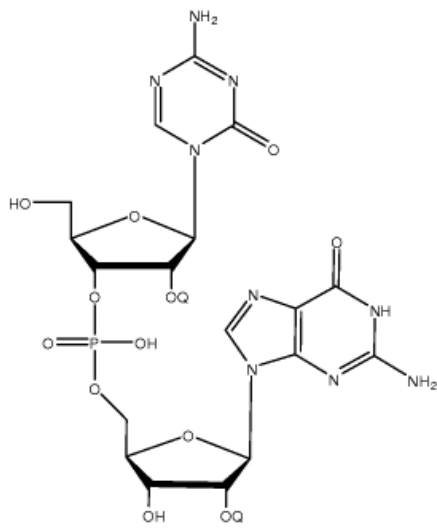
; I-34:



I-35:

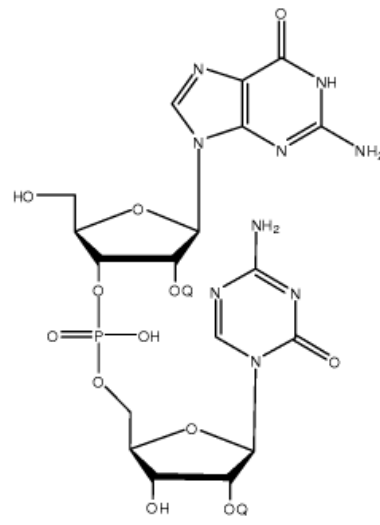


; I-36:



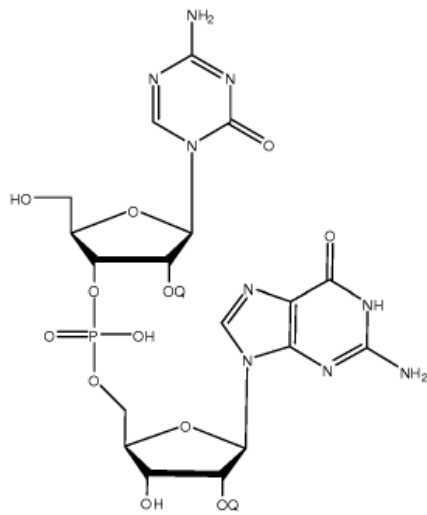
I-37:

OQ = OCOOEt



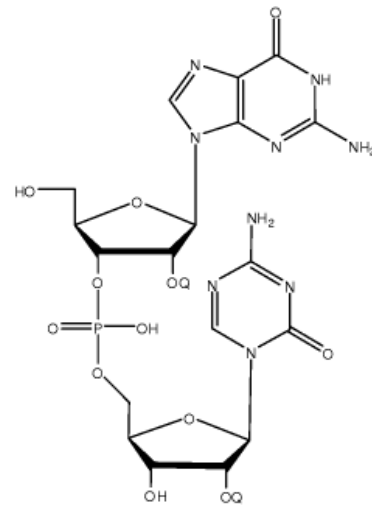
; I-38:

OQ = OCOOEt



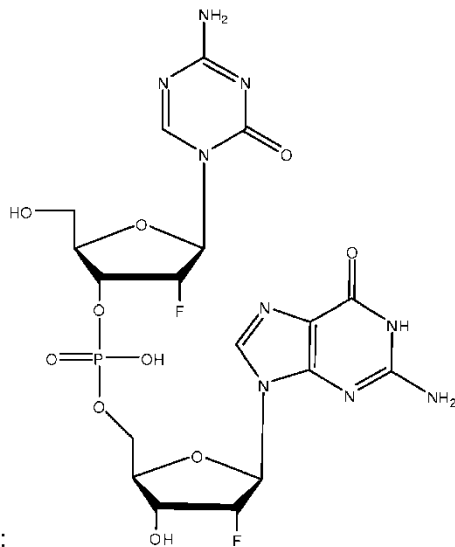
I-39:

OQ = OCON(Me)<sub>2</sub>

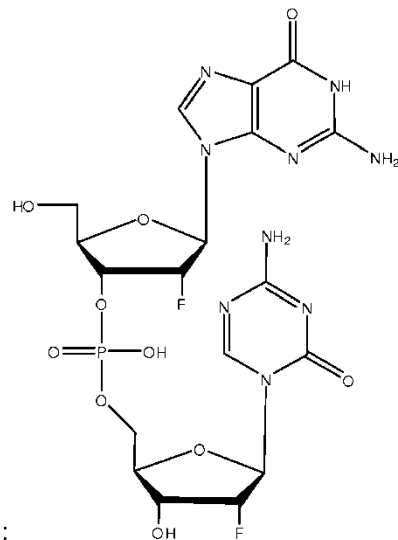


; I-40:

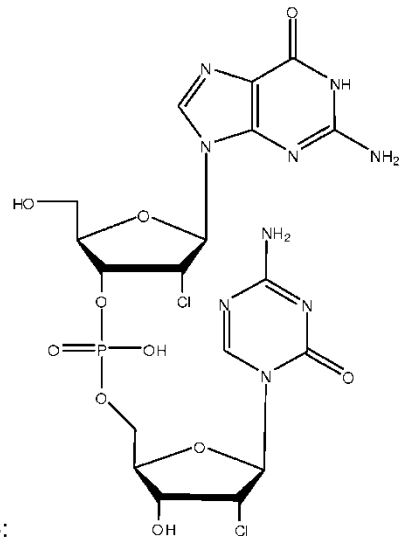
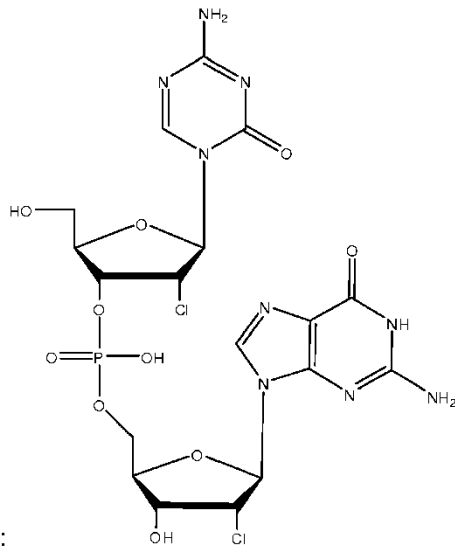
OQ = OCON(Me)<sub>2</sub>



I-41:

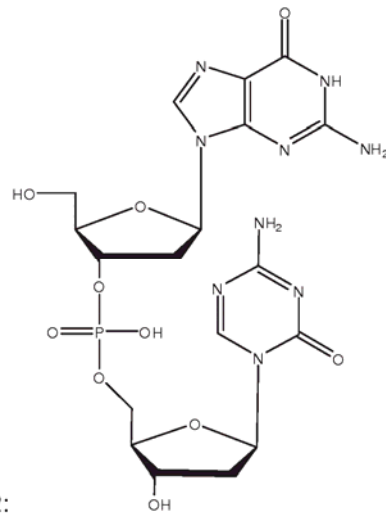
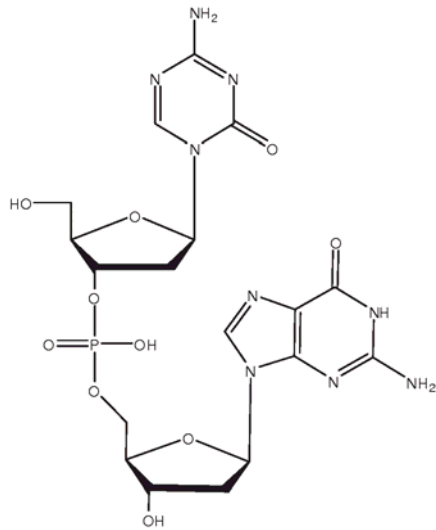


; I-42:

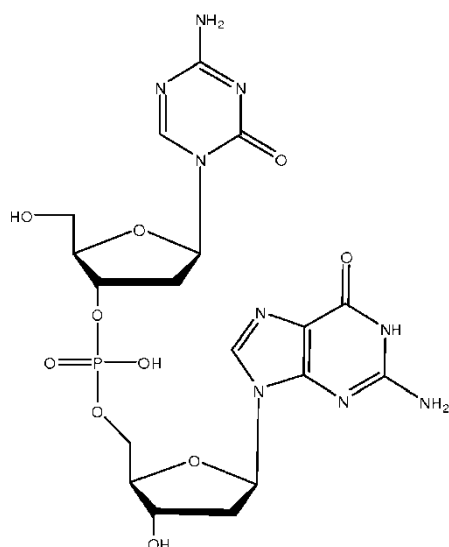


y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

5 5. La combinación de una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde el compuesto de la fórmula I es:



10 6. La combinación de una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde el compuesto de la fórmula I es de fórmula:



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

5 7. La combinación de la reivindicación 6, en donde dicha sal es una sal de sodio.

