

DINUCLÉÓTIDOS CÍCLICOS ÚTILES PARA EL TRATAMIENTO DE (INTER ALIA) CÁNCER

Campo de la invención

5 La presente invención se refiere a compuestos, composiciones, combinaciones y medicamentos que contienen dichos compuestos y a procedimientos para su preparación. La invención también se refiere al uso de dichos compuestos, combinaciones, composiciones y medicamentos, en el tratamiento de enfermedades y afecciones en las que la modulación de STING (estimulador de genes de
10 interferón) es beneficiosa, por ejemplo, inflamación, enfermedades alérgicas y autoinmunitarias, enfermedades infecciosas, cáncer, síndromes precancerosos y como adyuvantes de vacunas.

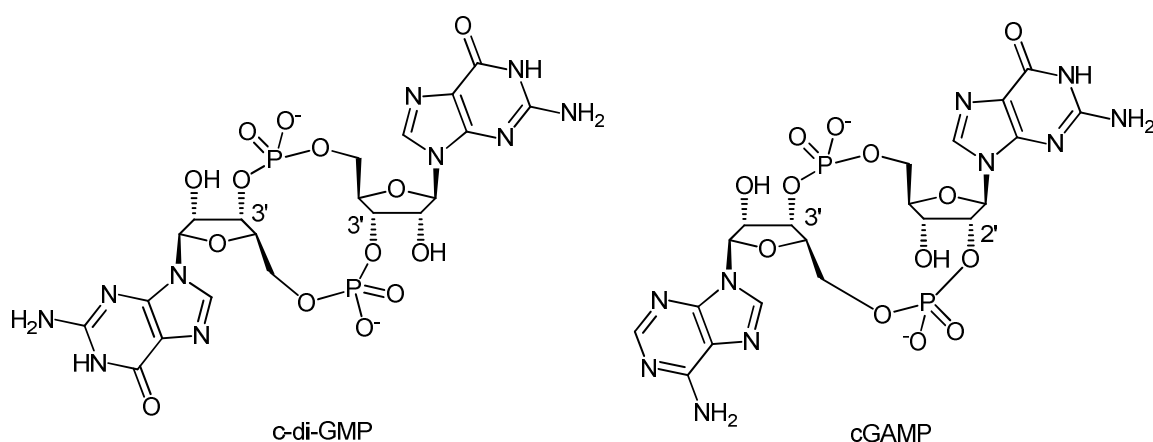
Antecedentes de la invención

15 Los vertebrados están constantemente amenazados por la invasión de microorganismos y han desarrollado mecanismos de defensa inmunitaria para eliminar los patógenos infecciosos. En los mamíferos, este sistema inmunitario comprende dos ramas; la inmunidad innata y la inmunidad adaptativa. El sistema inmunitario innato es la primera línea de defensa, que se inicia por receptores de
20 reconocimiento de patrones (RRP) que detectan ligandos de los patógenos, así como patrones moleculares asociados a daños (*Takeuchi O. et al., Cell, 2010: 140; 805-820*). Se ha identificado un número cada vez mayor de estos receptores, incluyendo receptores de tipo Toll (TLR), receptores de lectina de tipo C, receptores de tipo gen I inducible por ácido retinoico (RIG-I) y receptores de tipo NOD (NLR), y
25 también detectores de ADN bicatenario. La activación de los RRP conduce a la regulación por incremento de genes implicados en la respuesta inflamatoria, incluyendo interferones de tipo 1, citocinas y quimiocinas proinflamatorias que suprimen la replicación del patógeno y facilitan la inmunidad adaptativa.

30 La proteína adaptadora STING (estimulador de genes de interferón), también conocida como TMEM 173, MPYS, MITA y ERIS, se ha identificado como una molécula de señalización fundamental en la respuesta inmunitaria innata contra ácidos nucleicos citosólicos (*Ishikawa H y Barber G N, Nature 2008: 455, 674-678; documento WO2013/1666000*). La activación de STING da como resultado la
35 regulación por incremento de las rutas de IRF3 y NFκB que conducen a la inducción de interferón-β y otras citocinas. STING es crítico para respuestas contra ADN

citosólico de origen patógeno o del huésped, y de ácidos nucleicos inusuales llamados dinucleótidos cíclicos (CDN).

Los CDN se identificaron por primera vez como mensajeros secundarios bacterianos responsables de controlar numerosas respuestas en la célula procariota. Los CDN bacterianos, tales como c-di-GMP son moléculas simétricas caracterizadas por dos enlaces fosfodiéster 3',5'.



La activación directa de STING por CDN bacterianos se ha confirmado recientemente mediante cristalografía de rayos X (Burdette D L y Vance R E, *Nature Immunology*, 2013: 14; 19-26). Los CDN bacterianos y sus análogos, en consecuencia, han atraído el interés como potenciales adyuvantes de vacunas (Libanova R. et al., *Microbial Biotechnology* 2012: 5, 168-176; documento WO2007/054279, documento WO2005/087238).

Más recientemente, se ha dilucidado la respuesta contra ADN citosólico y se ha mostrado que implica la generación, por una enzima llamada sintasa GMP-AMP cíclica (cGAS, previamente conocida como C6orf150 o MB21D1), de una novedosa molécula de señalización de CDN de mamífero, identificada como cGAMP, que luego activa STING. A diferencia de los CDN bacterianos, la cGAMP es una molécula asimétrica que se caracteriza por sus enlaces fosfodiéster 2',5' y 3',5' mixtos. (Gao P et al., *Cell*, 2013: 153; 1-14). La interacción de cGAMP (II) con STING también se ha demostrado por cristalografía de rayos X (Cai X et al., *Molecular Cell*, 2014: 54; 289-296).

El interferón se describió por primera vez como una sustancia que podía proteger a las células de infección vírica (Isaacs y Lindemann, *J. Virus Interference. Proc. R. Soc. Lon. Ser. B. Biol. Sci.* 1957: 147; 258-267). En el hombre, los interferones de tipo I son una familia de proteínas relacionadas codificadas por genes en el

cromosoma 9 y que codifican al menos 13 isoformas de interferón alfa (IFN α) y una isoforma de interferón beta (IFN β). El IFN α recombinante fue el primer agente terapéutico biológico aprobado y se ha convertido en un tratamiento importante en infecciones víricas y en cáncer. Además de la actividad antivírica directa sobre las células, se sabe que los interferones son potentes moduladores de la respuesta inmunitaria, que actúan sobre células del sistema inmunitario.

La administración de un compuesto tradicional que podría estimular la respuesta inmunitaria innata, incluyendo la activación de interferones de tipo I y otras citocinas, podría llegar a ser una estrategia importante para el tratamiento o la prevención de enfermedades humanas, incluyendo infecciones víricas. Este tipo de estrategia inmunomoduladora tiene el potencial de identificar compuestos que pueden ser útiles no solamente en enfermedades infecciosas, sino también en cáncer (*Krieg. Curr. Oncol. Rep.*, 2004: 6(2), 88-95), enfermedades alérgicas (*Moisan J. et al., Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.*, 2006: 290, L987-995), otras afecciones inflamatorias tales como la enfermedad del colon irritable (*Rakoff-Nahoum S., Cell*, 2004, 23, 118(2): 229-41) y como adyuvantes de vacunas (*Persing et al. Trends Microbiol.* 2002: 10(10 Supl.), S32-7).

Las enfermedades alérgicas se asocian con una respuesta inmunitaria con sesgo hacia Th2 contra los alérgenos. Las respuestas Th2 se asocian con niveles elevados de IgE que, por medio de sus efectos sobre los mastocitos, promueve una hipersensibilidad a los alérgenos, dando como resultado los síntomas observados, por ejemplo, en la rinitis alérgica y el asma. En individuos sanos, la respuesta inmunitaria contra los alérgenos está más equilibrada con una respuesta Th2/Th1 mixta y de linfocitos T reguladores. Se ha mostrado que la inducción de interferones de tipo 1 da como resultado la reducción de citocinas de tipo Th2 en el entorno local y promueve respuestas Th1/Treg. En este contexto, la inducción de interferones de tipo 1 por, por ejemplo, la activación de STING, puede ofrecer beneficios en el tratamiento de enfermedades alérgicas tales como el asma y la rinitis alérgica (*Huber J.P. et al. J Immunol* 2010: 185; 813-817).

Se ha mostrado que ciertos compuestos de la invención se unen a STING e inducen interferones de tipo 1 y otras citocinas durante la incubación con CMSP humanas. Los compuestos que inducen interferones humanos pueden ser útiles en el tratamiento de diversos trastornos, por ejemplo el tratamiento de enfermedades alérgicas y otras afecciones inflamatorias, por ejemplo, rinitis alérgica y asma, el

tratamiento de enfermedades infecciosas, síndromes precancerosos y cáncer, y también pueden ser útiles como adyuvantes de vacunas. Ciertos compuestos de la invención se pueden unir a STING, pero actúan como antagonistas y estos podrían ser útiles en el tratamiento, por ejemplo, de enfermedades autoinmunitarias.

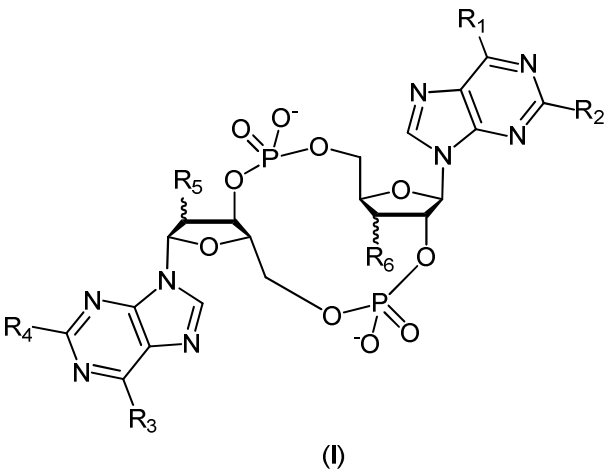
5 Se prevé que la actuación de agentes de activación o inhibidores sobre STING puede ser un enfoque prometedor para tratar enfermedades y afecciones en las que la modulación de la ruta de IFN de tipo 1 es beneficiosa, incluyendo enfermedades inflamatorias, alérgicas y autoinmunitarias, enfermedades infecciosas, cáncer,
10 síndromes precancerosos y como adyuvantes de vacunas.

Es un objetivo de la invención proporcionar dinucleótidos cíclicos adicionales, de forma adecuada para el tratamiento del cáncer.

15 Ciertos compuestos de la invención pueden ser inmunomoduladores potentes y, en consecuencia, se debe tener cuidado en su manipulación.

Sumario de la invención

20 En un aspecto se proporciona un compuesto de fórmula (I)



en la que

25 R_1 es OH y R_2 es NH_2 o R_1 es NH_2 y R_2 es H;

R_3 es OH y R_4 es NH_2 o R_3 es NH_2 y R_4 es H;

uno de R^5 y R^6 es F, el otro es F u OH;

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

5 En un aspecto adicional de la presente invención, se proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables.

10 En un aspecto adicional de la presente invención, se proporciona un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en tratamiento.

En un aspecto adicional de la presente invención, se proporciona un compuesto de
15 fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en el tratamiento de una enfermedad o afección en la que la modulación de STING es beneficiosa.

En un aspecto adicional de la presente invención, se proporciona un compuesto de
20 fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en el tratamiento de inflamación, enfermedades alérgicas y autoinmunitarias, enfermedades infecciosas, cáncer, síndromes precancerosos y como adyuvante de vacunas.

25 En un aspecto adicional de la presente invención, se proporciona un procedimiento de tratamiento de una enfermedad o afección en la que la modulación de STING es beneficiosa, en un sujeto, que comprende administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

30

En un aspecto adicional de la presente invención, se proporciona un procedimiento de tratamiento de inflamación, enfermedades alérgicas o autoinmunitarias, enfermedades infecciosas y cáncer en un sujeto, que comprende administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula (I) o una sal
35 farmacéuticamente aceptable del mismo.

En un aspecto adicional de la presente invención, se proporciona el uso de un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la fabricación de un medicamento para su uso en el tratamiento de una enfermedad o afección en la que la modulación de STING es beneficiosa.

5

En un aspecto adicional de la presente invención, se proporciona el uso de un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la fabricación de un medicamento para su uso en el tratamiento de inflamación, enfermedades alérgicas y autoinmunitarias, enfermedades infecciosas, síndromes precancerosos y cáncer.

10

En un aspecto adicional, se proporciona una combinación que comprende un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y al menos un agente terapéutico adicional.

15

En un aspecto adicional de la presente invención, se proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y al menos un agente terapéutico adicional y uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables.

20

En un aspecto adicional, se proporciona una combinación que comprende un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y al menos un agente terapéutico adicional para su uso en tratamiento.

25

En un aspecto adicional, se proporciona una combinación que comprende un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y al menos un agente terapéutico adicional para su uso en el tratamiento de una enfermedad o afección en la que la modulación de STING es beneficiosa.

30

En un aspecto adicional, se proporciona una combinación que comprende un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y al menos un agente terapéutico adicional para su uso en el tratamiento de inflamación, enfermedades alérgicas y autoinmunitarias, enfermedades infecciosas, síndromes precancerosos y cáncer.

35

En un aspecto adicional de la presente invención, se proporciona un procedimiento de tratamiento de una enfermedad o afección en la que la modulación de STING es

beneficiosa, en un sujeto, que comprende administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de una combinación que comprende un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y al menos un agente terapéutico adicional.

5

En un aspecto adicional de la presente invención, se proporciona un procedimiento de tratamiento de inflamación, enfermedades alérgicas y autoinmunitarias, enfermedades infecciosas y cáncer en un sujeto, que comprende administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de una combinación que comprende un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y al menos un agente terapéutico adicional.

10

En un aspecto adicional, se proporciona, además, un adyuvante de vacunas que comprende un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

15

En un aspecto adicional, se proporciona, además, una composición inmunogénica que comprende un antígeno o composición antigénica y un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

20

En un aspecto adicional, se proporciona, además, una composición inmunogénica que comprende un antígeno o composición antigénica y un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en el tratamiento o la prevención de enfermedad.

25

En un aspecto adicional, se proporciona, además, el uso de un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para la fabricación de una composición inmunogénica que comprende un antígeno o composición antigénica, para el tratamiento o la prevención de enfermedad.

30

En un aspecto adicional, se proporciona, además, un procedimiento de tratamiento o prevención de enfermedad, que comprende la administración a un sujeto humano que padece o es susceptible a la enfermedad, de una composición inmunogénica que comprende un antígeno o composición antigénica y un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

35

En un aspecto adicional, se proporciona, además, una composición de vacuna que comprende un antígeno o composición antigénica y un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en el tratamiento o la prevención de enfermedad.

5

En un aspecto adicional, se proporciona, además, una composición de vacuna que comprende un antígeno o composición antigénica y un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en el tratamiento o la prevención de enfermedad.

10

En un aspecto adicional, se proporciona, además, el uso de un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para la fabricación de una composición de vacuna que comprende un antígeno o composición antigénica, para el tratamiento o la prevención de enfermedad.

15

En un aspecto adicional, se proporciona, además, un procedimiento de tratamiento o prevención de enfermedad, que comprende la administración a un sujeto humano que padece o es susceptible a la enfermedad, de una composición de vacuna que comprende un antígeno o composición antigénica y un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

20

Descripción detallada de la invención

Como se usa en el presente documento, "un compuesto de la invención" incluye todos los solvatos, complejos, polimorfos, derivados radiomarcados, tautómeros, estereoisómeros e isómeros ópticos de los compuestos de fórmula (I) y sales de los mismos.

25

Como se usa en el presente documento, la expresión "cantidad eficaz" significa una cantidad de un fármaco o agente farmacéutico que provocará la respuesta biológica o médica de un tejido, sistema, animal o ser humano que está buscando, por ejemplo, un investigador o un médico. Además, la expresión "cantidad terapéuticamente eficaz" significa cualquier cantidad que, en comparación con un sujeto correspondiente que no ha recibido dicha cantidad, da como resultado una mejora en el tratamiento, curación, prevención o mejoría de una enfermedad, trastorno o efecto secundario, o una disminución en la tasa de avance de una enfermedad o trastorno. La expresión también incluye dentro de su alcance cantidades eficaces para potenciar la función fisiológica normal.

30

35

El término "profilaxis" incluye prevención y se refiere a una medida o procedimiento que es para prevenir en lugar de curar o tratar una enfermedad. Prevenir se refiere a una reducción en el riesgo de adquirir o desarrollar una enfermedad que provoca que al menos un síntoma clínico de la enfermedad no se desarrolle en un sujeto que puede estar expuesto a un agente causante de enfermedad o un sujeto predispuesto a la enfermedad, antes del comienzo de la enfermedad.

Como se usa en el presente documento, la expresión "farmacéuticamente aceptable" se refiere a aquellos compuestos, materiales, composiciones y formas farmacéuticas que son, dentro del alcance del juicio médico formal, adecuadas para su uso en contacto con los tejidos de seres humanos y animales sin excesiva toxicidad, irritación u otro problema o complicación, acorde con una proporción razonable de beneficio/riesgo.

Como se usa en el presente documento, "excipientes farmacéuticamente aceptables" incluye todos los diluyentes, portadores, aglutinantes, emolientes y otros componentes de formulaciones farmacéuticas con los que se administra el compuesto de la invención.

Los compuestos de la invención pueden existir en forma sólida o líquida. En forma sólida, el compuesto de la invención puede existir en una continuidad de estados sólidos que varían desde completamente amorfo a completamente cristalino. El término "amorfo" se refiere a un estado en el que el material carece de orden de largo alcance a nivel molecular y, dependiendo de la temperatura, puede presentar las propiedades físicas de un sólido o un líquido. Normalmente, dichos materiales no dan patrones de difracción de rayos X distintivos y, aunque presentan las propiedades de un sólido, se describen más formalmente como un líquido. Tras el calentamiento, se produce un cambio de propiedades sólidas a líquidas, que se caracteriza por un cambio de estado, normalmente de segundo orden ("transición vítrea"). El término "cristalino" se refiere a una fase sólida en la que el material tiene una estructura interna ordenada regular a nivel molecular y da un patrón de difracción de rayos X distintivo con picos definidos. Dichos materiales, cuando se calientan suficientemente, también presentarán las propiedades de un líquido, pero el cambio de sólido a líquido se caracteriza por un cambio de fase, normalmente de primer orden ("punto de fusión").

Los compuestos de la invención pueden tener la capacidad de cristalizar en más de una forma, una característica que se conoce como polimorfismo ("polimorfos"). Generalmente, el polimorfismo se puede producir como respuesta a cambios en la temperatura o la presión o ambas, y también puede resultar de variaciones en el procedimiento de cristalización. Los polimorfos se pueden distinguir por diversas características físicas conocidas en la técnica, tales como patrones de difracción de rayos X, solubilidad y punto de fusión.

El compuesto de fórmula (I) puede existir en forma solvatada y no solvatada. Como se usa en el presente documento, el término "solvato" se refiere a un complejo de estequiometría variable formado por un soluto (en la presente invención, un compuesto de fórmula (I) o una sal) y un disolvente. Dichos disolventes, para el propósito de la invención, no pueden interferir con la actividad biológica del soluto. El experto en la técnica apreciará que se pueden formar solvatos farmacéuticamente aceptables para compuestos cristalinos, en los que las moléculas de disolvente se incorporan en la red cristalina durante la cristalización. Las moléculas de disolvente incorporadas pueden ser moléculas de agua o moléculas no acuosas, tales como moléculas de etanol, isopropanol, DMSO, ácido acético, etanolamina y acetato de etilo. La red cristalina con moléculas de agua incorporadas se denomina normalmente "hidratos". Los hidratos incluyen hidratos estequiométricos, así como composiciones que contienen cantidades variables de agua. La presente invención incluye todos estos solvatos.

También cabe señalar que los compuestos de fórmula (I) pueden formar tautómeros. "Tautómeros" se refiere a compuestos que son formas intercambiables de una estructura de compuesto particular y que varían en el desplazamiento de átomos de hidrógeno y electrones. De este modo, dos estructuras pueden estar en equilibrio mediante el movimiento de los electrones π y un átomo (habitualmente H). Por ejemplo, los enoles y las cetonas son tautómeros porque se interconvierten rápidamente por tratamiento con ácido o base. Se entiende que todos los tautómeros y mezclas de tautómeros de los compuestos de la presente invención se incluyen dentro del alcance de los compuestos de la presente invención. Por ejemplo y claridad absoluta, en los compuestos de fórmula (I) cuando R^1 o R^3 representan OH, los compuestos formarán el tautómero ceto ($=O$).

En un aspecto R^5 y R^6 son ambos F.

En un aspecto R^5 es F y R^6 es OH.

5 En un aspecto R^5 es OH y R^6 es F.

En un aspecto R^1 es OH, R^2 es NH_2 , R^3 es OH y R^4 es NH_2 (R^1 y R^3 están en la forma tautomérica ceto, $=O$).

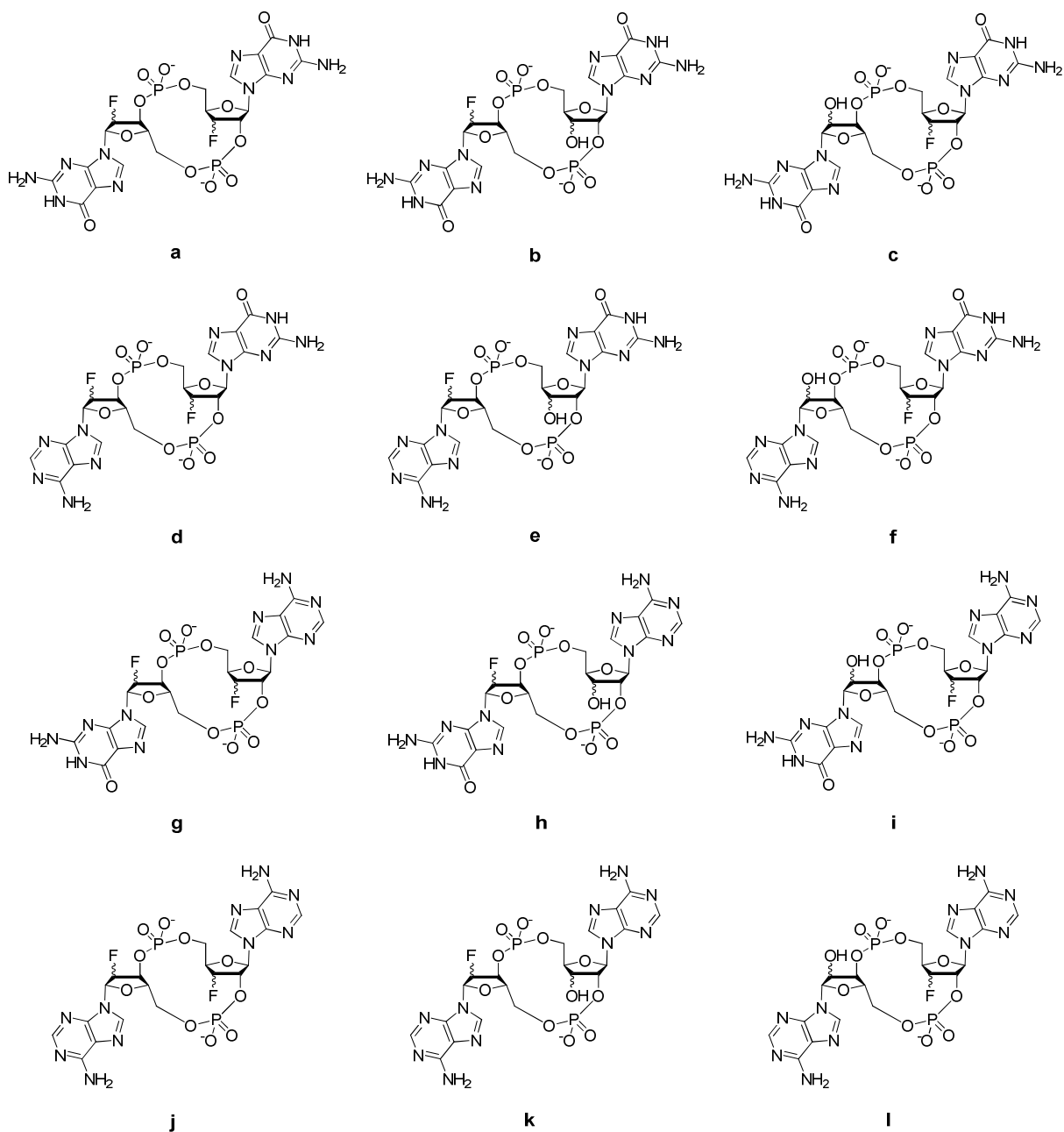
10 En un aspecto R^1 es OH, R^2 es NH_2 , R^3 es NH_2 y R^4 es H (R^1 está en la forma tautomérica ceto, $=O$).

En un aspecto R^1 es NH_2 , R^2 es H, R^3 es OH y R^4 es NH_2 (R^3 está en la forma tautomérica ceto, $=O$).

15

En un aspecto R^1 es NH_2 , R^2 es H, R^3 es NH_2 y R^4 es H.

Aunque los aspectos para cada variable se han enumerado anteriormente, en general, por separado para cada variable, la presente invención incluye aquellos
 20 compuestos en los que varios o cada uno de los aspectos en la fórmula (I) se selecciona a partir de cada uno de los aspectos enumerados anteriormente. Por lo tanto, la presente invención pretende incluir todas las combinaciones de aspectos para cada variable tal como se muestra a continuación:



Ejemplos de compuestos de la presente invención incluyen los siguientes:

(1*R*,6*R*,8*R*,9*R*,10*R*,15*R*,17*R*,18*R*)-17-(2-Amino-6-oxo-6,9-dihidro-1*H*-purin-9-il)-8-(6-amino-9*H*-purin-9-il)-9-fluoro-3,12,18-trihidroxi-2,4,7,11,13,16-hexaoxa-3 λ^5 ,12 λ^5 -difosfatriciclo[13.2.1.0^{6,10}]octadecano-3,12-diona, en particular una sal del mismo, más particularmente la sal bis-amónica.

(1*R*,6*R*,8*R*,9*R*,10*R*,15*R*,17*R*,18*R*)-8,17-bis(6-Amino-9*H*-purin-9-il)-9-fluoro-3,12,18-trihidroxi-2,4,7,11,13,16-hexaoxa-3 λ^5 ,12 λ^5 -difosfatriciclo[13.2.1.0^{6,10}]octadecano-3,12-diona, en particular una sal del mismo, más particularmente la sal bis-amónica.

Los compuestos de fórmula (I) pueden estar en forma de una sal.

Normalmente, las sales de la presente invención son sales farmacéuticamente aceptables. Las sales englobadas dentro de la expresión "sales farmacéuticamente aceptables" se refieren a sales no tóxicas de los compuestos de la presente invención. Para una recapitulación sobre sales adecuadas véase Berge *et al.*, J.

5 Pharm. Sci. 1977, 66, 1-19.

Las sales farmacéuticamente aceptables adecuadas pueden incluir sales de adición de ácido.

10 Una sal de adición de ácido farmacéuticamente aceptable se puede formar por reacción de un compuesto de fórmula (I) con un ácido inorgánico u orgánico adecuado (tal como ácido bromhídrico, clorhídrico, sulfúrico, nítrico, fosfórico, p-toluenosulfónico, bencenosulfónico, metanosulfónico, etanosulfónico, naftalenosulfónico tal como 2-naftalenosulfónico), opcionalmente en un disolvente
15 adecuado tal como un disolvente orgánico, para dar la sal que habitualmente se aísla, por ejemplo, por cristalización y filtración. Una sal de adición de ácido farmacéuticamente aceptable de un compuesto de fórmula (I) puede comprender o ser, por ejemplo, una sal bromhidrato, clorhidrato, sulfato, nitrato, fosfato, p-toluenosulfonato, bencenosulfonato, metanosulfonato, etanosulfonato,
20 naftalenosulfonato (por ejemplo, 2-naftalenosulfonato).

Se pueden usar otras sales no farmacéuticamente aceptables, por ejemplo, trifluoroacetatos, por ejemplo, en el aislamiento de compuestos de la invención, y están incluidas dentro del alcance de la presente invención.

25

La invención incluye, dentro de su alcance, todas las formas estequiométricas y no estequiométricas posibles de los compuestos de fórmula (I).

Aunque es posible que, para su uso en tratamiento, el compuesto de la invención se
30 pueda administrar como el producto químico bruto, es posible presentar el compuesto de la invención como ingrediente activo como una composición farmacéutica. Dichas composiciones se pueden preparar de una manera bien conocida en la técnica farmacéutica y comprenden al menos un compuesto activo. En consecuencia, la invención proporciona, además, composiciones farmacéuticas
35 que comprenden un compuesto de la invención y uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables. El/los excipiente(s) debe(n) ser aceptable(s) en el sentido de ser compatible(s) con los otros ingredientes de la composición y no

perjudicial(es) para el destinatario del/de los mismo(s). De acuerdo con otro aspecto de la invención, también se proporciona un procedimiento para la preparación de una composición farmacéutica que incluye el agente, o sales farmacéuticamente aceptables del mismo, con uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables. La

5 composición farmacéutica puede ser para su uso en el tratamiento y/o profilaxis de cualquiera de las afecciones descritas en el presente documento.

En general, el compuesto de la invención se administra en una cantidad farmacéuticamente eficaz. La cantidad del compuesto administrada realmente la

10 determinará normalmente un médico, a la luz de las circunstancias pertinentes, incluyendo la afección que se va a tratar, la vía de administración elegida, el compuesto real administrado, la edad, el peso y la respuesta del paciente individual, la gravedad de los síntomas del paciente y similares.

15 Las composiciones farmacéuticas se pueden presentar en formas de dosis unitaria que contienen una cantidad predeterminada de ingrediente activo por dosis unitaria. La expresión "formas de dosificación unitaria" se refiere a unidades físicamente diferenciadas adecuadas como dosificaciones unitarias para sujetos humanos y otros mamíferos, conteniendo cada unidad una cantidad predeterminada de material

20 activo calculada para producir el efecto terapéutico deseado, en asociación con un excipiente, vehículo o portador farmacéutico adecuado. Las formas de dosificación unitaria típicas incluyen ampollas o jeringuillas llenadas y medidas previamente de las composiciones líquidas o pastillas, comprimidos, cápsulas o similares en el caso de composiciones sólidas.

25 Las composiciones de dosificación unitaria preferentes son aquellas que contienen una dosis o subdosis diaria, o una fracción apropiada de las mismas, de un ingrediente activo. Dichas dosis unitarias se pueden administrar, por lo tanto, una vez o más de una vez al día. Dichas composiciones farmacéuticas se pueden

30 preparar por cualquiera de los procedimientos bien conocidos en la técnica de farmacia.

Las composiciones farmacéuticas se pueden adaptar para su administración por cualquier vía apropiada, por ejemplo, por la vía oral (incluyendo bucal o sublingual),

35 rectal, inhalatoria, intranasal, tópica (incluyendo bucal, sublingual o transdérmica), vaginal o parenteral (incluyendo subcutánea, intramuscular, intravenosa o intradérmica). Dichas composiciones se pueden preparar por cualquier

procedimiento conocido en la técnica de farmacia, por ejemplo, mezclando el ingrediente activo con el/los portador(es) o excipiente(s).

Además de las vías de administración descritas anteriormente para el tratamiento del
5 cáncer, las composiciones farmacéuticas se pueden adaptar para administración por
inyección intratumoral o peritumoral. La activación del sistema inmunitario de esta
manera para destruir tumores en un sitio remoto se conoce comúnmente como el
efecto abscopal y se ha demostrado en animales con múltiples modalidades
terapéuticas (*Van der Jeught et al., Oncotarget, 2015, 6(3), 1359-1381*). Una ventaja
10 adicional de la administración local o intratumoral o peritumoral es la capacidad de
lograr una eficacia equivalente a dosis mucho menores, minimizando o eliminando
de este modo los acontecimientos adversos que se pueden observar a dosis
sistémicas mucho mayores (*Marabelle, A., et al., Clinical Cancer Research, 2014,*
20(7), p1747-1756).

15 Las composiciones farmacéuticas adaptadas para administración oral se pueden
presentar como unidades diferenciadas tales como cápsulas o comprimidos; polvos
o gránulos; soluciones o suspensiones en líquidos acuosos o no acuosos; espumas
o batidos comestibles; o emulsiones líquidas de aceite en agua o emulsiones
20 líquidas de agua en aceite.

Por ejemplo, para la administración oral en forma de un comprimido o cápsula, el
componente de fármaco activo se puede combinar con un excipiente inerte
farmacéuticamente aceptable no tóxico, oral, tal como etanol, glicerol, agua y
25 similares. Los polvos se preparan reduciendo el compuesto a un tamaño fino
adecuado y mezclando con un excipiente farmacéutico preparado de forma similar,
tal como un carbohidrato comestible, como, por ejemplo, almidón o manitol. También
puede estar presente un agente saborizante, conservante, dispersante y colorante.

30 Las cápsulas se hacen preparando una mezcla en polvo, como se describe
anteriormente, y llenando cubiertas de gelatina formadas. Se pueden añadir
excipientes, incluyendo emolientes y lubricantes, tales como sílice coloidal, talco,
estearato de magnesio, estearato de calcio o polietilenglicol sólido a la mezcla en
polvo antes de la operación de llenado. También se puede añadir un agente
35 disgregante o solubilizante tal como agar-agar, carbonato de calcio o carbonato de
sodio, para mejorar la disponibilidad del medicamento cuando se ingiere la cápsula.

Además, cuando se desee o sea necesario, también se pueden incorporar a la mezcla excipientes que incluyen aglutinantes, emolientes, lubricantes, agentes edulcorantes, sabores, agentes disgregantes y agentes colorantes adecuados. Los aglutinantes adecuados incluyen almidón, gelatina, azúcares naturales tales como glucosa o beta-lactosa, edulcorantes de maíz, gomas naturales y sintéticas tales como goma arábica, goma tragacanto o alginato de sodio, carboximetilcelulosa, polietilenglicol, ceras y similares. Los lubricantes usados en estas formas de dosificación incluyen oleato de sodio, estearato de sodio, estearato de magnesio, benzoato de sodio, acetato de sodio, cloruro de sodio y similares. Los disgregantes incluyen, sin limitaciones, almidón, metilcelulosa, agar, bentonita, goma xantana y similares. Los comprimidos se formulan, por ejemplo, preparando una mezcla en polvo, granulando o precomprimiendo, añadiendo un lubricante y disgregante, y prensando en comprimidos. Se prepara una mezcla en polvo mezclando el compuesto, pulverizado de forma adecuada, con un diluyente o base como se describe anteriormente y, opcionalmente, con un aglutinante tal como carboximetilcelulosa, un alginato, gelatina o polivinilpirrolidona, una solución retardadora tal como parafina, un acelerador de resorción tal como una sal cuaternaria y/o un agente de absorción tal como bentonita, caolín o fosfato de dicalcio. La mezcla en polvo se puede granular por humectación con un aglutinante tal como jarabe, pasta de almidón, mucílago de goma arábica o soluciones de materiales celulósicos o poliméricos y forzándola a través de un tamiz. Como alternativa a la granulación, se puede hacer pasar la mezcla en polvo a través de una máquina compresora y el resultado son lingotes formados imperfectamente que se rompen en gránulos. Los gránulos se pueden lubricar para evitar que se adhieran a las matrices formadoras de comprimidos por medio de la adición de ácido esteárico, una sal de estearato, talco o aceite de vaselina. La mezcla lubricada se comprime a continuación en comprimidos. Los compuestos de la presente invención también se pueden combinar con un portador inerte fluido y comprimirse en comprimidos directamente sin pasar a través de las etapas de granulación o precompresión. Se puede proporcionar un recubrimiento protector transparente u opaco que consiste en un revestimiento sellante de goma laca, un recubrimiento de azúcar o material polimérico y un recubrimiento pulido de cera. Se pueden añadir tintes a estos recubrimientos para distinguir dosificaciones unitarias diferentes.

Se pueden preparar fluidos orales tales como disolución, suspensiones, jarabes y elixires en forma de unidad de dosificación de modo que una cantidad dada contenga una cantidad predeterminada del compuesto. Se pueden preparar jarabes

disolviendo el compuesto en una solución acuosa saborizada de forma adecuada, mientras que los elixires se preparan mediante el uso de un vehículo alcohólico no tóxico. Se pueden formular suspensiones dispersando el compuesto en un vehículo no tóxico. También se pueden añadir solubilizantes y emulsionantes tales como

5 alcoholes isoestearílicos etoxilados y éteres de polioxietilen-sorbitol, conservantes, aditivos de sabor tales como aceite de menta piperita o edulcorantes naturales o sacarina u otros edulcorantes artificiales y similares.

Cuando sea apropiado, se pueden microencapsular composiciones de unidad de

10 dosificación para administración oral. También se puede preparar la composición para prolongar o mantener la liberación como, por ejemplo, recubriendo o incrustando material particulado en polímeros, cera o similares.

También se pueden administrar los compuestos de la invención en forma de

15 sistemas de administración de liposomas, tales como vesículas unilaminares pequeñas, vesículas unilaminares grandes y vesículas multilaminares. Se pueden formar liposomas a partir de varios fosfolípidos, tales como colesterol, estearilamina o fosfatidilcolinas.

20 Las composiciones farmacéuticas adaptadas para administración transdérmica se pueden presentar como parches diferenciados destinados a permanecer en contacto íntimo con la epidermis del destinatario durante un periodo de tiempo prolongado.

Las composiciones farmacéuticas adaptadas para administración tópica se pueden

25 formular como pomadas, cremas, suspensiones, lociones, polvos, soluciones, pastas, geles, pulverizaciones, aerosoles o aceites.