8. La combinación de una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde el compuesto de la fórmula I o su sal está en forma de una formulación, que se disuelve en un disolvente sustancialmente anhidro que comprende 45 % a 85 % de propilenglicol; 5 % a 45 % de glicerina; y 0 % a 30 % de etanol.

10 9. La combinación de cualquier reivindicación precedente, en donde el compuesto de la fórmula I o su sal está presente en la formulación a una concentración de 80 mg/mL a 110 mg/mL.

15 10. La combinación de la reivindicación 8, en donde la formulación es adecuada para administración por inyección subcutánea.

11. Un kit que comprende:

- 20 (a) un primer recipiente que contiene el compuesto de la fórmula I o su sal como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1-7;  
 (b) un segundo recipiente que contiene un disolvente sustancialmente anhidro como se define en la reivindicación 8; y  
 (c) uno o más componente(s) terapéutico(s) complementario(s) como se define en la reivindicación 1;

25 en donde dicho compuesto de la fórmula I es para administración antes que dicho uno o más componente(s) terapéutico(s) complementario(s).

30 12. El kit de la reivindicación 11, en donde el compuesto de la fórmula I está en forma de un polvo sustancialmente anhidro, y está más preferentemente liofilizado.

13. El kit de una cualquiera de las reivindicaciones 11-12, en donde el primer recipiente contiene 80 mg a 110 mg de dicho compuesto de la fórmula I o su sal.

35 14. El kit de una cualquiera de las reivindicaciones 11-13, que comprende además instrucciones para administración por inyección subcutánea.

40 15. La combinación de una cualquiera de las reivindicaciones 1-10 o el kit de una cualquiera de las reivindicaciones 11-14, en donde el componente terapéutico complementario comprende: (a) un agente de activación de linfocitos T y una vacuna contra el cáncer; o (b) un agente de activación de linfocitos T y un inhibidor deIDO; opcionalmente en donde el componente terapéutico complementario comprende además un adyuvante.

45 16. La combinación de una cualquiera de las reivindicaciones 1-10 o kit de una cualquiera de las reivindicaciones 11-14, en donde el componente terapéutico complementario comprende un agente de activación de linfocitos T seleccionado de agonistas o anticuerpos para: ICOS, GITR, MHC, CD80, CD86, galectina 9 y LAG-3.

17. La combinación de una cualquiera de las reivindicaciones 1-10 o kit de una cualquiera de las reivindicaciones 11-14, en donde el agente de activación de linfocitos T es un anticuerpo seleccionado de: (a) un antagonista de CD137;

(b) un agonista de CD40; (c) un agonista de OX40; (d) un mAb PD-1; (e) un mAb PD-L1; (f) un mAb PD-L2; (g) un mAb CTLA-4; y (h) combinaciones de (a)-(g).

5 18. La combinación de una cualquiera de las reivindicaciones 1-10 o kit de una cualquiera de las reivindicaciones 11-14, en donde el agente de activación de linfocitos T es un anticuerpo, y el anticuerpo comprende un anticuerpo seleccionado de: (a) Tremelimumab; (b) Ipilimumab; (c) Nivolumab; (d) Lambrolizumab; (e) BMS-936559; (f) MEDI4736; (g) MPDL3280A; y (h) PF-05082566.

10 19. Una combinación o kit según cualquier reivindicación precedente para su uso en el tratamiento de una enfermedad seleccionada de:

- (a) un síndrome mielodisplásico (SMD);
- (b) un cáncer;
- (c) un trastorno hematológico; y
- 15 (d) una enfermedad asociada a la síntesis anormal de hemoglobina;

en donde el compuesto de la fórmula I o su sal como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1-7 se administra antes que uno o más componente(s) terapéutico(s) complementario(s).

20 20. Una combinación o kit para su uso según la reivindicación 19, en donde el uno o más componente(s) terapéutico(s) complementario(s) comprende un mAb de CTLA-4.

25 21. Una combinación o kit para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 19-20, en donde el trastorno hematológico es leucemia, más preferentemente seleccionado de leucemia mieloide aguda (LMA), leucemia promielocítica aguda, leucemia linfoblástica aguda y leucemia mielógena crónica.