Para tratamientos oculares o de otros tejidos externos, por ejemplo, la boca y la piel, las composiciones se aplican preferentemente como pomada o crema tópica.

30 Cuando se formula en una pomada, el ingrediente activo se puede emplear con una base de pomada parafínica o miscible en agua. De forma alternativa, el ingrediente activo se puede formular en una crema con una base de crema de aceite en agua o una base de agua en aceite.

35 Las composiciones farmacéuticas adaptadas para administraciones tópicas al ojo incluyen colirios en los que se disuelve o suspende el ingrediente activo en un portador adecuado, especialmente un disolvente acuoso.

Las composiciones farmacéuticas adaptadas para administración tópica en la boca incluyen pastillas para chupar, pastillas y enjuagues bucales.

- 5 Las composiciones farmacéuticas adaptadas para administración rectal se pueden presentar como supositorios o como enemas.

Las formas de dosificación para administración nasal o inhalatoria se pueden formular convenientemente como aerosoles, soluciones, suspensiones, gotas, geles
10 o polvos secos.

Las composiciones para administración intranasal incluyen composiciones acuosas administradas en la nariz por goteo o por una bomba presurizada. Las composiciones adecuadas contienen agua como diluyente o portador para este
15 propósito. Las composiciones para administración en el pulmón o la nariz pueden contener uno o más excipientes, por ejemplo, uno o más agentes de suspensión, uno o más conservantes, uno o más tensioactivos, uno o más agentes de ajuste de la tonicidad, uno o más codisolventes y pueden incluir componentes para controlar el pH de la composición, por ejemplo, un sistema amortiguador. Además, las
20 composiciones pueden contener otros excipientes tales como antioxidantes, por ejemplo, metabisulfito de sodio y agentes enmascaradores del sabor. Las composiciones también se pueden administrar en la nariz u otras regiones de las vías respiratorias por nebulización.

25 Las composiciones intranasales pueden permitir que el/los compuesto(s) de fórmula (I) o (una) sal(es) farmacéuticamente aceptable(s) del/de los mismo(s) se libere(n) en todas las áreas de las cavidades nasales (el tejido objetivo) y, además, pueden permitir que el/los compuesto(s) de fórmula (I) o (una) sal(es) farmacéuticamente aceptable(s) del/de los mismo(s) permanezca(n) en contacto con el tejido objetivo
30 durante periodos de tiempo más largos. Un régimen de dosificación adecuado para composiciones intranasales sería que el paciente inhale lentamente por la nariz hasta que la cavidad nasal se le despeje. Durante la inhalación, la composición se administraría en una narina mientras que la otra se comprime manualmente. Este procedimiento se repetiría entonces para la otra narina. Normalmente, se
35 administrarían una o dos pulverizaciones por narina por el procedimiento anterior una, dos o tres veces cada día, idealmente una vez al día. Son de particular interés las composiciones intranasales adecuadas para su administración una vez al día.

El/los agente(s) de suspensión, si se incluye(n), normalmente estará(n) presente(s) en una cantidad de desde un 0,1 a un 5 % (p/p), tal como desde un 1,5 % a un 2,4 % (p/p), basada en el peso total de la composición. Ejemplos de agentes de suspensión farmacéuticamente aceptables incluyen, pero no se limitan a, Avicel[®] (celulosa microcristalina y carboximetilcelulosa de sodio), carboximetilcelulosa de sodio, Veegum, goma tragacanto, bentonita, metilcelulosa, goma xantana, carbopol y polietilenglicoles.

- 10 Las composiciones para administración al pulmón o la nariz pueden contener uno o más excipientes, que se pueden proteger de la contaminación y el crecimiento microbiano o fúngico por inclusión de uno o más conservantes. Ejemplos de conservantes o agentes antimicrobianos farmacéuticamente aceptables incluyen, pero no se limitan a, compuestos de amonio cuaternario (por ejemplo, cloruro de benzalconio, cloruro de bencetonio, cetrimida, cloruro de cetilpiridinio, cloruro de lauralconio y cloruro de miristilpicolinio), agentes mercuriales (por ejemplo, nitrato fenilmercúrico, acetato fenilmercúrico y timerosal), agentes alcohólicos (por ejemplo, clorobutanol, alcohol feniletílico y alcohol bencílico), ésteres antibacterianos (por ejemplo, ésteres de ácido para-hidroxibenzoico), agentes quelantes, tales como edetato de disodio (EDTA) y otros agentes antimicrobianos, tales como clorhexidina, clorocresol, ácido sórbico y sus sales (tales como sorbato de potasio) y polimixina. Ejemplos de conservantes o agentes antifúngicos farmacéuticamente aceptables incluyen, pero no se limitan a, benzoato de sodio, ácido sórbico, propionato de sodio, metilparabeno, etilparabeno, propilparabeno y butilparabeno. El/los conservante(s), si se incluye(n), puede(n) estar presente(s) en una cantidad de desde un 0,001 a un 1 % (p/p), tal como desde un 0,015 % a un 0,5 % (p/p), basada en el peso total de la composición.

- 30 Las composiciones (por ejemplo, en las que al menos un compuesto está en suspensión) pueden incluir uno o más tensioactivos que funcionan facilitando la disolución de las partículas de medicamento en la fase acuosa de la composición. Por ejemplo, la cantidad de tensioactivo usada es una cantidad que no causará formación de espuma durante la mezcla. Ejemplos de tensioactivos farmacéuticamente aceptables incluyen alcoholes grasos, ésteres y éteres, tales como monooleato de polioxietilen (20)-sorbitano (Polisorbato 80), éteres de macrogol y poloxámeros. El tensioactivo puede estar presente en una cantidad de entre aproximadamente un 0,01 a un 10 % (p/p), tal como desde un 0,01 a un 0,75 %

(p/p), por ejemplo, aproximadamente un 0,5 % (p/p), basada en el peso total de la composición.

Se puede incluir uno o más agentes de ajuste de la tonicidad para lograr tonicidad con líquidos corporales, por ejemplo, líquidos de la cavidad nasal, dando como resultado niveles reducidos de irritación. Ejemplos de agentes de ajuste de la tonicidad farmacéuticamente aceptables incluyen, pero no se limitan a, cloruro de sodio, dextrosa, xilitol, cloruro de calcio, glucosa, glicerina y sorbitol. Un agente de ajuste de la tonicidad, si está presente, se puede incluir en una cantidad de desde un 0,1 a un 10 % (p/p), tal como desde un 4,5 a un 5,5 % (p/p), por ejemplo, aproximadamente un 5,0 % (p/p), basada en el peso total de la composición.

Las composiciones de la invención se pueden amortiguar por la adición de agentes amortiguadores adecuados, tales como citrato de sodio, ácido cítrico, trometamol, fosfatos tales como fosfato de disodio (por ejemplo, las formas dodecahidrato, heptahidrato, dihidrato y anhidra) o fosfato de sodio y mezclas de los mismos.

Un agente amortiguador, si está presente, se puede incluir en una cantidad de desde un 0,1 a un 5 % (p/p), por ejemplo, de un 1 a un 3 % (p/p), basada en el peso total de la composición.

Ejemplos de agentes enmascaradores del sabor incluyen sucralosa, sacarosa, sacarina o una sal de las mismas, fructosa, dextrosa, glicerol, jarabe de maíz, aspartamo, acesulfamo-K, xilitol, sorbitol, eritritol, glicirricinato de amonio, taumatina, neotamo, manitol, mentol, aceite de eucalipto, alcanfor, un agente saborizante natural, un agente saborizante artificial y combinaciones de los mismos.

Se puede incluir uno o más codisolventes para ayudar a la solubilidad del/de los compuesto(s) de medicamento y/u otros excipientes. Ejemplos de codisolventes farmacéuticamente aceptables incluyen, pero no se limitan a, propilenglicol, dipropilenglicol, etilenglicol, glicerol, etanol, polietilenglicoles (por ejemplo, PEG300 o PEG400) y metanol. En un modo de realización, el codisolvente es propilenglicol.

El/los codisolvente(s), si está(n) presente(s), se puede(n) incluir en una cantidad de desde un 0,05 a un 30 % (p/p), tal como desde un 1 a un 25 % (p/p), por ejemplo, desde un 1 a un 10 % (p/p), basada en el peso total de la composición.

Las composiciones para administración inhalatoria incluyen composiciones acuosas, orgánicas o mezclas acuosas/orgánicas, de polvo seco o cristalinas administradas en las vías respiratorias por bomba presurizada o inhalador, por ejemplo, inhaladores de polvo seco en depósito, inhaladores de polvo seco de dosis unitaria, 5 inhaladores de polvo seco de múltiples dosis medidas previamente, inhaladores nasales o inhaladores presurizados de aerosol, nebulizadores o insufladores. Las composiciones adecuadas contienen agua como diluyente o portador para este propósito y pueden estar provistas de excipientes convencionales, tales como agentes amortiguadores, agentes modificadores de la tonicidad y similares. Las 10 composiciones acuosas también se pueden administrar en la nariz y otras regiones de las vías respiratorias por nebulización. Dichas composiciones pueden ser soluciones o suspensiones o aerosoles acuosos suministrados a partir de envases presurizados, tales como un inhalador dosificador, con el uso de un propelente licuado adecuado.

15

Las composiciones para administración por vía tópica en la nariz (por ejemplo, para el tratamiento de la rinitis) o en el pulmón incluyen composiciones de aerosol presurizadas y composiciones acuosas suministradas a las cavidades nasales por una bomba presurizada. Las composiciones que no están presurizadas y son 20 adecuadas para administración por vía tópica en la cavidad nasal son de particular interés. Las composiciones adecuadas contienen agua como diluyente o portador para este propósito. Las composiciones acuosas para administración en el pulmón o la nariz pueden estar provistas de excipientes convencionales, tales como agentes amortiguadores, agentes modificadores de la tonicidad y similares. Las 25 composiciones acuosas también se pueden administrar en la nariz por nebulización.

Se puede usar un dispensador de fluido normalmente para administrar una composición fluida a las cavidades nasales. La composición fluida puede ser acuosa o no acuosa, pero normalmente acuosa. Dicho dispensador de fluido puede tener 30 una boquilla dispensadora u orificio dispensador mediante el que se dispensa una dosis medida de la composición fluida tras la aplicación de una fuerza aplicada por el usuario a un mecanismo de bomba del dispensador de fluido. Dichos dispensadores de fluido están provistos generalmente de un depósito de múltiples dosis medidas de la composición fluida, pudiendo dispensarse las dosis tras descargas secuenciales 35 de la bomba. La boquilla u orificio dispensador puede estar configurado para su inserción en las narinas del usuario para la dispensación por pulverización de la composición fluida en la cavidad nasal. Un dispensador de fluido del tipo

mencionado anteriormente se describe e ilustra en la publicación de solicitud de patente internacional número WO 2005/044354 (Glaxo Group Limited). El dispensador tiene una carcasa que aloja un dispositivo de descarga de fluido que tiene una bomba de compresión montada sobre un recipiente para que contenga una composición fluida. La carcasa tiene al menos una palanca lateral accionable con el dedo, que se puede mover hacia dentro con respecto a la carcasa para mover el recipiente hacia arriba en la carcasa por medio de una leva, para provocar que la bomba comprima y bombee una dosis medida de la composición desde un vástago de la bomba a través de una boquilla nasal de la carcasa. En un modo de realización, el dispensador de fluido es del tipo general ilustrado en las figuras 30-40 del documento WO 2005/044354.

Las composiciones acuosas que contienen un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo también se pueden administrar por una bomba como se divulga en la publicación de solicitud de patente internacional número WO2007/138084 (Glaxo Group Limited), por ejemplo, como se divulga con referencia a las figuras 22-46 de la misma, o como se divulga en la solicitud de patente de Reino Unido número GB0723418.0 (Glaxo Group Limited), por ejemplo, como se divulga con referencia a las figuras 7-32 de la misma. La bomba se puede accionar por un accionador como se divulga en las figuras 1-6 del documento GB0723418.0.

Las composiciones de polvo seco para administración tópica en el pulmón por inhalación se pueden presentar, por ejemplo, en cápsulas y cartuchos, por ejemplo, de gelatina, o en envases alveolados, por ejemplo, de papel de aluminio laminado, para su uso en un inhalador o insuflador. Las composiciones de combinación en polvo contienen, en general, una mezcla en polvo para la inhalación del compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y una base en polvo adecuada (sustancia portadora/diluyente/excipiente), tal como mono-, di- o polisacáridos (por ejemplo, lactosa o almidón). Las composiciones de polvo seco pueden incluir también, además del fármaco y el portador, un excipiente adicional (por ejemplo, un agente ternario tal como un éster de azúcar, por ejemplo, octaacetato de celobiosa, estearato de calcio o estearato de magnesio).

En un modo de realización, una composición adecuada para administración inhalatoria se puede incorporar a una pluralidad de recipientes de dosis sellada proporcionados en envase(s) para medicamentos montado(s) en el interior de un

dispositivo de inhalación adecuado. Los recipientes pueden ser rompibles, aptos para despegado o en caso contrario se pueden abrir de uno en uno y las dosis de la composición de polvo seco se administran por inhalación en una boquilla del dispositivo de inhalación, como se conoce en la técnica. El envase para
5 medicamentos puede adoptar varias formas diferentes, por ejemplo, una tira discoidal o alargada. Los dispositivos de inhalación representativos son los dispositivos DISKHALER™ y DISKUS™, comercializados por GlaxoSmithKline.

Una composición inhalable de polvo seco también se puede proporcionar como un
10 depósito de carga en un dispositivo de inhalación, estando provisto entonces el dispositivo de un mecanismo dosificador para medir una dosis de la composición desde el depósito hasta un canal de inhalación en el que la dosis medida se puede inhalar por un paciente que inhala en una boquilla del dispositivo. Los dispositivos comercializados a modo de ejemplo de este tipo son TURBUHALER™
15 (AstraZeneca), TWISTHALER™ (Schering) y CLICKHALER™ (Innovata).

Un procedimiento de administración adicional para una composición inhalable de polvo seco es para dosis medidas de la composición que se van a proporcionar en cápsulas (una dosis por cápsula) que luego se cargan en un dispositivo de
20 inhalación, normalmente por el paciente a su voluntad. El dispositivo tiene un medio para romper, perforar o de lo contrario abrir la cápsula, de manera que la dosis se pueda arrastrar al pulmón del paciente cuando inhala en la boquilla del dispositivo. Como ejemplos comercializados de dichos dispositivos, se pueden mencionar ROTAHALER™ (GlaxoSmithKline) y HANDIHALER™ (Boehringer Ingelheim).

25 Las composiciones de aerosol presurizadas adecuadas para inhalación pueden ser una suspensión o bien una solución y pueden contener un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y un propelente adecuado tal como un fluorocarbono o clorofluorocarbono que contiene hidrógeno o mezclas de
30 los mismos, particularmente hidrofluoroalcanos, especialmente 1,1,1,2-tetrafluoroetano, 1,1,1,2,3,3,3-heptafluoro-n-propano o una mezcla de los mismos. La composición de aerosol puede contener opcionalmente excipientes de composición adicionales bien conocidos en la técnica tales como tensioactivos, por ejemplo, ácido oleico, lecitina o un ácido oligoláctico o derivado del mismo, por
35 ejemplo como se describe en el documento WO 94/21229 y el documento WO 98/34596 (Minnesota Mining and Manufacturing Company) y codisolventes, por ejemplo, etanol. Las composiciones presurizadas, en general, se retendrán en un

bote (por ejemplo, un bote de aluminio) cerrado con una válvula (por ejemplo, una válvula dosificadora) y ajustado en un accionador provisto de una boquilla.

5 Las composiciones farmacéuticas adaptadas para administración vaginal se pueden presentar como óvulos vaginales, tampones, cremas, geles, pastas, espumas o formulaciones de pulverización.

10 Las composiciones farmacéuticas adaptadas para administración parenteral incluyen soluciones acuosas y no acuosas estériles para inyección que pueden contener antioxidantes, soluciones amortiguadoras, agentes bacteriostáticos y solutos que dan lugar a la composición isotónica con la sangre del destinatario deseado; y suspensiones acuosas y no acuosas estériles que pueden incluir agentes de suspensión y agentes espesantes. Las composiciones se pueden presentar en recipientes de dosis unitaria o dosis múltiple, por ejemplo, ampollas y viales sellados,
15 y se pueden almacenar en estado secado por congelación (liofilizado) que únicamente requiere la adición del portador líquido estéril, por ejemplo, agua para inyecciones, inmediatamente antes de su uso. Las soluciones y suspensiones de inyección sin preparación previa se pueden preparar a partir de polvos estériles, gránulos y comprimidos.

20

Se debe entender que además de los ingredientes mencionados anteriormente particularmente, las composiciones pueden incluir otros agentes convencionales en la técnica teniendo en consideración el tipo de formulación en cuestión, por ejemplo, aquellas adecuadas para administración oral pueden incluir agentes saborizantes.

25

Se pueden administrar moléculas de interferencia por ARN o de antisentido al mamífero que necesite las mismas. De forma alternativa, se pueden administrar construcciones que incluyen las mismas. Dichas moléculas y construcciones se pueden usar para interferir con la expresión de la proteína de interés, por ejemplo, la
30 histona desmetilasa y, como tal, modificar la desmetilación de histonas. Normalmente, la administración es por medios conocidos en la técnica.

Se pueden administrar moléculas de interferencia por ARN o antisentido *in vitro* a células o *in vivo*, por ejemplo, a tumores de un mamífero. Los modos de
35 administración se pueden usar sin limitaciones, incluyendo: intravenosa, intramuscular, intraperitoneal, intraarterial, administración local durante cirugía, endoscópica, subcutánea y por vía oral. Se pueden seleccionar vectores por sus

propiedades deseables para cualquier aplicación particular. Los vectores pueden ser víricos o plasmídicos. Los vectores adenovíricos son útiles a este respecto. Se pueden usar promotores específicos de tejido, específicos de tipo celular o de lo contrario regulables para controlar la transcripción de las moléculas polinucleotídicas inhibidoras. También se pueden usar portadores no víricos, tales como liposomas o nanoesferas.

Los compuestos de fórmula (I) y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos también se pueden formular con vacunas como adyuvantes para modular su actividad. Dichas composiciones pueden contener anticuerpos o fragmentos de anticuerpo o un componente antigénico incluyendo, pero sin limitarse a, proteína, ADN, bacterias y/o virus vivos o muertos o partículas similivíricas, junto con uno o más componentes con actividad adyuvante incluyendo, pero sin limitarse a, sales de aluminio, emulsiones de aceite y agua, proteínas de choque térmico, preparaciones de lípido A y derivados, glucolípidos, otros agonistas de TLR tales como ADN CpG o agentes similares, citocinas tales como GM-CSF o IL-12 o agentes similares.

Una cantidad terapéuticamente eficaz del agente dependerá de varios factores incluyendo, por ejemplo, la edad y el peso del sujeto, la afección precisa que requiere tratamiento y su gravedad, la naturaleza de la formulación y la vía de administración y, en última instancia, dependerá del juicio del médico o veterinario encargado. En particular, el sujeto que se va a tratar es un mamífero, particularmente un ser humano.

El agente se puede administrar en una dosis diaria. Esta cantidad se puede dar en una única dosis por día o más habitualmente en varias (tales como dos, tres, cuatro, cinco o seis) subdosis por día, de modo que la dosis diaria total sea la misma.

De forma adecuada, la cantidad del compuesto de la invención administrada de acuerdo con la presente invención será una cantidad seleccionada de 0,01 mg a 1 g por día (calculada como el compuesto libre o sin sal).

Los compuestos de fórmula (I) y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos se pueden emplear en solitario o en combinación con otros agentes terapéuticos. Los compuestos de fórmula (I) y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos y el/los otro(s) agente(s) farmacéuticamente activo(s) se pueden administrar juntos o por separado y cuando se administran por separado, la administración se puede

producir de forma simultánea o secuencial, en cualquier orden, por cualquier vía conveniente en composiciones farmacéuticas combinadas o separadas.

Las cantidades del/los compuesto(s) de fórmula (I) o sal(es) farmacéuticamente
5 aceptable(s) del/los mismo(s) y el/los otro(s) agente(s) farmacéuticamente activo(s) y
los horarios relativos de administración se seleccionarán a fin de lograr el efecto
terapéutico combinado deseado. Los compuestos de la presente invención y
agente(s) terapéutico(s) adicional(es) se pueden emplear en combinación por
administración de manera simultánea en una composición farmacéutica unitaria que
10 incluye ambos compuestos. De forma alternativa, la combinación se puede
administrar por separado en composiciones farmacéuticas separadas, incluyendo,
cada una, uno de los compuestos de una manera secuencial en la que, por ejemplo,
el compuesto de la invención se administra en primer lugar y el otro en segundo
lugar y viceversa. Dicha administración secuencial puede ser cercana en el tiempo
15 (por ejemplo, de manera simultánea) o remota en el tiempo. Además, no importa si
los compuestos se administran en la misma forma de dosificación, por ejemplo, un
compuesto se puede administrar por vía tópica y el otro compuesto se puede
administrar por vía oral. De forma adecuada, ambos compuestos se administran por
vía oral.

20

Las combinaciones se pueden presentar como un kit de combinación. Por la
expresión "kit de combinación" o "kit de partes", como se usa en el presente
documento, se entiende la composición o composiciones farmacéuticas que se usan
para administrar la combinación de acuerdo con la invención. Cuando ambos
25 compuestos se administran de manera simultánea, el kit de combinación puede
contener ambos compuestos en una única composición farmacéutica, tal como un
comprimido, o en composiciones farmacéuticas separadas. Cuando los compuestos
no se administran de manera simultánea, el kit de combinación contendrá cada
compuesto en composiciones farmacéuticas separadas en un único envase o en
30 composiciones farmacéuticas separadas en envases separados.

El kit de combinación también puede estar provisto de instrucciones, tales como
instrucciones de dosificación y administración. Dichas instrucciones de dosificación y
administración pueden ser del tipo que se proporcionan a un médico, por ejemplo,
35 por una ficha técnica de la especialidad farmacéutica, o pueden ser del tipo que se
proporciona por un médico, tales como instrucciones para un paciente.

Cuando la combinación se administra por separado de una manera secuencial en la que uno se administra en primer lugar y el otro en segundo lugar o viceversa, dicha administración secuencial puede ser cercana en el tiempo o remota en el tiempo. Por ejemplo, se incluyen la administración del otro agente de varios minutos a varias docenas de minutos después de la administración del primer agente, y la administración del otro agente de varias horas a varios días después de la administración del primer agente, en la que el lapso de tiempo no está limitado. Por ejemplo, un agente se puede administrar una vez al día y el otro agente se puede administrar 2 o 3 veces al día, o un agente se puede administrar una vez por semana y el otro agente se puede administrar una vez al día y similares.

Quedará claro para un experto en la técnica, cuando sea apropiado, que el/los otro(s) ingrediente(s) terapéutico(s) se puede(n) usar en forma de sales, por ejemplo, como sales de metal alcalino o de amina o como sales de adición de ácido, o profármacos, o como ésteres, por ejemplo, ésteres de alquilo inferior, o como solvatos, por ejemplo, hidratos, para optimizar la actividad y/o estabilidad y/o características físicas, tales como la solubilidad, del ingrediente terapéutico. También quedará claro, cuando sea apropiado, que los ingredientes terapéuticos se pueden usar en forma ópticamente pura.

Cuando se combinan en la misma composición, se apreciará que los dos compuestos deben ser estables y compatibles entre sí y los otros componentes de la composición y que se pueden formular para su administración. Cuando se formulan por separado, se pueden proporcionar en cualquier composición conveniente, convenientemente, de una manera conocida para dichos compuestos en la técnica.

Cuando el compuesto de fórmula (I) se usa en combinación con un segundo agente terapéutico activo contra la misma enfermedad, afección o trastorno, la dosis de cada compuesto puede diferir de aquella cuando el compuesto se usa solo. Las dosis apropiadas se apreciarán fácilmente por los expertos en la técnica.

En un modo de realización, el mamífero en los procedimientos y usos de la presente invención es un ser humano.

Los compuestos de la invención son útiles en el tratamiento de enfermedades y afecciones en las que la modulación de STING es beneficiosa. Esto incluye

inflamación, enfermedades alérgicas y autoinmunitarias, enfermedades infecciosas, cáncer y síndromes precancerosos.

5 Como moduladores de la respuesta inmunitaria, los compuestos de fórmula (I) y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos también pueden ser útiles, de forma independiente o en combinación, como adyuvante en el tratamiento de enfermedades y afecciones en las que la modulación de STING es beneficiosa.

10 En un aspecto, la enfermedad o afección es inflamación, alergia y trastornos autoinmunitarios.

15 Las enfermedades autoinmunitarias asociadas incluyen, pero no se limitan a, lupus eritematoso sistémico, psoriasis, diabetes mellitus dependiente de insulina (DMDI), dermatomiositis y síndrome de Sjogren (SS).

20 La inflamación representa un grupo de respuestas vasculares, celulares y neurológicas a traumatismo. La inflamación se puede caracterizar como el movimiento de células inflamatorias, tales como monocitos, neutrófilos y granulocitos, a los tejidos. Esto habitualmente está asociado con una función reducida de la barrera endotelial y edema en los tejidos. La inflamación se puede clasificar como aguda o bien crónica. La inflamación aguda es la respuesta inicial del organismo a estímulos dañinos y se logra por un incremento en el movimiento de plasma y leucocitos desde la sangre a los tejidos lesionados. Una cascada de eventos bioquímicos propaga y madura la respuesta inflamatoria, que implica el sistema vascular local, el sistema inmunológico y diversas células dentro del tejido lesionado. La inflamación prolongada, conocida como inflamación crónica, conduce a un desplazamiento progresivo en el tipo de células que están presentes en el sitio de la inflamación y se caracteriza por la destrucción y curación simultánea del tejido a partir del proceso inflamatorio.

30 Cuando se produce como parte de una respuesta inmunitaria a infección o como una respuesta aguda a traumatismo, la inflamación puede ser beneficiosa y normalmente es autolimitante. Sin embargo, la inflamación puede ser perjudicial en diversas afecciones. Esto incluye la producción de inflamación excesiva en respuesta a agentes infecciosos, que puede conducir a daño orgánico significativo y muerte (por ejemplo, en el contexto de sepsis). Además, la inflamación crónica es, en general, perjudicial y está en la raíz de numerosas enfermedades crónicas, provocando

daños graves e irreversibles a los tejidos. En dichos contextos, la respuesta inmunitaria está dirigida a menudo contra los tejidos propios (autoinmunidad), aunque las respuestas crónicas a entidades extrañas también pueden conducir a daños por vecindad en los tejidos propios.

5

El objetivo del tratamiento antiinflamatorio, por lo tanto, es reducir esta inflamación, para inhibir la autoinmunidad cuando está presente y para permitir que progrese el proceso fisiológico o la curación y la reparación de los tejidos.

10 Los agentes se pueden usar para tratar la inflamación de los tejidos y órganos del organismo, incluyendo inflamación musculoesquelética, inflamación vascular, inflamación neural, inflamación del sistema digestivo, inflamación ocular, inflamación del sistema reproductor y otras inflamaciones, como se ejemplifica a continuación.

15 La inflamación musculoesquelética se refiere a cualquier afección inflamatoria del sistema musculoesquelético, particularmente aquellas afecciones que afectan a las articulaciones del esqueleto, incluyendo las articulaciones de la mano, muñeca, codo, hombro, mandíbula, columna vertebral, cuello, cadera, rodilla, tobillo y pie, y afecciones que afectan a los tejidos que conectan los músculos a los huesos, tales
20 como tendones. Ejemplos de inflamación musculoesquelética que se puede tratar con compuestos de la invención incluyen artritis (incluyendo, por ejemplo, artrosis, artritis reumatoide, artritis psoriásica, espondilitis anquilosante, artritis infecciosa aguda y crónica, artritis asociada con gota y pseudogota, y artritis idiopática juvenil), tendinitis, sinovitis, tenosinovitis, bursitis, fibrositis (fibromialgia), epicondilitis, miositis
25 y osteítis (incluyendo, por ejemplo, enfermedad de Paget, osteítis púbica y osteítis fibrosa quística).

La inflamación ocular se refiere a la inflamación de cualquier estructura del ojo, incluyendo los párpados. Ejemplos de inflamación ocular que se puede tratar con los
30 compuestos de la invención incluyen blefaritis, blefarocalasia, conjuntivitis, dacrioadenitis, queratitis, queratoconjuntivitis seca (xerosis), escleritis, triquiasis y uveítis.

Ejemplos de inflamación del sistema nervioso que se puede tratar con los
35 compuestos de la invención incluyen encefalitis, síndrome de Guillain-Barre, meningitis, neuromiotonía, narcolepsia, esclerosis múltiple, mielitis y esquizofrenia.

Ejemplos de inflamación de la vasculatura o el sistema linfático que se puede tratar con los compuestos de la invención incluyen aterosclerosis, artritis, flebitis, vasculitis y linfangitis.

- 5 Ejemplos de afecciones inflamatorias del sistema digestivo que se pueden tratar con los compuestos de la invención incluyen colangitis, colecistitis, enteritis, enterocolitis, gastritis, gastroenteritis, enfermedad inflamatoria intestinal (tal como enfermedad de Crohn y colitis ulcerosa), ileítis y rectitis.
- 10 Ejemplos de afecciones inflamatorias del sistema reproductor que se pueden tratar con los compuestos de la invención incluyen cervicitis, corioamnionitis, endometritis, epididimitis, onfalitis, ovaritis, orquitis, salpingitis, absceso tuboovárico, uretritis, vaginitis, vulvitis y vulvodinia.
- 15 Los agentes se pueden usar para tratar afecciones autoinmunitarias que tienen un componente inflamatorio. Dichas afecciones incluyen alopecia universal diseminada, agua, enfermedad de Behcet, enfermedad de Chagas, síndrome de fatiga crónica, disautonomía, encefalomiелitis, espondilitis anquilosante, anemia aplásica, hidradenitis supurativa, hepatitis autoinmunitaria, ovaritis autoinmunitaria,
- 20 enfermedad celíaca, enfermedad de Crohn, diabetes mellitus de tipo 1, arteritis gigantocelular, síndrome de Goodpasture, enfermedad de Grave, síndrome de Guillain-Barre, enfermedad de Hashimoto, púrpura de Henoch-Schönlein, enfermedad de Kawasaki, lupus eritematoso, colitis microscópica, poliarteritis microscópica, enfermedad mixta del tejido conjuntivo, esclerosis múltiple, miastenia
- 25 grave, síndrome de opsoclonomioclonia, neuritis óptica, tiroiditis de Ord, pénfigo, poliarteritis nodosa, polimialgia, artritis reumatoide, síndrome de Reiter, síndrome de Sjogren, arteritis temporal, granulomatosis de Wegener, anemia hemolítica autoinmunitaria por anticuerpos calientes, cistitis intersticial, enfermedad de Lyme, morfea, psoriasis, sarcoidosis, esclerodermia, colitis ulcerosa y vitíligo.
- 30 Los agentes se pueden usar para tratar enfermedades de hipersensibilidad mediadas por linfocitos T que tienen un componente inflamatorio. Dichas afecciones incluyen hipersensibilidad por contacto, dermatitis por contacto (incluyendo la debida a la hiedra venenosa), urticaria, alergias en la piel, alergias respiratorias (fiebre del
- 35 heno, rinitis alérgica) y enteropatía sensible al gluten (enfermedad celíaca).

Otras afecciones inflamatorias que se pueden tratar con los agentes incluyen, por ejemplo, apendicitis, dermatitis, dermatomiositis, endocarditis, fibromialgia, gingivitis, glositis, hepatitis, hidrosadenitis supurativa, iritis, laringitis, mastitis, miocarditis, nefritis, otitis, pancreatitis, parotiditis, pericarditis, peritonitis, faringitis, pleuritis, neumonitis, prostatitis, pielonefritis y estomatitis, rechazo de trasplantes (que implica órganos tales como el riñón, el hígado, el corazón, el pulmón, el páncreas (por ejemplo, células de los islotes), la médula ósea, la córnea, el intestino delgado, aloinjertos de piel, homoinjertos de piel y xenoinjertos de válvula cardíaca, enfermedad del suero y enfermedad de injerto contra huésped), pancreatitis aguda, pancreatitis crónica, síndrome de dificultad respiratoria aguda, síndrome de Sexary, hiperplasia suprarrenal congénita, tiroiditis no supurativa, hipercalcemia asociada con cáncer, pénfigo, dermatitis bullosa herpetiforme, eritema multiforme severo, dermatitis exfoliativa, dermatitis seborreica, rinitis alérgica estacional o perenne, asma bronquial, dermatitis por contacto, dermatitis atópica, reacciones de hipersensibilidad a fármacos, conjuntivitis alérgica, queratitis, herpes zóster oftálmico, iritis e iridociclitis, coriorretinitis, neuritis óptica, sarcoidosis sintomática, quimioterapia de tuberculosis pulmonar fulminante o diseminada, púrpura trombocitopénica idiopática en adultos, trombocitopenia secundaria en adultos, anemia hemolítica adquirida (autoinmunitaria), leucemia y linfomas en adultos, leucemia aguda infantil, enteritis regional, vasculitis autoinmunitaria, esclerosis múltiple, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, rechazo de trasplantes de órganos sólidos, sepsis. Los tratamientos preferentes incluyen el tratamiento de rechazo de trasplantes, artritis reumatoide, artritis psoriásica, esclerosis múltiple, diabetes de tipo 1, asma, enfermedad inflamatoria intestinal, lupus eritematoso sistémico, psoriasis, enfermedad pulmonar crónica e inflamación que acompaña a las afecciones infecciosas (por ejemplo, sepsis).

En un aspecto adicional de la invención, se proporciona un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en el tratamiento de inflamación, alergia y enfermedad autoinmunitaria.

En un aspecto adicional, se proporciona un procedimiento de tratamiento de inflamación, alergia y enfermedad autoinmunitaria, que comprende administrar a un ser humano que lo necesita una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En un aspecto adicional, se proporciona el uso de un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de inflamación, alergia y enfermedad autoinmunitaria.

- 5 En un aspecto, la enfermedad que se va a tratar es asma.

Los compuestos de fórmula (I) y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos se pueden usar en combinación con uno o más de otros agentes que pueden ser útiles en la prevención o el tratamiento de enfermedad alérgica, enfermedad
10 inflamatoria, enfermedad autoinmunitaria, por ejemplo, inmunoterapia antigénica, antihistamínicos, esteroides, AINE, broncodilatadores (por ejemplo, agonistas beta 2, agonistas adrenérgicos, agentes anticolinérgicos, teofilina), metotrexato, moduladores de leucotrienos y agentes similares; tratamiento con anticuerpos monoclonales tales como anti-IgE, anti-TNF, anti-IL-5, anti-IL-6, anti-IL-12, anti-IL-1 y
15 agentes similares; tratamientos de receptor, por ejemplo, etanercept y agentes similares; inmunoterapias no específicas de antígeno (por ejemplo, interferón u otras citocinas/quimiocinas, moduladores de receptores de citocinas/quimiocinas, agonistas o antagonistas de citocinas, agonistas de TLR y agentes similares).

- 20 En un aspecto adicional, se proporciona una combinación que comprende un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y al menos un agente terapéutico adicional útil en el tratamiento de enfermedad alérgica, inflamación o enfermedad autoinmunitaria.

- 25 En un aspecto adicional, se proporciona una combinación que comprende un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y al menos un agente terapéutico adicional útil en el tratamiento de enfermedad alérgica, inflamación o enfermedad autoinmunitaria para su uso en tratamiento.

- 30 En un aspecto adicional, se proporciona una combinación que comprende un compuesto de fórmula (I) o sal farmacéuticamente aceptable del mismo y al menos un agente terapéutico adicional útil en el tratamiento de enfermedad alérgica, inflamación o enfermedad autoinmunitaria, para su uso en el tratamiento de enfermedad alérgica, inflamación o enfermedad autoinmunitaria.

35

En un aspecto adicional, se proporciona el uso de una combinación que comprende un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y al

menos un agente terapéutico adicional útil en el tratamiento de enfermedad alérgica, inflamación o enfermedad autoinmunitaria en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de enfermedad alérgica, inflamación o enfermedad autoinmunitaria.

- 5 En un aspecto adicional, se proporciona un procedimiento de tratamiento de enfermedad alérgica, inflamación o enfermedad autoinmunitaria, que comprende administrar a un ser humano que lo necesita una cantidad terapéuticamente eficaz de una combinación que comprende un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y al menos un agente terapéutico adicional
10 útil en el tratamiento de enfermedad alérgica, inflamación o enfermedad autoinmunitaria.

- En un aspecto adicional, se proporciona una composición farmacéutica que comprende una combinación que comprende un compuesto de fórmula (I) o una sal
15 farmacéuticamente aceptable del mismo y al menos un agente terapéutico adicional útil en el tratamiento de enfermedad alérgica, inflamación o enfermedad autoinmunitaria y uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables.

- En un aspecto, la enfermedad que se va a tratar con dicha combinación es asma.
20

En un aspecto, la enfermedad o afección que se va a tratar es cáncer.