30 22. Una combinación o kit para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 19-20, en donde el cáncer se selecciona de cáncer de mama, cáncer de piel, cáncer de huesos, cáncer de próstata, cáncer de hígado, cáncer de pulmón, cáncer de pulmón de células no pequeñas, adenocarcinoma de pulmón de células no pequeñas escamosas, cáncer cerebral, cáncer de laringe, vesícula biliar, páncreas, recto, paratiroides, tiroides, suprarrenal, tejido neural, cabeza y cuello, colon, estómago, bronquios, y cáncer de riñón, carcinoma de células basales, carcinoma de células escamosas de tanto tipo ulcerante como papilar, carcinoma metastásico de la piel, osteosarcoma, sarcoma de Ewing, sarcoma de células del retículo, mieloma, tumor de células gigantes, tumor de pulmón de células pequeñas, tumor de células de los islotes, tumor cerebral primario, tumores agudos y crónicos linfocíticos y granulocíticos, tumor de tricoleucocitos, adenoma, hiperplasia, carcinoma medular, feocromocitoma, neuroma mucoso, ganglioneuromas intestinales, tumor nervioso hiperplásico de la córnea, tumor de hábito marfanoide, tumor de Wilms, seminoma, tumor de ovario, cáncer de ovario resistente a platino, tumor leiomiomatoso, displasia cervical y carcinoma *in situ*, neuroblastoma, retinoblastoma, sarcoma de tejido blando, carcinoide maligno, micosis fungoide, rhabdomyosarcoma, sarcoma de Kaposi, sarcoma osteogénico, hipercalcemia maligna, tumor de

35 40 células renales, policitemia vera, adenocarcinoma, glioblastoma multiforme, leucemia, linfoma, melanoma, carcinomas epidermoides, carcinoma hepatocelular y un tumor sólido.

45 23. Una combinación o kit para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 19-20, en donde la enfermedad asociada a la síntesis anormal de hemoglobina se selecciona de anemia de células falciformes y  $\beta$ -talasemia.

24. Una combinación o kit para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 19-20, en donde el SMD se selecciona de SMD de riesgo bajo, intermedio y alto y neoplasias mieloproliferativas.

50 25. La combinación de una cualquiera de las reivindicaciones 1-11 o kit de una cualquiera de las reivindicaciones 12-15 para su uso en terapia o profilaxis.

55 26. Una combinación o kit para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 19-24 que comprende administrar un compuesto de fórmula (I) a un sujeto según una pauta posológica de cada día durante 5 días, inmediatamente seguido por dos días libres de dosis, seguido por administración del uno o más componente(s) terapéutico(s) complementario(s).

60 27. Una combinación o kit para su uso según la reivindicación 26, que comprende administrar un compuesto de fórmula (I) a un sujeto según una pauta posológica de cada día durante 5 días, inmediatamente seguido por dos días libres de dosis, seguido por administración de un componente(s) terapéutico(s) complementario(s) que comprende un mAb de CTLA-4.

28. Una combinación o kit según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 18, en donde el uno o más componente(s) terapéutico(s) complementario(s) comprende además un adyuvante.

65 29. Una combinación o kit según la reivindicación 28, en donde dicho adyuvante es un ligando de receptor de reconocimiento de patógenos (PRR).

30. Una combinación o kit según la reivindicación 28, en donde dicho adyuvante comprende un ligando de TLR ligando, preferentemente uno o más de TLR1, TLR2, TLR3, TLR4, TLR5, TLR6, TLR7, TLR8, TLR9, TLR10 y TLR11.