- Ejemplos de enfermedades y afecciones cancerosas en las que los compuestos de fórmula (I), o sales o solvatos farmacéuticamente aceptables de los mismos pueden
25 tener efectos antitumorales potencialmente beneficiosos incluyen, pero no se limitan a, cánceres de pulmón, hueso, páncreas, piel, cabeza, cuello, útero, ovarios, estómago, colon, mama, esófago, intestino delgado, intestino, sistema endocrino, glándula tiroidea, glándula paratiroidea, glándula suprarrenal, uretra, próstata, pene, testículos, uréter, vejiga, riñón o hígado; cáncer de recto; cáncer de la región anal;
30 carcinomas de las trompas de Falopio, endometrio, cuello uterino, vagina, vulva, pelvis renal, células renales; sarcoma de tejido blando; mixoma; rabdomioma; fibroma; lipoma; teratoma; colangiocarcinoma; hepatoblastoma; angiosarcoma; hemangioma; hepatoma; fibrosarcoma; condrosarcoma; mieloma; leucemia crónica o aguda; linfomas linfocíticos; linfoma primario del SNC; neoplasias del SNC; tumores
35 de la médula espinal; carcinomas escamocelulares; sarcoma sinovial; mesoteliomas pleurales malignos; glioma del tronco encefálico; adenoma hipofisario; adenoma

bronquial; hamartoma condromatoso; mesotelioma; enfermedad de Hodgkin o una combinación de uno o más de los cánceres anteriores.

De forma adecuada, la presente invención se refiere a un procedimiento para tratar o
 5 reducir la gravedad de los cánceres seleccionados del grupo que consiste en de
 cerebro (gliomas), glioblastomas, astrocitomas, glioblastoma multiforme, síndrome de
 Bannayan-Zonana, enfermedad de Cowden, enfermedad de Lhermitte-Duclos, tumor
 de Wilm, sarcoma de Ewing, rhabdomyosarcoma, ependimoma, meduloblastoma, de
 cabeza y cuello, de riñón, de hígado, melanoma, de ovario, pancreático,
 10 adenocarcinoma, adenocarcinoma ductal, carcinoma escamocelular, carcinoma de
 células acinares, glucagonoma, insulinoma, de próstata, sarcoma, osteosarcoma,
 tumor óseo de células gigantes, tiroideo, leucemia linfoblástica de linfocitos T,
 leucemia mielógena crónica, leucemia linfocítica crónica, leucemia de células
 capilares, leucemia linfoblástica aguda, leucemia mielógena aguda, leucemia
 15 neutrófila crónica, leucemia linfoblástica aguda de linfocitos T, plasmacitoma,
 leucemia inmunoblástica de células grandes, leucemia de células de la corteza
 cerebral, mieloma múltiple, leucemia megacarioblástica, mieloma múltiple, leucemia
 megacariocítica aguda, leucemia promielocítica, eritroleucemia, linfoma maligno,
 linfoma de Hodgkins, linfoma no hodgkiniano, linfoma linfoblástico de linfocitos T,
 20 linfoma de Burkitt, linfoma folicular, neuroblastoma, cáncer de vejiga, cáncer
 urotelial, cáncer vulvar, cáncer de cuello uterino, cáncer del endometrio, cáncer
 renal, mesotelioma, cáncer de esófago, cáncer de las glándulas salivares, cáncer
 hepatocelular, cáncer gástrico, cáncer nasofaríngeo, cáncer bucal, cáncer de la
 boca, GIST (tumor del estroma gastrointestinal) y cáncer de testículo.

25 De forma adecuada, la presente invención se refiere a un procedimiento para tratar o
 reducir la gravedad de los síndromes precancerosos en un mamífero, incluyendo un
 ser humano, en el que el síndrome precanceroso se selecciona de: neoplasia
 intraepitelial cervical, gammapatía monoclonal de significado incierto (GMSI),
 30 síndrome mielodisplásico, anemia aplásica, lesiones cervicales, nevus cutáneos
 (premelanoma), neoplasia intraepitelial (intraductal) prostática.

Los compuestos de la presente invención también pueden ser útiles en el
 tratamiento de una o más enfermedades que afectan a los mamíferos, que se
 35 caracterizan por proliferación celular en el área de trastornos asociados con
 neovascularización y/o permeabilidad vascular incluyendo trastornos proliferativos de
 vasos sanguíneos incluyendo artritis (artritis reumatoide) y reestenosis; trastornos

fibróticos incluyendo cirrosis hepática y aterosclerosis; trastornos proliferativos de células mesangiales incluyendo glomerulonefritis, nefropatía diabética, nefroesclerosis maligna, síndromes de microangiopatía trombótica, retinopatías proliferativas, rechazo de trasplante de órganos y glomerulopatías; y trastornos metabólicos incluyendo psoriasis, diabetes mellitus, curación de heridas crónicas, inflamación y enfermedades neurodegenerativas.

En un aspecto adicional de la invención, se proporciona un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en el tratamiento de y/o síndromes precancerosos.

En un aspecto adicional, se proporciona un procedimiento de tratamiento de cáncer, que comprende administrar a un ser humano que lo necesita una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En un aspecto adicional, se proporciona el uso de un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de y/o síndromes precancerosos.

En un modo de realización, el compuesto de la invención se puede emplear con otros procedimientos terapéuticos de tratamiento del cáncer. En particular, en el tratamiento antineoplásico, se prevé el tratamiento de combinación con otros agentes quimioterápicos, hormonales, de anticuerpos así como tratamientos quirúrgicos y/o de radiación diferentes a los mencionados anteriormente.

En un modo de realización, el tratamiento contra el cáncer adicional es quirúrgico y/o radioterapia.

En un modo de realización, el tratamiento contra el cáncer adicional es al menos un agente antineoplásico adicional.

En un aspecto adicional, se proporciona una combinación que comprende un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y al menos un agente antineoplásico.

En un aspecto adicional, se proporciona una combinación que comprende un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y al menos un agente antineoplásico, para su uso en tratamiento.

- 5 En un aspecto adicional, se proporciona una combinación que comprende un compuesto de fórmula (I) o sal farmacéuticamente aceptable del mismo y al menos un agente antineoplásico, para su uso en tratamiento y/o síndromes precancerosos.

- 10 En un aspecto adicional, se proporciona el uso de una combinación que comprende un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y al menos un agente antineoplásico, en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de y/o síndromes precancerosos.

- 15 En un aspecto adicional, se proporciona un procedimiento de tratamiento del cáncer, que comprende administrar a un ser humano que lo necesita una cantidad terapéuticamente eficaz de una combinación que comprende un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y al menos un agente antineoplásico.

- 20 En un aspecto adicional, se proporciona una composición farmacéutica que comprende una combinación que comprende un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y al menos un agente terapéutico adicional, particularmente al menos un agente antineoplásico y uno o más portadores, diluyentes y excipientes farmacéuticamente aceptables.

25

- Cualquier agente antineoplásico que tenga actividad frente a un tumor susceptible que se está tratando se puede usar en la combinación. Agentes antineoplásicos típicos útiles incluyen, pero no se limitan a, agentes antimicrotúbulos tales como diterpenoides y alcaloides de la vinca; complejos de coordinación de platino; agentes alquilantes tales como mostazas nitrogenadas, oxazafosforinas, alquilsulfonatos, nitrosoureas y triacenos; agentes antibióticos tales como antraciclinas, actinomicinas y bleomicinas; inhibidores de la topoisomerasa II tales como epipodofilotoxinas; antimetabolitos tales como análogos de purina y pirimidina y compuestos antifolato; inhibidores de la topoisomerasa I tales como camptotecinas; hormonas y análogos hormonales; inhibidores de la ruta de transducción de señales; inhibidores angiogénicos de tirosinas citoplásmicas; agentes inmunoterápicos; agentes
- 30
- 35

proapoptóticos; e inhibidores de la señalización del ciclo celular, agentes inmunoncológicos y agentes inmunoestimuladores.

Agentes antimicrotúbulos o antimitóticos:

- 5 Los agentes antimicrotúbulos o antimitóticos son agentes específicos de fase activos contra los microtúbulos de células tumorales durante la fase M o de mitosis del ciclo celular. Ejemplos de agentes antimicrotúbulos incluyen, pero no se limitan a, diterpenoides y alcaloides de la vinca.
- 10 Los diterpenoides, que se obtienen de fuentes naturales, son agentes antineoplásicos específicos de fase que funcionan en las fases G₂/M del ciclo celular. Se cree que los diterpenoides estabilizan la subunidad β -tubulina de los microtúbulos, uniéndose con esta proteína. El desensamblaje de la proteína parece que se inhibe a continuación, deteniéndose la mitosis y siguiendo la muerte celular.
- 15 Ejemplos de diterpenoides incluyen, pero no se limitan a, paclitaxel y su análogo docetaxel.

El paclitaxel, 13-éster de 4,10-diacetato 2-benzoato de 5 β ,20-epoxi-1,2 α ,4,7 β ,10 β ,13 α hexa-hidroxitax-11-en-9-ona con (2R, 3S)-N-benzoil-3-fenilisoserina; es un producto diterpeno natural aislado del tejo del Pacífico *Taxus brevifolia* y está disponible comercialmente como una solución inyectable TAXOL®. Es un miembro de la familia taxano de terpenos. El paclitaxel se ha aprobado para uso clínico en el tratamiento de cáncer de ovario resistente en los Estados Unidos (Markman *et al.*, Yale Journal of Biology and Medicine, 64:583, 1991; McGuire *et al.*, Ann. Intern. Med., 111:273, 1989) y para el tratamiento de cáncer de mama (Holmes *et al.*, J. Nat. Cancer Inst., 83:1797, 1991). Es un candidato potencial para el tratamiento de neoplasias en la piel (Einzig *et al.*, Proc. Am. Soc. Clin. Oncol., 20:46) y carcinomas de cabeza y cuello (Forastire *et al.*, Sem. Oncol., 20:56, 1990). El compuesto también muestra potencial para el tratamiento de la enfermedad renal poliquística (Woo *et al.*, Nature, 368:750. 1994), el cáncer de pulmón y la malaria. El tratamiento de pacientes con paclitaxel da como resultado la supresión de la médula ósea (múltiples linajes celulares, Ignoff, R.J. *et al.*, Cancer Chemotherapy Pocket Guide, 1998) relacionada con la duración de la dosificación por encima de una concentración umbral (50 nM) (Kearns, C.M. *et al.*, Seminars in Oncology, 3(6) 35 pág.16-23, 1995).

El docetaxel, éster N-terc-butílico, 13-éster de (2R,3S)-N-carboxi-3-fenilisoserina, con 4-acetato 2-benzoato de 5 β -20-epoxi-1,2 α ,4,7 β ,10 β ,13 α -hexahidroxitax-11-en-9-ona, trihidrato; está disponible comercialmente como una solución inyectable como TAXOTERE®. El docetaxel está indicado para el tratamiento de cáncer de mama. El

5 docetaxel es un derivado semisintético de paclitaxel *q.v.*, preparado usando un precursor natural, 10-desacetil-bacatina III, extraído de la aguja del tejo europeo.

Los alcaloides de la vinca son agentes antineoplásicos específicos de fase derivados de la planta vincapervinca. Los alcaloides de la vinca actúan en la fase M (mitosis)

10 del ciclo celular uniéndose específicamente a la tubulina. En consecuencia, la molécula de tubulina unida no puede polimerizarse en microtúbulos. Se cree que la mitosis se detiene en la metafase, siguiendo la muerte celular. Ejemplos de alcaloides de la vinca incluyen, pero no se limitan a, vinblastina, vincristina y vinorelbina.

15 La vinblastina, sulfato de vincaleucoblastina, está disponible comercialmente como VELBAN® como una solución inyectable. Aunque tiene una posible indicación como tratamiento de segunda línea de diversos tumores sólidos, está indicada principalmente en el tratamiento de cáncer testicular y diversos linfomas incluyendo

20 enfermedad de Hodgkin; y linfomas linfocíticos e histiocíticos. La mielosupresión es el efecto secundario limitante de la dosis de la vinblastina.

La vincristina, 22-oxo-sulfato de vincaleucoblastina, está disponible comercialmente como ONCOVIN®, como una solución inyectable. La vincristina está indicada para el

25 tratamiento de leucemias agudas y también ha encontrado uso en regímenes de tratamiento para linfomas de Hodgkin y linfomas malignos no hodgkinianos. La alopecia y los efectos neurológicos son el efecto secundario más común de la vincristina y se producen, en un grado menor, mielosupresión y efectos de mucositis gastrointestinal.

30 La vinorelbina, 3',4'-dideshidro-4'-desoxi-C'-norvincaleucoblastina [R-(R*,R*)-2,3-dihidroxi-butanodioato (1:2) (sal)], disponible comercialmente como una solución inyectable de tartrato de vinorelbina (NAVELBINE®), es un alcaloide de la vinca semisintético. La vinorelbina está indicada como agente único o en combinación con

35 otros agentes quimioterápicos, tales como cisplatino, en el tratamiento de diversos tumores sólidos, particularmente cáncer de pulmón no microcítico, de mama

avanzado y de próstata resistente a tratamiento hormonal. La mielosupresión es el efecto secundario limitante de la dosis más común de la vinorelbina.

Complejos de coordinación de platino:

- 5 Los complejos de coordinación de platino son agentes antineoplásicos no específicos de fase, que son interactivos con el ADN. Los complejos de platino entran en las células tumorales, se someten a hidratación y forman entrecruzamientos intra e intercatenarios con el ADN provocando efectos biológicos adversos para el tumor. Ejemplos de complejos de coordinación de platino incluyen,
10 pero no se limitan a, oxaliplatino, cisplatino y carboplatino.

El cisplatino, cis-diaminadichloroplatino, está disponible comercialmente como PLATINOL®, como una solución inyectable. El cisplatino está indicado principalmente para el tratamiento de cáncer de testículo y de ovario metastásico y
15 cáncer de vejiga avanzado.

El carboplatino, diamina[1,1-ciclobutano-dicarboxilato(2-)-O,O'] de platino, está disponible comercialmente como PARAPLATIN®, como una solución inyectable. El carboplatino está indicado principalmente en el tratamiento de primera y segunda
20 línea de carcinoma de ovario avanzado.

Agentes alquilantes:

- Los agentes alquilantes son agentes antineoplásicos no específicos de fase y electrófilos fuertes. Normalmente, los agentes alquilantes forman enlaces
25 covalentes, por alquilación, con el ADN mediante restos nucleófilos de la molécula de ADN, tales como grupos fosfato, amino, sulfhidrilo, hidroxilo, carboxilo e imidazol. Dicha alquilación altera la función del ácido nucleico conduciendo a la muerte celular. Ejemplos de agentes alquilantes incluyen, pero no se limitan a, mostazas nitrogenadas, tales como ciclofosfamida, melfalán y clorambucilo; sulfonatos de
30 alquilo tales como busulfano; nitrosoureas tales como carmustina; y triacenos tales como dacarbazina.

La ciclofosfamida, 2-óxido de 2-[bis(2-cloroetil)amino]tetrahydro-2H-1,3,2-oxazafosforina monohidrato, está disponible comercialmente como una solución
35 inyectable o comprimidos, como CYTOXAN®. La ciclofosfamida está indicada como agente único o en combinación con otros agentes quimioterápicos, en el tratamiento de linfomas malignos, mieloma múltiple y leucemias.

El melfalán, 4-[bis(2-cloroetil)amino]-L-fenilalanina, está disponible comercialmente como una solución inyectable o comprimidos, como ALKERAN®. El melfalán está indicado para el tratamiento paliativo de mieloma múltiple y carcinoma epitelial irresecable de ovario. La supresión de la médula ósea es el efecto secundario limitante de la dosis más común del melfalán.

El clorambucilo, ácido 4-[bis(2-cloroetil)amino]bencenobutanoico, está disponible comercialmente como LEUKERAN® comprimidos. El clorambucilo está indicado para el tratamiento paliativo de leucemia linfática crónica y linfomas malignos tales como linfoma folicular gigante y enfermedad de Hodgkin.

El busulfano, dimetanosulfonato de 1,4-butanodiol, está disponible comercialmente como MYLERAN® comprimidos. El busulfano está indicado para el tratamiento paliativo de leucemia mielógena crónica.

La carmustina, 1,3-[bis(2-cloroetil)-1-nitrosourea, está disponible comercialmente como viales individuales de material liofilizado como BiCNU®. La carmustina está indicada para el tratamiento paliativo como agente único o en combinación con otros agentes para tumores cerebrales, mieloma múltiple, enfermedad de Hodgkin y linfomas no hodgkinianos.

La dacarbazina, 5-(3,3-dimetil-1-triaceno)imidazol-4-carboxamida, está disponible comercialmente como viales individuales de material como DTIC-Dome®. La dacarbazina está indicada para el tratamiento del melanoma maligno metastásico y en combinación con otros agentes para el tratamiento de segunda línea de la enfermedad de Hodgkin.

Agentes antineoplásicos antibióticos:

Los agentes antineoplásicos antibióticos son agentes no específicos de fase, que se unen o se intercalan con el ADN. Normalmente, dicha acción da como resultado complejos de ADN estables o rotura de cadenas, que altera la función normal de los ácidos nucleicos conduciendo a la muerte celular. Ejemplos de agentes antineoplásicos antibióticos incluyen, pero no se limitan a, actinomicinas tales como dactinomicina, antroclinas tales como daunorrubicina y doxorrubicina; y bleomicinas.

La dactinomicina, también conocida como actinomicina D, está disponible comercialmente en forma inyectable como COSMEGEN®. La dactinomicina está indicada para el tratamiento de tumor de Wilm y rhabdomyosarcoma.

- 5 La daunorrubicina, clorhidrato de (8S-cis-)-8-acetil-10-[(3-amino-2,3,6-tridesoxi- α -L-lixo-hexopiranosil)oxi]-7,8,9,10-tetrahidro-6,8,11-trihidroxi-1-metoxi-5,12-naftacenodiona, está disponible comercialmente como forma inyectable de liposomas como DAUNOXOME® o como inyectable como CERUBIDINE®. La daunorrubicina está indicada para la inducción de la remisión en el tratamiento de la
- 10 leucemia no linfocítica aguda y el sarcoma de Kaposi asociado al VIH avanzado.

- La doxorrubicina, clorhidrato de (8S,10S)-10-[(3-amino-2,3,6-tridesoxi- α -L-lixo-hexopiranosil)oxi]-8-glicolil-7,8,9,10-tetrahidro-6,8,11-trihidroxi-1-metoxi-5,12-naftacenodiona, está disponible comercialmente como una forma inyectable como
- 15 RUBEX® o ADRIAMICINA RDF®. La doxorrubicina está indicada principalmente para el tratamiento de la leucemia linfoblástica aguda y la leucemia mieloblástica aguda, pero también es un componente útil en el tratamiento de algunos tumores sólidos y linfomas.

- 20 La bleomicina, una mezcla de antibióticos glucopeptídicos citotóxicos aislados a partir de una cepa de *Streptomyces verticillus*, está disponible comercialmente como BLENOXANE®. La bleomicina está indicada como un tratamiento paliativo, como agente único o en combinación con otros agentes, de carcinoma escamocelular, linfomas y carcinomas testiculares.

25

Inhibidores de la topoisomerasa II:

Los inhibidores de la topoisomerasa II incluyen, pero no se limitan a, epipodofilotoxinas.

- 30 Las epipodofilotoxinas son agentes antineoplásicos específicos de fase derivados de la planta mandrágora. Las epipodofilotoxinas normalmente afectan a las células en las fases S y G₂ del ciclo celular formando un complejo ternario con la topoisomerasa II y el ADN, provocando roturas en la cadena de ADN. Las roturas en la cadena se acumulan y sigue la muerte celular. Ejemplos de epipodofilotoxinas
- 35 incluyen, pero no se limitan a, etopósido y tenipósido.

El etopósido, 9[4,6-O-(R)-etilideno- β -D-glucopiranosido] de 4'-desmetil-epipodofilotoxina, está disponible comercialmente como una solución inyectable o cápsulas como VePESID® y se conoce comúnmente como VP-16. El etopósido está indicado como un agente único o en combinación con otros agentes quimioterápicos en el tratamiento de cánceres de testículo y de pulmón no microcíticos.

El tenipósido, 9[4,6-O-(R)-tenilideno- β -D-glucopiranosido] de 4'-desmetil-epipodofilotoxina, está disponible comercialmente como una solución inyectable como VUMON® y se conoce comúnmente como VM-26. El tenipósido está indicado como un agente único o en combinación con otros agentes quimioterápicos en el tratamiento de leucemia aguda en niños.

Agentes antineoplásicos antimetabolitos:

Los agentes antineoplásicos antimetabolitos son agentes antineoplásicos específicos de fase que actúan en la fase S (síntesis de ADN) del ciclo celular inhibiendo la síntesis de ADN o inhibiendo la síntesis de las bases purina o pirimidina y limitando de ese modo la síntesis de ADN. Por consiguiente, la fase S no avanza y sigue la muerte celular. Ejemplos de agentes antineoplásicos antimetabolitos incluyen, pero no se limitan a, fluorouracilo, metotrexato, citarabina, mercaptopurina, tioguanina y gemcitabina.

El 5-fluorouracilo, 5-fluoro-2,4-(1H,3H)pirimidindiona, está disponible comercialmente como fluorouracilo. La administración de 5-fluorouracilo conduce a la inhibición de la síntesis de timidilato y también se incorpora tanto en el ARN como en el ADN. El resultado normalmente es la muerte celular. El 5-fluorouracilo está indicado como agente único o en combinación con otros agentes quimioterápicos en el tratamiento de carcinomas de mama, colon, recto, estómago y páncreas. Otros análogos de fluoropirimidina incluyen 5-fluorodesoxiuridina (floxuridina) y monofosfato de 5-fluorodesoxiuridina.

La citarabina, 4-amino-1- β -D-arabinofuranosil-2(1H)-pirimidinona, está disponible comercialmente como CYTOSAR-U® y se conoce comúnmente como Ara-C. Se cree que la citarabina presenta especificidad de fase celular en la fase S inhibiendo la extensión de la cadena de ADN por la incorporación terminal de citarabina en la cadena de ADN creciente. La citarabina está indicada como un agente único o en combinación con otros agentes quimioterápicos en el tratamiento de la leucemia

aguda. Otros análogos de citidina incluyen 5-azacitidina y 2',2'-difluorodesoxicitidina (gemcitabina).

La mercaptopurina, 1,7-dihidro-6H-purin-6-tiona monohidrato, está disponible comercialmente como PURINETHOL®. La mercaptopurina presenta especificidad de fase celular en la fase S inhibiendo la síntesis de ADN por un mecanismo aún no especificado. La mercaptopurina está indicada como un agente único o en combinación con otros agentes quimioterápicos en el tratamiento de la leucemia aguda. Un análogo de mercaptopurina útil es azatioprina.

10

La tioguanina, 2-amino-1,7-dihidro-6H-purin-6-tiona, está disponible comercialmente como TABLOID®. La tioguanina presenta especificidad de fase celular en la fase S inhibiendo la síntesis de ADN por un mecanismo aún no especificado. La tioguanina está indicada como un agente único o en combinación con otros agentes quimioterápicos en el tratamiento de la leucemia aguda. Otros análogos de purina incluyen pentostatina, eritrohidroxinoniladenina, fosfato de fludarabina y cladribina.

15

La gemcitabina, monoclorhidrato de 2'-desoxi-2',2'-difluorocitidina (isómero), está disponible comercialmente como GEMZAR®. La gemcitabina presenta especificidad de fase celular en la fase S bloqueando la progresión de las células a través del límite G1/S. La gemcitabina está indicada en combinación con cisplatino en el tratamiento del cáncer de pulmón no microcítico localmente avanzado y en solitario en el tratamiento del cáncer de páncreas localmente avanzado.

20

El metotrexato, ácido N-[4[[[(2,4-diamino-6-pteridinil)metil]metilamino]benzoil]-L-glutámico, está disponible comercialmente como metotrexato de sodio. El metotrexato presenta efectos de fase celular específicamente en la fase S, inhibiendo la síntesis, la reparación y/o la replicación de ADN mediante la inhibición de la ácido dihidrofólico reductasa que se requiere para la síntesis de nucleótidos de purina y timidilato. El metotrexato está indicado como un agente único o en combinación con otros agentes quimioterápicos en el tratamiento de coriocarcinoma, leucemia meníngea, linfoma no hodgkiniano y carcinomas de mama, cabeza, cuello, ovario y vejiga.

30

35 **Inhibidores de la topoisomerasa I:**

Las camptotecinas, incluyendo la camptotecina y derivados de camptotecina, están disponibles o en desarrollo como inhibidores de la topoisomerasa I. Se cree que la

actividad citotóxica de las camptotecinas está relacionada con su actividad inhibidora de la topoisomerasa I. Ejemplos de camptotecinas incluyen, pero no se limitan a, irinotecán, topotecán y las diversas formas ópticas de 7-(4-metilpiperazinometileno)-10,11-etilendioxi-20-camptotecina descritas a continuación.

5

El HCl de irinotecán, clorhidrato de (4S)-4,11-dietil-4-hidroxi-9-[(4-piperidinopiperidino)carboniloxi]-1H-pirano[3',4',6,7]indolizino[1,2-b]quinolin-3,14(4H,12H)-diona, está disponible comercialmente como la solución inyectable CAMPTOSAR®. El irinotecán es un derivado de camptotecina que se une, junto con su metabolito activo SN-38, al complejo de topoisomerasa I - ADN. Se cree que la citotoxicidad se produce como resultado de roturas irreparables en la doble cadena provocadas por la interacción del complejo ternario de topoisomerasa I: ADN:irinotecán o SN-38 con enzimas de replicación. El irinotecán está indicado para el tratamiento del cáncer metastásico del colon o el recto.

15

El HCl de topotecán, monoclóridrato de (S)-10-[(dimetilamino)metil]-4-etil-4,9-dihidroxi-1H-pirano[3',4',6,7]indolizino[1,2-b]quinolina-3,14-(4H,12H)diona, está disponible comercialmente como la solución inyectable HYCAMTIN®. El topotecán es un derivado de camptotecina que se une al complejo de topoisomerasa I - ADN y evita que se vuelvan a unir las roturas de cadenas sencillas provocadas por la topoisomerasa I en respuesta a la tensión torsional de la molécula de ADN. El topotecán está indicado para el tratamiento de segunda línea del carcinoma metastásico de ovario y el cáncer de pulmón microcítico.

20

25 **Hormonas y análogos hormonales:**

Las hormonas y análogos hormonales son compuestos útiles para el tratamiento de cánceres en los que existe una relación entre la(s) hormona(s) y el crecimiento y/o la falta de crecimiento del cáncer. Ejemplos de hormonas y análogos hormonales útiles en el tratamiento del cáncer incluyen, pero no se limitan a, adrenocorticoesteroides tales como prednisona y prednisolona que son útiles en el tratamiento de linfoma maligno y leucemia aguda en niños; aminoglutetimida y otros inhibidores de la aromatasa tales como anastrozol, letrozol, vorazol y exemestano útiles en el tratamiento del carcinoma corticosuprarrenal y carcinoma de mama dependiente de hormonas que contiene receptores de estrógenos; progestinas tales como acetato de megestrol útiles en el tratamiento de cáncer de mama dependiente de hormonas y carcinoma endometrial; estrógenos y antiestrógenos tales como fulvestrant, flutamida, nilutamida, bicalutamida, acetato de ciproterona y 5 α -reductasas tales

30

35

como finasterida y dutasterida, útiles en el tratamiento de carcinoma de próstata e hipertrofia prostática benigna; antiestrógenos tales como tamoxifeno, toremifeno, raloxifeno, droloxifeno, yodoxifeno, así como moduladores selectivos de los receptores de estrógenos (MSRE), tales como los descritos en las patentes de EE.

- 5 UU. N.º 5.681.835, 5.877.219 y 6.207.716, útiles en el tratamiento de carcinoma de mama dependiente de hormonas y otros cánceres susceptibles; y la hormona liberadora de gonadotropina (GnRH) y análogos de la misma que estimulan la liberación de la hormona luteinizante (HL) y/o la hormona foliculoestimulante (HFE) para el tratamiento de carcinoma de próstata, por ejemplo, agonistas y antagonistas
- 10 de LHRH, tales como acetato de goserelina y luprolida.

Inhibidores de la ruta de transducción de señales:

- Los inhibidores de la ruta de transducción de señales son aquellos inhibidores que bloquean o inhiben un proceso químico que causa un cambio intracelular. Como se
- 15 usa en el presente documento, este cambio es la proliferación o diferenciación celular. Los inhibidores de la transducción de señales útiles en la presente invención incluyen inhibidores de tirosina cinasas receptoras, tirosina cinasas citoplásmicas, bloqueantes de dominio SH2/SH3, serina/treonina cinasas, fosfatidilinositol-3 cinasas, señalización de mioinositol y oncogenes Ras.

20

Varias proteínas tirosina cinasas catalizan la fosforilación de restos tirosilo específicos en diversas proteínas implicadas en la regulación del crecimiento celular. Dichas proteínas tirosina cinasas se pueden clasificar ampliamente como cinasas receptoras o citoplásmicas.

25

Las tirosina cinasas receptoras son proteínas transmembranarias que tienen un dominio de unión a ligando extracelular, un dominio transmembranario y un dominio tirosina cinasa. Las tirosina cinasas receptoras están implicadas en la regulación del crecimiento celular y en general se denominan receptores del factor de crecimiento.

- 30 La activación inapropiada o no controlada de muchas de estas cinasas, es decir, la actividad anómala de las cinasas receptoras del factor de crecimiento, por ejemplo, por sobreexpresión o mutación, se ha mostrado que da como resultado un crecimiento celular no controlado. En consecuencia, la actividad anómala de dichas cinasas se ha vinculado al crecimiento de tejido maligno. En consecuencia, los
- 35 inhibidores de dichas cinasas podrían proporcionar procedimientos de tratamiento del cáncer. Los receptores del factor de crecimiento incluyen, por ejemplo, receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR), receptor del factor de crecimiento

derivado de plaquetas (PDGFR), erbB2, erbB4, ret, receptor del factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGFR), tirosina cinasa con dominios de tipo inmunoglobulina y de homología al factor de crecimiento epidérmico (TIE-2), receptor del factor de crecimiento de insulina-I (FCI-I), factor estimulante de colonias de macrófagos (FECM), BTK, ckit, cmet, receptores del factor de crecimiento fibroblástico (FCF), receptores Trk (TrkA, TrkB y TrkC), receptores de efrina (eph) y el protooncogén RET. Varios inhibidores de receptores de crecimiento están en desarrollo e incluyen antagonistas de ligandos, anticuerpos, inhibidores de tirosina cinasa y oligonucleótidos antisentido. Los receptores del factor de crecimiento y agentes que inhiben la función del receptor del factor de crecimiento se describen, por ejemplo, en Kath, John C., Exp. Opin. Ther. Patents (2000) 10(6):803-818; Shawver *et al.* DDT Vol. 2, n.º 2 febrero de 1997; y Lofts, F. J. *et al.*, "Growth factor receptors as targets", New Molecular Targets for Cancer Chemotherapy, ed. Workman, Paul y Kerr, David, CRC Press 1994, Londres.

15

Las tirosina cinasas, que no son cinasas receptoras del factor de crecimiento se denominan tirosina cinasas citoplásmicas. Las tirosina cinasas citoplásmicas útiles en la presente invención, que son dianas o dianas potenciales de fármacos antineoplásicos, incluyen cSrc, Lck, Fyn, Yes, Jak, cAbl, FAK (cinasa de adhesión focal), tirosina cinasa de Bruton y Bcr-Abl. Dichas cinasas citoplásmicas y agentes que inhiben la función de las tirosina cinasas citoplásmicas se describen en Sinh, S. y Corey, S.J., (1999) Journal of Hematotherapy and Stem Cell Research 8 (5): 465-80; y Bolen, J.B., Brugge, J.S., (1997) Annual review of Immunology. 15: 371-404.

Los bloqueantes de dominio SH2/SH3 son agentes que alteran la unión al dominio SH2 o SH3 en varias enzimas o proteínas adaptadoras incluyendo, subunidad p85 de PI3-K, cinasas de la familia Src, moléculas adaptadoras (Shc, Crk, Nck, Grb2) y Ras-GAP. Los dominios SH2/SH3 como dianas para fármacos antineoplásicos se analizan en Smithgall, T.E. (1995), Journal of Pharmacological and Toxicological Methods. 34(3) 125-32.

Los inhibidores de serina/treonina cinasas, incluyendo bloqueantes de la cascada de MAP cinasa, incluyen bloqueantes de Raf cinasas (rafk), cinasa regulada por mitógenos o por señales extracelulares (MEK) y cinasas reguladas por señales extracelulares (ERK); y los bloqueantes miembros de la familia de la proteína cinasa C, incluyendo bloqueantes de PCC (alfa, beta, gamma, épsilon, mu, lambda, iota, zeta), La familia de Ikb cinasa (IKKa, IKKB), cinasas de la familia PCB, miembros de

35

- la familia akt cinasa y cinasas receptoras de FCT beta. Dichas serina/treonina cinasas y los inhibidores de las mismas se describen en Yamamoto, T., Taya, S., Kaibuchi, K., (1999), *Journal of Biochemistry*. 126 (5) 799-803; Brodt, P, Samani, A., y Navab, R. (2000), *Biochemical Pharmacology*, 60. 1101-1107; Massague, J., Weis-
- 5 Garcia, F. (1996) *Cancer Surveys*. 27:41-64; Philip, P.A., y Harris, A.L. (1995), *Cancer Treatment and Research*. 78: 3-27, Lackey, K. *et al.* *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, (10), 2000, 223-226; patente de EE. UU. n.º 6.268.391; y Martínez-Iacaci, L., *et al.*, *Int. J. Cancer* (2000), 88(1), 44-52.
- 10 Los inhibidores de miembros de la familia de fosfatidilinositol-3 cinasa, incluyendo bloqueantes de PI3-cinasa, ATM, DNA-PK y Ku también son útiles en la presente invención. Dichas cinasas se analizan en Abraham, R.T. (1996), *Current Opinion in Immunology*. 8 (3) 412-8; Canman, C.E., Lim, D.S. (1998), *Oncogene* 17 (25) 3301-3308; Jackson, S.P. (1997), *International Journal of Biochemistry and Cell Biology*.
- 15 29 (7):935-8; y Zhong, H. *et al.*, *Cancer res*, (2000) 60(6), 1541-1545.

También son útiles en la presente invención los inhibidores de la señalización de mioinositol tales como bloqueantes de la fosfolipasa C y análogos de mioinositol. Dichos inhibidores de señalización se describen en Powis, G. y Kozikowski A.,

20 (1994) *New Molecular Targets for Cancer Chemotherapy* ed., Paul Workman y David Kerr, CRC press 1994, Londres.

Otro grupo de inhibidores de la ruta de transducción de señales son inhibidores del oncogén Ras. Dichos inhibidores incluyen inhibidores de la farnesiltransferasa,

25 geranilgeraniltransferasa y CAAX proteasas, así como oligonucleótidos antisentido, ribozimas e inmunoterapia. Dichos inhibidores han mostrado que bloquean la activación de ras en células que contienen ras mutante natural, actuando de este modo como agentes antiproliferación. La inhibición del oncogén Ras se analiza en

30 Scharovsky, O.G., Rozados, V.R., Gervasoni, S.I. Matar, P. (2000), *Journal of Biomedical Science*. 7(4) 292-8; Ashby, M.N. (1998), *Current Opinion in Lipidology*. 9 (2) 99 – 102; y *BioChim. Biophys. Acta*, (1989) 1423(3):19-30.

Como se mencionó anteriormente, los antagonistas de anticuerpos contra la unión del ligando de una cinasa receptora pueden servir también como inhibidores de la

35 transducción de señales. Este grupo de inhibidores de la ruta de transducción de señales incluye el uso de anticuerpos humanizados contra el dominio de unión al ligando extracelular de las tirosina cinasas receptoras. Por ejemplo, el anticuerpo

específico de RFCE Imclone C225 (véase Green, M.C. *et al.*, Monoclonal Antibody Therapy for Solid Tumors, Cancer Treat. Rev., (2000), 26(4), 269-286); el anticuerpo erbB2 Herceptin® (véase Tyrosine Kinase Signalling in Breast cancer:erbB Family Receptor Tyrosine Kinases, Breast cancer Res., 2000, 2(3), 176-183); y el anticuerpo específico de VEGFR2 2CB (véase Brekken, R.A. *et al.*, Selective Inhibition of VEGFR2 Activity by a monoclonal Anti-VEGF antibody blocks tumor growth in mice, Cancer Res. (2000) 60, 5117-5124).

Agentes antiangiogénicos:

(i) Los agentes antiangiogénicos, incluyendo inhibidores angiogénicos de MEK citoplásmicas también pueden ser útiles. Agentes antiangiogénicos, tales como los que inhiben los efectos del factor de crecimiento de células endoteliales vasculares (por ejemplo el anticuerpo contra el factor de crecimiento de células endoteliales vasculares bevacizumab [Avastin™]) y compuestos que actúan por otros mecanismos (por ejemplo, linomida, inhibidores de la función de integrina $\alpha\beta 3$, endostatina y angiostatina);

Agentes inmunoterápicos:

Los agentes usados en regímenes inmunoterápicos también pueden ser útiles en combinación con los compuestos de fórmula (I). Enfoques de inmunoterapia, incluyendo, por ejemplo, enfoques *ex vivo* e *in vivo* para aumentar la inmunogenicidad de las células tumorales del paciente, tales como transfección con citocinas tales como interleucina 2, interleucina 4 o factor estimulante de colonias de granulocitos-macrófagos, enfoques para disminuir la anergia de los linfocitos T, enfoques que usan células inmunitarias transfectadas tales como células dendríticas transfectadas con citocinas, enfoques que usan líneas celulares tumorales transfectadas con citocinas y enfoques que usan anticuerpos antiidiotípicos.

Agentes proapoptóticos:

Los agentes usados en regímenes proapoptóticos (por ejemplo, oligonucleótidos antisentido de bcl-2) también se pueden usar en la combinación de la presente invención.