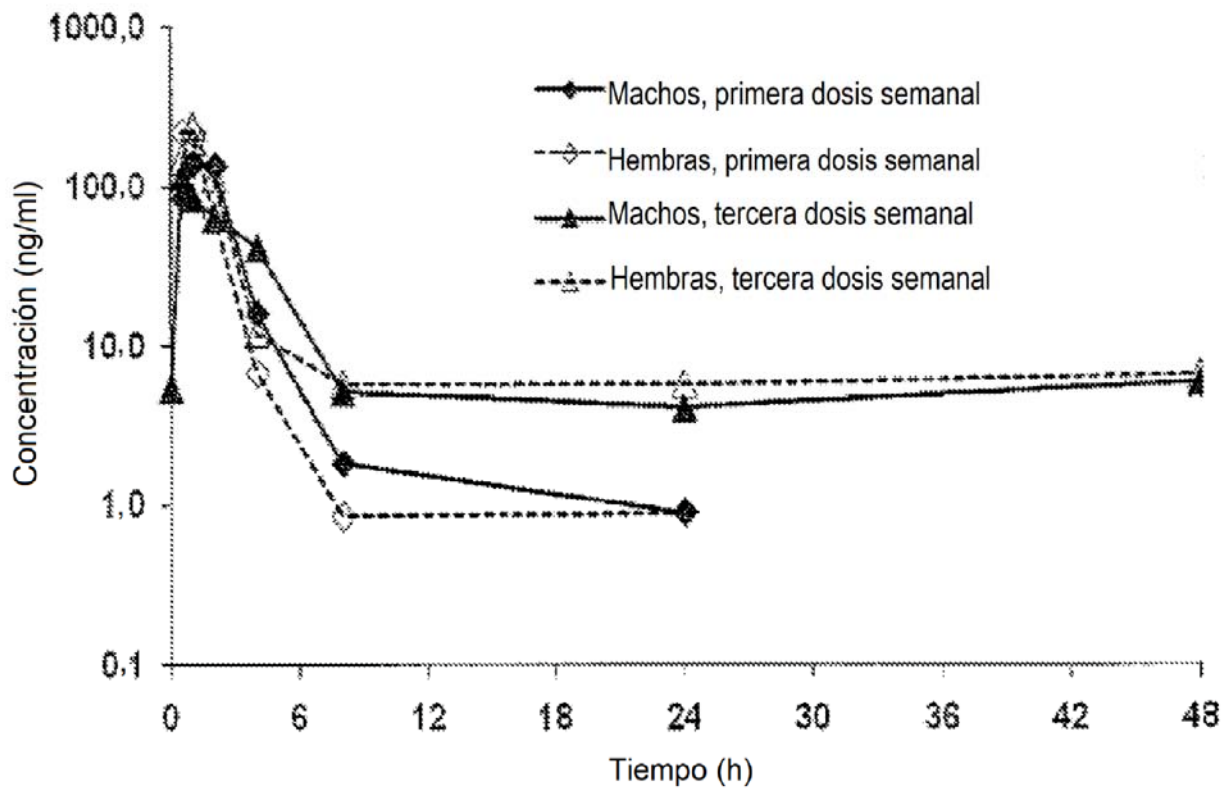


FIGURA 1

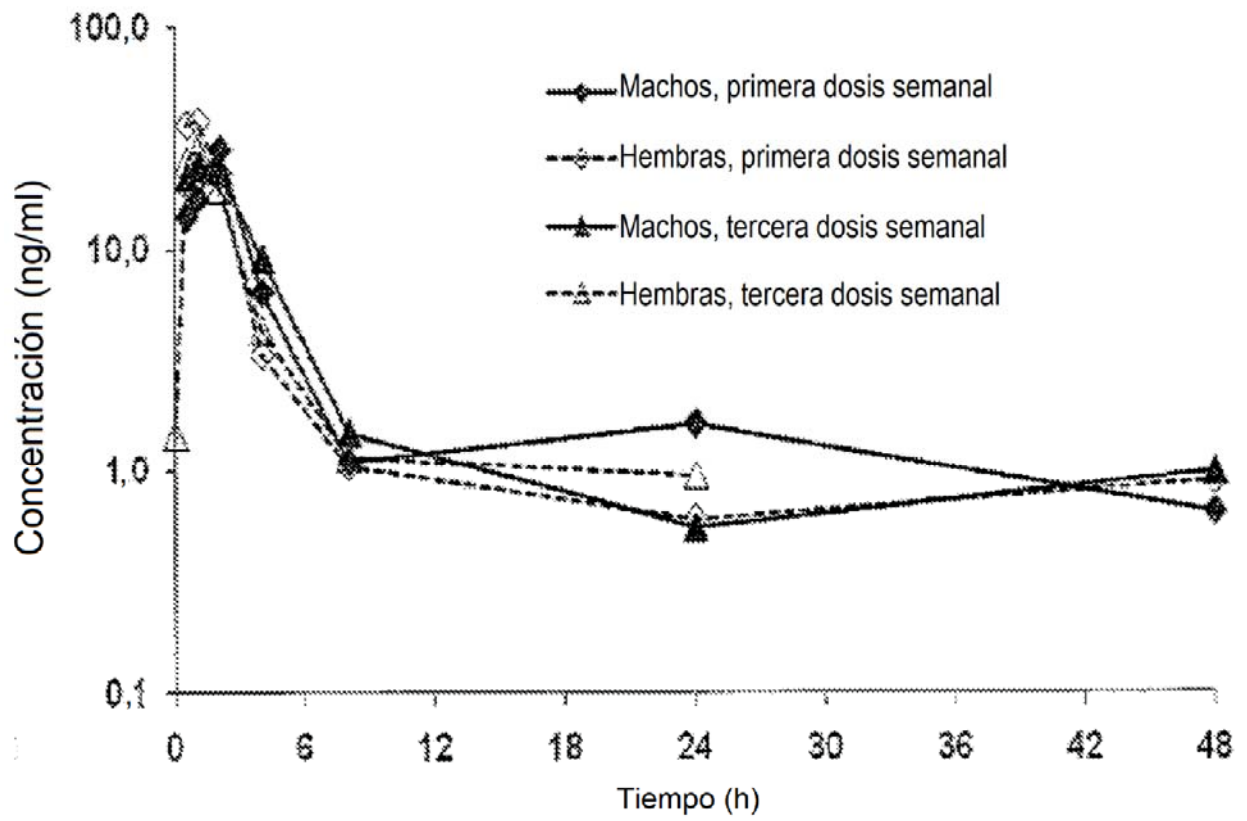