Inhibidores de la señalización del ciclo celular

Los inhibidores de la señalización del ciclo celular inhiben moléculas implicadas en el control del ciclo celular. Una familia de proteína cinasas llamada cinasas dependientes de ciclina (CDK) y su interacción con una familia de proteínas

denominadas ciclinas controla la progresión a través del ciclo celular eucariota. La activación e inactivación coordinada de diferentes complejos de ciclina/CDK es necesaria para la progresión normal a través del ciclo celular. Varios inhibidores de la señalización del ciclo celular están en desarrollo. Por ejemplo, se describen

5 ejemplos de cinasas dependientes de ciclina, incluyendo CDK2, CDK4 y CDK6 e inhibidores para las mismas en, por ejemplo, Rosania *et al.*, Exp. Opin. Ther. Patents (2000) 10(2):215-230.

En un modo de realización, la combinación de la presente invención comprende un

10 compuesto de fórmula I o una sal o solvato del mismo y al menos un agente antineoplásico seleccionado de agentes antimicrotúbulos, complejos de coordinación de platino, agentes alquilantes, agentes antibióticos, inhibidores de la topoisomerasa II, antimetabolitos, inhibidores de la topoisomerasa I, hormonas y análogos hormonales, inhibidores de la ruta de transducción de señales, inhibidores

15 angiogénicos de tirosinas MEK citoplásmicas, agentes inmunoterápicos, agentes proapoptóticos e inhibidores de la señalización del ciclo celular.

En un modo de realización, la combinación de la presente invención comprende un compuesto de fórmula I o una sal o solvato del mismo y al menos un agente

20 antineoplásico que es un agente antimicrotúbulos seleccionado de diterpenoides y alcaloides de la vinca.

En un modo de realización adicional, al menos un agente antineoplásico es un diterpenoide.

25

En un modo de realización adicional, al menos un agente antineoplásico es un alcaloide de la vinca.

En un modo de realización, la combinación de la presente invención comprende un

30 compuesto de fórmula I o una sal o solvato del mismo y al menos un agente antineoplásico, que es un complejo de coordinación de platino.

En un modo de realización adicional, al menos un agente antineoplásico es paclitaxel, carboplatino o vinorelbina.

35

En un modo de realización adicional, al menos un agente antineoplásico es carboplatino.

En un modo de realización adicional, al menos un agente antineoplásico es vinorelbina.

- 5 En un modo de realización adicional, al menos un agente antineoplásico es paclitaxel.

En un modo de realización, la combinación de la presente invención comprende un compuesto de fórmula I y sales o solvatos del mismo y al menos un agente
10 antineoplásico que es un inhibidor de la ruta de transducción de señales.

En un modo de realización adicional, el inhibidor de la ruta de transducción de señales es un inhibidor de una cinasa receptora del factor de crecimiento VEGFR2, TIE2, PDGFR, BTK, erbB2, RFCE, IGFR-1, TrkA, TrkB, TrkC o c-fms.
15

En un modo de realización adicional, el inhibidor de la ruta de transducción de señales es un inhibidor de una serina/treonina cinasa, rafk, akt o PKC-zeta.

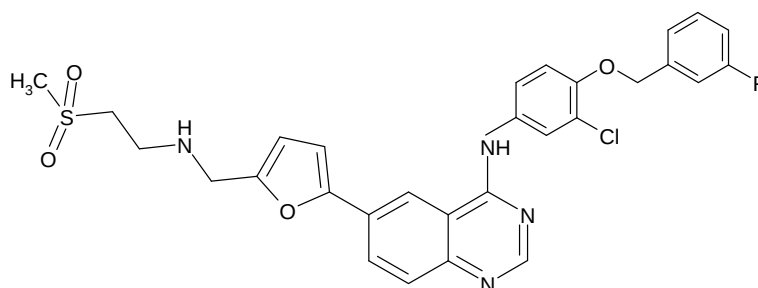
En un modo de realización adicional, el inhibidor de la ruta de transducción de
20 señales es un inhibidor de una tirosina cinasa citoplásmica seleccionada de la familia src de cinasas.

En un modo de realización adicional, el inhibidor de la ruta de transducción de
25 señales es un inhibidor de c-src.

En un modo de realización adicional, el inhibidor de la ruta de transducción de señales es un inhibidor del oncogén Ras seleccionado de inhibidores de la farnesiltransferasa y geranilgeraniltransferasa.

30 En un modo de realización adicional, el inhibidor de la ruta de transducción de señales es un inhibidor de una serina/treonina cinasa seleccionada del grupo que consiste en PI3K.

En un modo de realización adicional, el inhibidor de la ruta de transducción de
35 señales es un inhibidor doble de RFCE/erbB2, por ejemplo, N-{3-cloro-4-[(3-fluorobencil)oxi]fenil}-6-[5-({[2-(metanosulfonil)etil]amino}metil)-2-furil]-4-quinazolinamina (estructura a continuación):



En un modo de realización, la combinación de la presente invención comprende un compuesto de fórmula I o una sal o solvato del mismo y al menos un agente antineoplásico que es un inhibidor de la señalización del ciclo celular.

En un modo de realización adicional, el inhibidor de la señalización del ciclo celular es un inhibidor de CDK2, CDK4 o CDK6.

Ejemplos adicionales de un ingrediente o ingredientes activos adicionales (agente antineoplásico) para uso en combinación o coadministrado con el compuesto de fórmula (I) inventado en la presente invención son agentes anti-PD-L1.

Los anticuerpos anti-PD-L1 y los procedimientos para fabricar los mismos son conocidos en la técnica.

Dichos anticuerpos contra PD-L1 pueden ser policlonales o monoclonales, y/o recombinantes, y/o humanizados.

Los anticuerpos contra PD-L1 a modo de ejemplo se divulgan en:

la patente de EE. UU. n.º 8.217.149; 12/633.339;

la patente de EE. UU. n.º 8.383.796; 13/091.936;

la patente de EE. UU. n.º 8.552.154; 13/120.406;

la publicación de patente de EE. UU. n.º 20110280877; 13/068337;

la publicación de patente de EE. UU. n.º 20130309250; 13/892671;

el documento WO2013019906;

el documento WO2013079174;

la solicitud n.º 13/511.538 (presentada el 7 de agosto de 2012), que es la fase nacional de EE. UU. de la solicitud internacional n.º PCT/US10/58007 (presentada

en 2010);

y

la solicitud n.º 13/478.511 (presentada el 23 de mayo de 2012).

Anticuerpos a modo de ejemplo adicionales contra PD-L1 (también denominados CD274 o B7-H1) y procedimientos para su uso se divulgan en la patente de EE. UU. n.º 7.943.743; el documento US20130034559, el documento WO2014055897, la
5 patente de EE. UU. n.º 8.168.179; y la patente de EE. UU. n.º 7.595.048. Los anticuerpos contra PD-L1 están en desarrollo como agentes inmunomoduladores para el tratamiento del cáncer.

En un modo de realización, el anticuerpo contra PD-L1 es un anticuerpo divulgado
10 en la patente de EE. UU. n.º 8.217.149. En otro modo de realización, el anticuerpo anti-PD-L1 comprende las CDR de un anticuerpo divulgado en la patente de EE. UU. n.º 8.217.149.

En otro modo de realización, el anticuerpo contra PD-L1 es un anticuerpo divulgado
15 en la solicitud de EE. UU. n.º 13/511.538. En otro modo de realización, el anticuerpo anti-PD-L1 comprende las CDR de un anticuerpo divulgado en la solicitud de EE. UU. n.º 13/511.538.

En otro modo de realización, el anticuerpo contra PD-L1 es un anticuerpo divulgado
20 en la solicitud n.º 13/478.511. En otro modo de realización, el anticuerpo anti-PD-L1 comprende las CDR de un anticuerpo divulgado en la solicitud de EE. UU. n.º 13/478.511.

En un modo de realización, el anticuerpo anti-PD-L1 es BMS-936559 (MDX-1105).
25 En otro modo de realización, el anticuerpo anti-PD-L1 es MPDL3280A (RG7446). En otro modo de realización, el anticuerpo anti-PD-L1 es MEDI4736.

Ejemplos adicionales de un ingrediente o ingredientes activos adicionales (agente antineoplásico) para su uso en combinación o coadministrado con el compuesto de
30 fórmula (I) inventado en la presente invención son antagonistas de PD-1.

"Antagonista de PD-1" significa cualquier compuesto químico o molécula biológica que bloquea la unión de PD-L1 expresada en una célula cancerosa a PD-1 expresada en un inmunocito (linfocito T, linfocito B o célula NKT) y preferentemente
35 bloquea también la unión de PD-L2 expresada en una célula cancerosa a PD-1 expresada en inmunocitos. Los nombres alternativos o sinónimos para PD-1 y sus ligandos incluyen: PDCD1, PD1, CD279 y SLEB2 para PD-1; PDCD1L1, PDL1,

B7H1, B7-4, CD274 y B7-H para PD-L1; Y PDCD1L2, PDL2, B7-DC, Btdc y CD273 para PD-L2. En cualquier modo de realización de los aspectos o modos de realización de la presente invención en la que un individuo humano va a tratarse, el antagonista de PD-1 bloquea la unión de PD-L1 humano a PD-1 humana, y preferentemente bloquea la unión tanto de PD-L1 humano como de PD-L2 a PD-1 humana. Las secuencias de aminoácidos de PD-1 humana se pueden encontrar en el *locus* de NCBI n.º: NP_005009. Las secuencias de aminoácidos de PD-L1 y PD-L2 humanos se pueden encontrar en el *locus* de NCBI n.º: NP_054862 y NP_079515, respectivamente.

10

Los antagonistas de PD-1 útiles en cualquiera de los aspectos de la presente invención incluyen un anticuerpo monoclonal (mAb), o fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une específicamente a PD-1 o PD-L1, y preferentemente se une específicamente a PD-1 humana o PD-L1 humano. El mAb puede ser un anticuerpo humano, un anticuerpo humanizado o un anticuerpo quimérico, y puede incluir una región constante humana. En algunos modos de realización, la región constante humana se selecciona del grupo que consiste en las regiones constantes IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4, y en modos de realización preferentes, la región constante humana es una región constante IgG1 o IgG4. En algunos modos de realización, el fragmento de unión al antígeno se selecciona del grupo que consiste en fragmentos Fab, Fab'-SH, F(ab')₂, scFv y Fv.

15

Ejemplos de mAb que se unen a PD-1 humana y son útiles en los diversos aspectos y modos de realización de la presente invención, se describen en los documentos US7488802, US7521051, US8008449, US8354509, US8168757, WO2004/004771, WO2004/072286, WO2004/056875 y US2011/0271358.

20

Los mAb anti-PD-1 humana específicos útiles como antagonistas de PD-1 en cualquiera de los aspectos y modos de realización de la presente invención incluyen: MK-3475, un mAb contra IgG4 humanizado con la estructura descrita en *WHO Drug Information*, Vol. 27, n.º 2, páginas 161-162 (2013) y que comprende las secuencias de aminoácidos de la cadena pesada y ligera mostradas en la figura 6; nivolumab, un mAb contra IgG4 humana con la estructura descrita en *WHO Drug Information*, Vol. 27, n.º 1, páginas 68-69 (2013) y que comprende las secuencias de aminoácidos de la cadena pesada y ligera mostradas en la figura 7; los anticuerpos humanizados h409A11, h409A16 y h409A17, que se describen en el documento WO2008/156712, y AMP-514, que está desarrollando Medimmune.

25

30

35

Otros antagonistas de PD-1 útiles en cualquiera de los aspectos y modos de realización de la presente invención incluyen una inmunoadhesina que se une específicamente a PD-1, y preferentemente se une específicamente a PD-1 humana, por ejemplo, una proteína de fusión que contiene la porción de unión extracelular o PD-1 de PD-L1 o PD-L2 fusionada a una región constante tal como una región Fc de una molécula de inmunoglobulina. Ejemplos de moléculas de inmunoadhesión que se unen específicamente a PD-1 se describen en los documentos WO2010/027827 y WO2011/066342. Las proteínas de fusión específicas útiles como antagonistas de PD-1 en el procedimiento de tratamiento, medicamentos y usos de la presente invención incluyen AMP-224 (también conocida como B7-DCIg), que es una proteína de fusión PD-L2-FC y se une a PD-1 humana.

Otros ejemplos de mAb que se unen a PD-L1 humano y son útiles en el procedimiento de tratamiento, medicamentos y usos de la presente invención, se describen en los documentos WO2013/019906, WO2010/077634 A1 y US8383796. Los mAb anti-PD-L1 humano específicos útiles como antagonistas de PD-1 en el procedimiento de tratamiento, medicamentos y usos de la presente invención incluyen MPDL3280A, BMS-936559, MEDI4736, MSB0010718C.

KEYTRUDA/pembrolizumab es un anticuerpo anti-PD-1 comercializado para el tratamiento del cáncer de pulmón por Merck. La secuencia de aminoácidos de pembrolizumab y los procedimientos de uso se divulgan en la patente de EE. UU. n.º 8.168.757.

Opdivo/nivolumab es un anticuerpo monoclonal completamente humano comercializado por Bristol Myers Squibb dirigido contra el receptor inmunorregulador negativo de la superficie celular humana PD-1 (muerte programada-1 o muerte celular programada-1/PCD-1) con actividad de inmunopotenciación. Nivolumab se une y bloquea la activación de PD-1, una proteína transmembranaria de la superfamilia de Ig, por sus ligandos PD-L1 y PD-L2, dando como resultado la activación de linfocitos T y respuestas inmunitarias mediadas por células contra células tumorales o patógenos. La PD-1 activada regula negativamente la activación de linfocitos T y la función efectora mediante la supresión de la activación de la ruta P13k/Akt. Otros nombres para nivolumab incluyen: BMS-936558, MDX-1106 y ONO-4538. La secuencia de aminoácidos para nivolumab y los procedimientos de uso y preparación se divulgan en la patente de EE. UU. n.º US 8.008.449.

Ejemplos adicionales de un ingrediente o ingredientes activos adicionales (agente antineoplásico) para su uso en combinación o coadministrados con el compuesto de fórmula (I) inventado en la presente invención son inmunomoduladores.

5

Como se usa en el presente documento, "inmunomoduladores" se refieren a cualquier sustancia que incluye anticuerpos monoclonales que afecta al sistema inmunitario. Las proteínas de unión a ICOS de la presente invención se pueden considerar inmunomoduladoras. Los inmunomoduladores se pueden usar como
10 agentes antineoplásicos para el tratamiento del cáncer. Por ejemplo, los inmunomoduladores incluyen, pero no se limitan a, anticuerpos anti-CTLA-4 tales como ipilimumab (YERVOY) y anticuerpos anti-PD-1 (Opdivo/nivolumab y Keytruda/pembrolizumab). Otros inmunomoduladores incluyen, pero no se limitan a, anticuerpos contra OX-40, anticuerpos contra PD-L1, anticuerpos contra LAG3,
15 anticuerpos contra TIM-3, anticuerpos contra 41BB y anticuerpos contra GITR.

Yervoy (ipilimumab) es un anticuerpo CTLA-4 completamente humano comercializado por Bristol Myers Squibb. La estructura proteica del ipilimumab y los procedimientos que se usan se describen en las patentes de EE. UU. n.º 6.984.720 y
20 7.605.238.

CD134, también conocido como OX40, es un miembro de la superfamilia RFNT de receptores que no se expresa constitutivamente en linfocitos T indiferenciados en reposo, a diferencia de CD28. OX40 es una molécula coestimuladora secundaria,
25 expresada luego de 24 a 72 horas después de la activación; su ligando, OX40L, tampoco se expresa en las células presentadoras de antígeno en reposo, sino que sigue su activación. La expresión de OX40 depende de la activación completa del linfocito T; sin CD28, la expresión de OX40 se retrasa y de niveles cuatro veces más bajos. Los anticuerpos contra OX-40, las proteínas de fusión de OX-40 y los
30 procedimientos de uso de los mismos se divulgan en las patentes de EE. UU. n.º: US 7.504.101; US 7.758.852; US 7.858.765; US 7.550.140; US 7.960.515; documento WO2012027328; documento WO2013028231.

Agentes inmunoestimulantes:

35 Como se usa en el presente documento, "agente inmunoestimulante" se refiere a cualquier agente que pueda estimular el sistema inmunitario. Como se usa en el

presente documento, los agentes inmunoestimuladores incluyen, pero no se limitan a, adyuvantes de vacuna.

La expresión "receptor de tipo Toll" (o "TLR") como se usa en el presente documento se refiere a un miembro de la familia de receptores de tipo Toll de proteínas o un fragmento de las mismas que detecta un producto microbiano y/o inicia una respuesta inmunitaria adaptativa. En un modo de realización, un TLR activa una célula dendrítica (DC). Los receptores de tipo Toll (TLR) son una familia de receptores de reconocimiento de patrones que inicialmente se identificaron como sensores del sistema inmunitario innato que reconocen patógenos microbianos. Los TLR reconocen estructuras distintas en los microbios, a menudo denominadas "PMAP" (patrones moleculares asociados a patógenos). La unión de ligando a los TLR invoca una cascada de rutas de señalización intracelular que inducen la producción de factores implicados en la inflamación y la inmunidad. En seres humanos, se han identificado diez TLR. Los TLR que se expresan en la superficie de las células incluyen TLR-1, -2, -4, -5 y -6, mientras que TLR-3, -7/8 y -9 se expresan con el compartimento del ER. Los subconjuntos de DC humanas se pueden identificar sobre la base de patrones de expresión de TLR distintos. A modo de ejemplo, el subconjunto mieloide o "convencional" de DC (mDC) expresa los TLR 1-8 cuando se estimulan, y se producen una cascada de marcadores de activación (por ejemplo, CD80, CD86, CPH clase I y II, CCR7), citocinas proinflamatorias y quimiocinas. Un resultado de esta estimulación y la expresión resultante es el cebado de linfocitos T CD4+ y CD8+ específicos de antígeno. Estas DC adquieren una capacidad potenciada para captar antígenos y presentarlos en una forma apropiada a los linfocitos T. Por el contrario, el subgrupo plasmacitoide de DC (pDC) expresa sólo TLR7 y TLR9 tras la activación, con una activación resultante de células NK, así como linfocitos T. Dado que las células tumorales moribundas pueden afectar negativamente a la función de DC, se ha sugerido que la activación de DC con agonistas de TLR puede ser beneficiosa para cebar la inmunidad antitumoral en un enfoque de inmunoterapia para el tratamiento del cáncer. También se ha sugerido que el tratamiento exitoso del cáncer de mama con radiación y quimioterapia requiere la activación de TLR4.