FIGURA 2



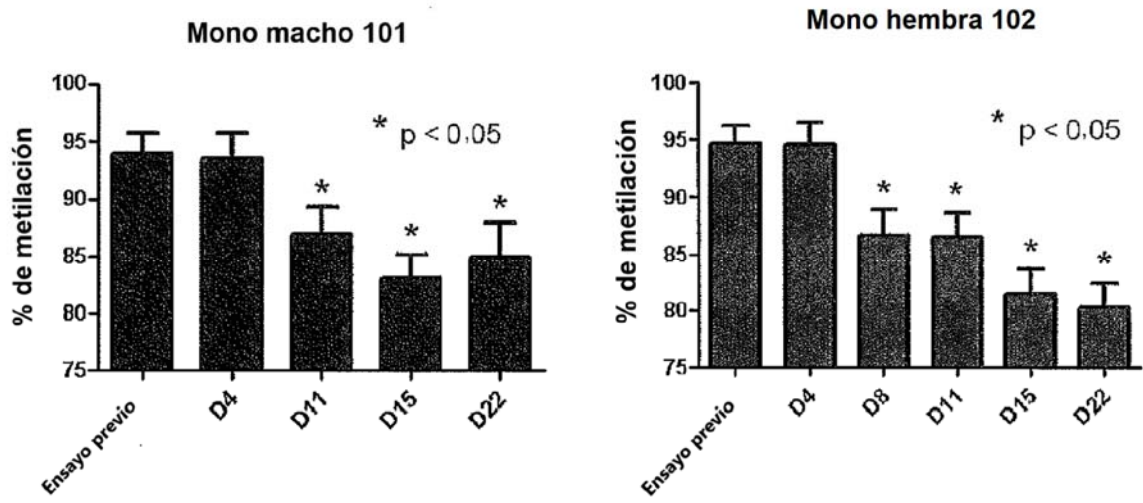


FIGURA 3

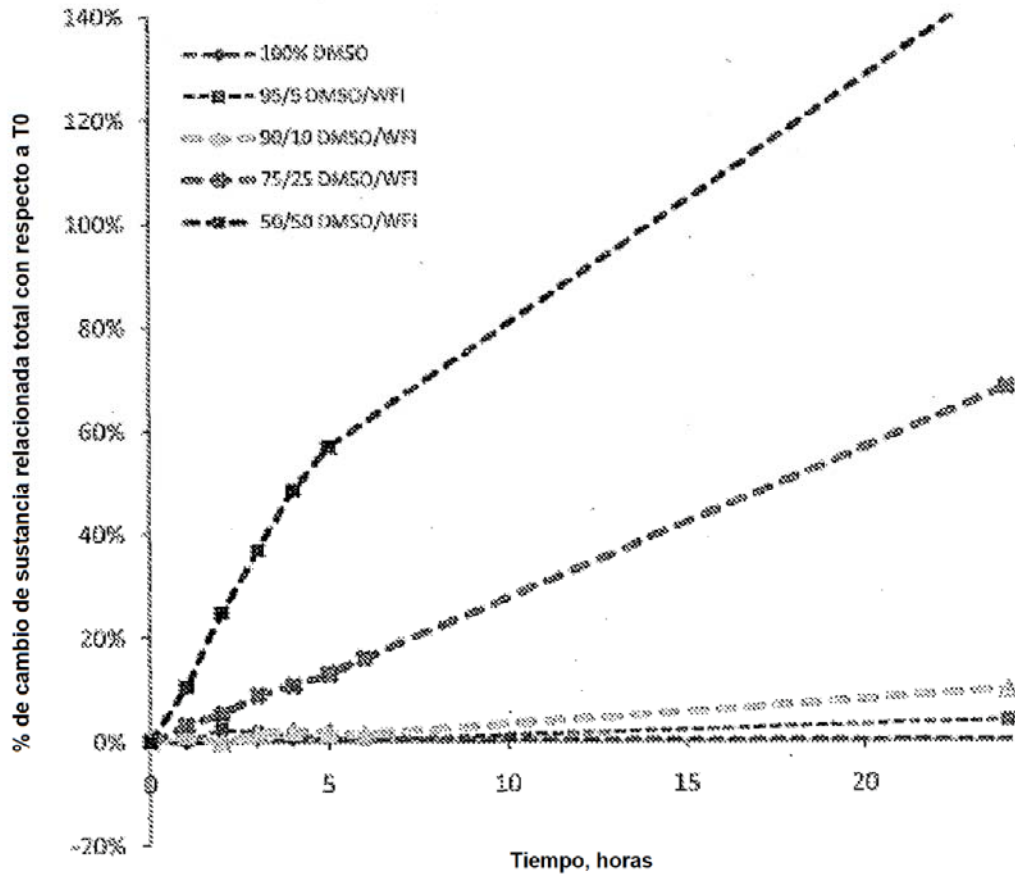


FIGURA 4

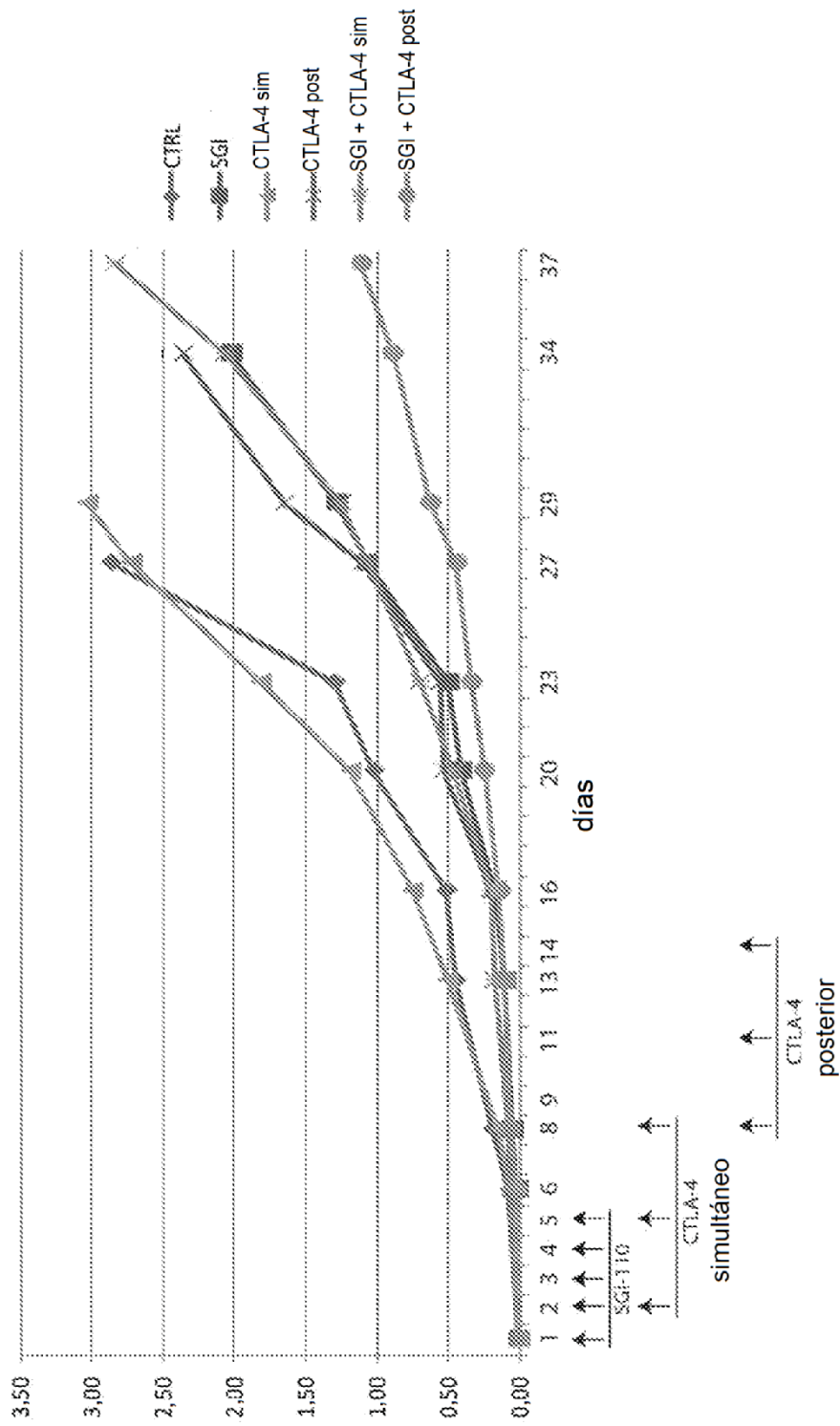


FIGURA 5

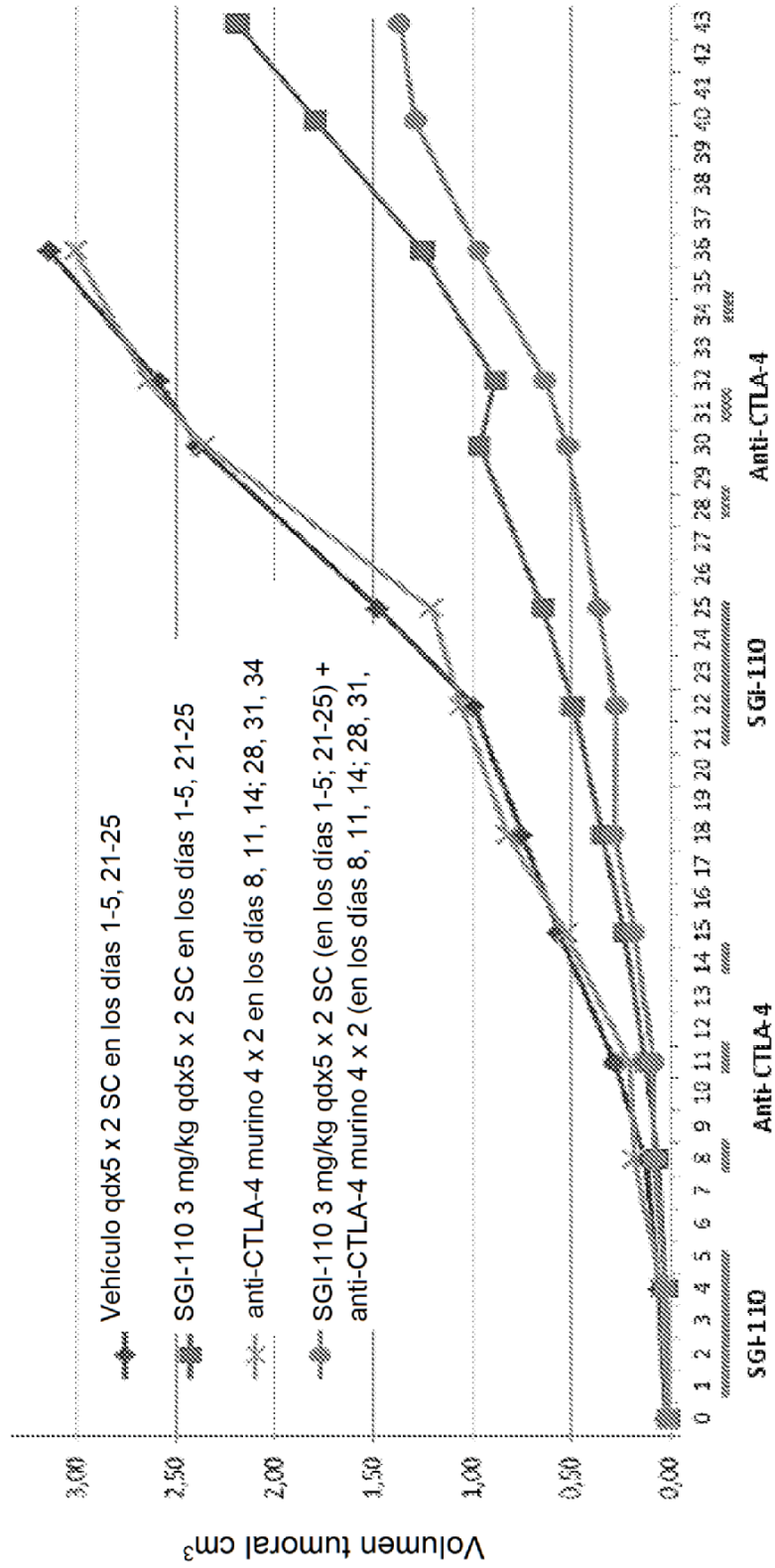


FIGURA 6