Los agonistas de TLR conocidos en la técnica y que encuentran uso en la presente invención incluyen, pero no se limitan a, los siguientes: Pam3Cys, un agonista de TLR1/2; CFA, un agonista de TLR2; MALP2, un agonista de TLR2; Pam2Cys, un agonista de TLR2; FSL-I, un agonista de TLR-2; Hib-OMPC, un agonista de TLR-2;

ácido polirribosínico:polirribocitídico (Poli I:C), un agonista de TLR3; poliadenosina-ácido poliuridílico (poli AU), un agonista de TLR3; ácido poliinosínico-policitidílico estabilizado con poli-L-lisina y carboximetilcelulosa (Hiltonol), un agonista de TLR3; flagelina bacteriana, un agonista de TLR5; imiquimod, un agonista de TLR7; resiquimod, un agonista de TLR7/8; loxoribina, un agonista de TLR7/8; y dinucleótido CpG no metilado (CpG-ODN), un agonista de TLR9.

Agonistas de TLR adicionales conocidos en la técnica y que encuentran uso en la presente invención también incluyen, pero no se limitan a, fosfatos de aminoalquilglucosaminida (AGP) que se unen al receptor TLR4, se sabe que son útiles como adyuvantes de vacunas y agentes inmunoestimuladores para estimular la producción de citocinas, activar macrófagos, promover la respuesta inmunitaria innata y aumentar la producción de anticuerpos en animales inmunizados. Un ejemplo de un agonista de TLR4 que se produce de forma natural es el LPS bacteriano. Un ejemplo de un agonista de TLR4 semisintético es monofosforil lípido A (MPL). Los AGP y sus efectos inmunomoduladores por medio de TLR4 se divulgan en publicaciones de patentes tales como el documento WO 2006/016997, el documento WO 2001/090129 y/o la patente de EE. UU. n.º 6.113.918 y se han descrito en la literatura. Derivados de AGP adicionales se divulgan en la patente de EE. UU. n.º 7.129.219, la patente de EE. UU. n.º 6.525.028 y la patente de EE. UU. n.º 6.911.434. Ciertos AGP actúan como agonistas de TLR4, mientras que otros son reconocidos como antagonistas de TLR4.

Además de los agentes inmunoestimuladores descritos anteriormente, las composiciones de la presente invención pueden comprender además una o más sustancias adicionales que, debido a su naturaleza adyuvante, pueden actuar para estimular el sistema inmunitario para responder a los antígenos del cáncer presentes en la(s) célula(s) tumoral(es) inactivada(s). Dichos adyuvantes incluyen, pero no se limitan a, lípidos, liposomas, bacterias inactivadas que inducen inmunidad innata (por ejemplo, *Listeria monocytogenes* inactivadas o atenuadas), composiciones que median en la activación inmunitaria innata por medio de receptores de tipo NOD (NLR), receptores de tipo RIG-I basados en genes inducibles por ácido retinoico (RLR) y/o receptores de lectina de tipo C (CLR). Ejemplos de PMAP incluyen lipoproteínas, lipopolipéptidos, peptidoglucanos, cimosano, lipopolisacárido, porinas neisserianas, flagelina, profilina, galactoceramida, dipéptido muramilo. Los peptidoglucanos, lipoproteínas y ácidos lipoteicoicos son componentes de la pared celular de grampositivos. Los lipopolisacáridos se expresan por la mayoría de las

bacterias, siendo MPL un ejemplo. La flagelina se refiere al componente estructural de los flagelos bacterianos que se secreta por bacterias patógenas y comensales. La α -galactosilceramida (α -GalCer) es un activador de linfocitos T citolíticos naturales (NKT). El dipéptido muramilo es un motivo peptidoglucano bioactivo común a todas las bacterias.

Debido a sus cualidades adyuvantes, los agonistas de TLR se usan preferentemente en combinaciones con otras vacunas, adyuvantes y/o moduladores inmunitarios, y se pueden combinar en diversas combinaciones. De este modo, en ciertos modos de realización, los compuestos de fórmula (I) descritos en el presente documento que se unen a STING e inducen la activación de TBKI dependiente de STING y una célula tumoral inactivada que expresa y secreta una o más citocinas que estimulan la inducción, reclutamiento y/o maduración de DC, como se describe en el presente documento se pueden administrar junto con uno o más agonistas de TLR con fines terapéuticos.

Ejemplos adicionales de un ingrediente o ingredientes activos adicionales (agente antineoplásico) para su uso en combinación o coadministrado con el compuesto de fórmula (I) inventado en la presente invención son anticuerpos contra ICOS.

Las CDR para anticuerpos murinos contra ICOS humano que tienen actividad agonista se muestran en el documento PCT/EP2012/055735 (WO 2012/131004). Los anticuerpos contra ICOS también se divulgan en los documentos WO 2008/137915, WO 2010/056804, EP 1374902, EP1374901 y EP1125585.

En un aspecto, la enfermedad que se va a tratar es una enfermedad infecciosa, por ejemplo, provocada por bacterias o virus.

En un aspecto adicional de la invención, se proporciona un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en el tratamiento de enfermedad infecciosa.

En un aspecto adicional, se proporciona un procedimiento de tratamiento de enfermedad infecciosa que comprende administrar a un ser humano que lo necesita una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En un aspecto adicional, se proporciona el uso de un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de enfermedad infecciosa.

- 5 En un modo de realización, el compuesto de la invención se puede emplear con otros procedimientos terapéuticos de tratamiento de enfermedad infecciosa. En particular, se prevén agentes antivíricos y antibacterianos.

Los compuestos de fórmula (I) y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos
 10 se pueden usar en combinación con uno o más agentes útiles en la prevención o el tratamiento de infecciones bacterianas y víricas. Ejemplos de dichos agentes incluyen, sin limitación; inhibidores de la polimerasa tales como los divulgados en el documento WO 2004/037818-A1, así como los divulgados en los documentos WO 2004/037818 y WO 2006/045613; JTK-003, JTK-019, NM-283, HCV-796, R-803,
 15 R1728, R1626, así como los divulgados en los documentos WO 2006/018725, WO 2004/074270, WO 2003/095441, US2005/0176701, WO 2006/020082, WO 2005/080388, WO 2004/064925, WO 2004/065367, WO 2003/007945, WO 02/04425, WO 2005/014543, WO 2003/000254, EP 1065213, WO 01/47883, WO 2002/057287, WO 2002/057245 y agentes similares; inhibidores de la replicación
 20 tales como como aciclovir, famciclovir, ganciclovir, cidofovir, lamivudina y agentes similares; inhibidores de la proteasa, tales como los inhibidores de la proteasa de VIH saquinavir, ritonavir, indinavir, nelfinavir, amprenavir, fosamprenavir, brecanavir, atazanavir, tipranavir, palinavir, lasinavir y los inhibidores de la proteasa del VHC BILN2061, VX-950, SCH503034; y agentes similares; inhibidores nucleosídicos y
 25 nucleotídicos de la transcriptasa inversa, tales como zidovudina, didanosina, lamivudina, zalcitabina, abacavir, estavudina, adefovir, adefovir dipivoxil, fozivudina, todoxil, emtricitabina, alovudina, amdoxovir, elvucitabina y agentes similares; inhibidores no nucleosídicos de la transcriptasa inversa (incluyendo un agente que tiene actividad antioxidante, tal como inmunocal, oltipraz, etc.), tales como
 30 nevirapina, delavirdina, efavirenz, lovirida, inmunocal, oltipraz, capravirina, TMC-278, TMC-125, etravirina y agentes similares; inhibidores de la entrada, tales como enfuvirtida (T-20), T-1249, PRO-542, PRO-140, TNX-355, BMS-806, 5-Helix y agentes similares; inhibidores de la integración tales como L-870.180 y agentes
 35 similares; inhibidores del receptor de quimiocinas, tales como vicriviroc (Sch-C), Sch-D, TAK779, maraviroc (UK-427.857), TAK449, así como los divulgados en los documentos WO 02/74769, WO 2004/054974, WO 2004/055012, WO 2004/055010,

WO 2004/055016, WO 2004/055011 y WO 2004/054581 y agentes similares; inhibidores de la neuraminidasa, tales como CS-8958, zanamivir, oseltamivir, peramivir y agentes similares; bloqueantes de los canales iónicos, tales como amantadina o rimantadina y agentes similares; y ARN interferente y oligonucleótidos antisentido y tales como ISIS-14803 y agentes similares; agentes antivíricos de mecanismo de acción indeterminado, por ejemplo, los divulgados en los documentos WO 2005/105761, WO 2003/085375, WO 2006/122011, ribavirina y agentes similares. Los compuestos de fórmula (I) y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos también se pueden usar en combinación con uno o más de otros agentes que pueden ser útiles en la prevención o el tratamiento de infecciones víricas, por ejemplo, inmunoterapias (por ejemplo, interferón u otras citocinas/quimiocinas, moduladores de receptores de citocinas/quimiocinas, agonistas o antagonistas de citocinas y agentes similares); y vacunas terapéuticas, agentes antifibróticos, agentes antiinflamatorios, tales como corticoesteroides o AINE (agentes antiinflamatorios no esteroideos) y agentes similares.

En un aspecto adicional, se proporciona una combinación que comprende un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y al menos un agente terapéutico adicional útil en el tratamiento de enfermedad infecciosa.

En un aspecto adicional, se proporciona una combinación que comprende un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y al menos un agente terapéutico adicional útil en el tratamiento de enfermedad infecciosa para su uso en el tratamiento.

En un aspecto adicional, se proporciona una combinación que comprende un compuesto de fórmula (I) o sal farmacéuticamente aceptable del mismo y al menos un agente terapéutico adicional útil en el tratamiento de enfermedad infecciosa, para su uso en el tratamiento de enfermedad infecciosa.

En un aspecto adicional, se proporciona el uso de una combinación que comprende un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y al menos un agente terapéutico adicional útil en el tratamiento de enfermedad infecciosa en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de enfermedad infecciosa.

En un aspecto adicional, se proporciona un procedimiento de tratamiento de enfermedad infecciosa, que comprende administrar a un ser humano que lo necesita una cantidad terapéuticamente eficaz de una combinación que comprende un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y al menos un agente terapéutico adicional útil en el tratamiento de enfermedad infecciosa.

En un aspecto adicional, se proporciona una composición farmacéutica que comprende una combinación que comprende un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y al menos un agente terapéutico adicional útil en el tratamiento de enfermedad infecciosa y uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables.

También se proporciona, por lo tanto, un adyuvante de vacunas que comprende un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

Se proporciona, además, una composición inmunogénica que comprende un antígeno o una composición antigénica y un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

Se proporciona, además, una composición de vacuna que comprende un antígeno o una composición antigénica y un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

Se proporciona, además, un procedimiento de tratamiento o prevención de enfermedad, que comprende la administración a un sujeto humano que padece o es susceptible a la enfermedad, de una composición inmunogénica que comprende un antígeno o una composición antigénica y un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

Se proporciona, además, un procedimiento de tratamiento o prevención de enfermedad, que comprende la administración a un sujeto humano que padece o es susceptible a la enfermedad, de una composición de vacuna que comprende un antígeno o una composición antigénica y un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

Se proporciona, además, el uso de un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para la fabricación de una composición inmunogénica que comprende un antígeno o composición antigénica, para el tratamiento o la prevención de enfermedad.

5

Se proporciona, además, el uso de un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para la fabricación de una composición de vacuna que comprende un antígeno o composición antigénica, para el tratamiento o la prevención de enfermedad.

10

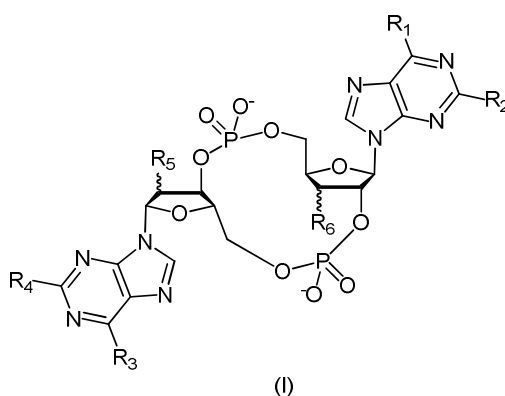
Los compuestos de fórmula (I) se pueden preparar por procedimientos conocidos en la técnica de la síntesis orgánica como se expone en los esquemas a continuación y/o los ejemplos específicos descritos a continuación. En todos los procedimientos, se comprende bien que se pueden emplear grupos protectores para grupos sensibles o reactivos cuando sea necesario, de acuerdo con los principios generales de la química. Los grupos protectores se manipulan de acuerdo con procedimientos típicos de síntesis orgánica (T. W. Green y P. G. M. Wuts (1999) Protective Groups in Organic Synthesis, 3.^a edición, John Wiley & Sons). Estos grupos se retiran en una fase conveniente de la síntesis del compuesto usando procedimientos que resultan fácilmente evidentes para los expertos en la técnica. La selección de procedimientos, así como las condiciones de reacción y el orden de su ejecución deberán ser consistentes con la preparación de compuestos de fórmula (I).

20

Preparación de compuestos

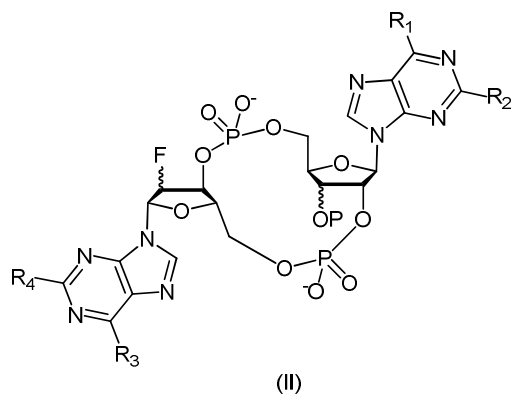
25

Los compuestos de fórmula (I) y sales de los mismos se pueden preparar por la metodología descrita a continuación en el presente documento, constituyendo aspectos adicionales de la presente invención.



30

En consecuencia, se proporciona un procedimiento para la preparación de un compuesto de fórmula (I), en la que R₅ es F y R₆ es OH, procedimiento que comprende la desprotección de un compuesto de fórmula (II):



5

en la que R₁, R₂, R₃ y R₄ son como se definen anteriormente en el presente documento para un compuesto de fórmula (I) y P es un grupo protector adecuado, tal como *terc*-butildimetilsililoxi (TBDMS) y después de ello, si es necesario, la preparación de una sal del compuesto así formado.

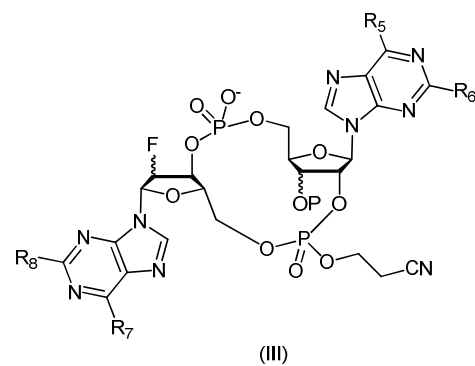
10

Por ejemplo, un compuesto de fórmula (II), en un disolvente adecuado, por ejemplo, piridina, se calienta a una temperatura adecuada, por ejemplo 50 °C, a continuación se trata con una mezcla de trihidrofluoruro de trietilamina y trietilamina, durante un período de tiempo adecuado, por ejemplo 2-3 horas. El producto (I) se aísla por precipitación por la adición de un disolvente, por ejemplo, acetona, y purificación, si es necesario.

15

Un compuesto de fórmula (II) se puede preparar por desprotección de un compuesto de fórmula (III):

20



en la que P es un grupo protector como se define para el compuesto de fórmula (II) y R₅, R₆, R₇ y R₈ se definen como

25

R₅ es OH y R₆ es NHCOiPr o R₅ es NHBz y R₆ es H;

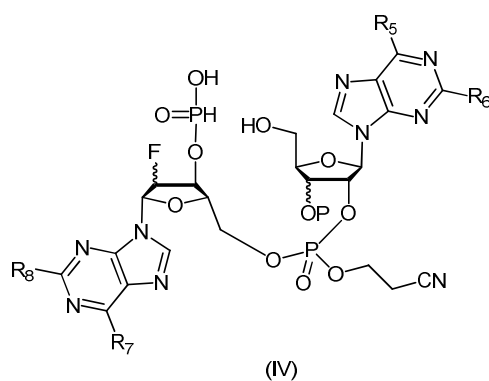
R₇ es OH y R₈ es NHCOiPr o R₇ es NHBz y R₈ es H.

5

Por ejemplo, un compuesto de fórmula (III) se disuelve en una mezcla adecuada, por ejemplo, metilamina en metanol o amoníaco acuoso en metanol, y se calienta a una temperatura adecuada, por ejemplo 50 - 55 °C, durante un período de tiempo adecuado, por ejemplo 2 – 72 horas. El producto (II) se aísla por eliminación del disolvente y purificación si es necesario.

10

Un compuesto de fórmula (III) se puede preparar por reacción de un compuesto de fórmula (IV):



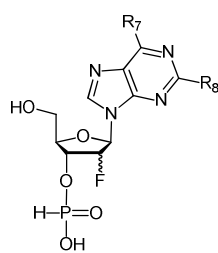
15

en la que P, R₅, R₆, R₇ y R₈ se definen como anteriormente en el presente documento para un compuesto de fórmula (III).

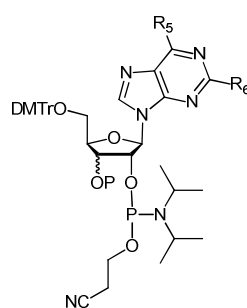
20 Por ejemplo, un compuesto de fórmula (IV) se disuelve en un disolvente adecuado, por ejemplo, piridina, y se trata con un reactivo de acoplamiento adecuado, por ejemplo, 2-óxido de 2-cloro-5,5-dimetil-1,3,2-dioxafosforinano, y se calienta a una temperatura adecuada, por ejemplo 20 °C, durante un período de tiempo adecuado, por ejemplo 1 – 3 horas. Se desactiva la reacción por adición de un disolvente adecuado, por ejemplo, agua, a continuación tras la adición de un agente oxidante, por ejemplo, yodo, y agitación a una temperatura adecuada, por ejemplo, 20 °C, durante un período de tiempo adecuado, por ejemplo 5 minutos. El producto (IV) se aísla por eliminación del disolvente y purificación si es necesario.

25

30 Un compuesto de fórmula (IV) se puede preparar por reacción de un compuesto de fórmula (V) con un compuesto de fórmula (VI):



(V)

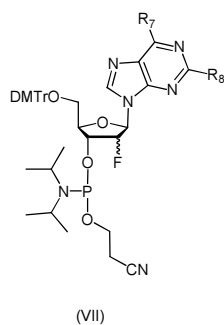


(VI)

en la que P, R₅, R₆, R₇ y R₈ se definen como anteriormente en el presente
 5 documento para un compuesto de fórmula (III) y DMTr es un grupo protector 4,4'-
 dimetoxitritilo.

Por ejemplo, un compuesto de fórmula (VI) en un disolvente adecuado, por ejemplo,
 acetonitrilo, en presencia de tamices moleculares, se trata con una solución de un
 10 compuesto de fórmula (V) disuelto en un disolvente adecuado, por ejemplo,
 acetonitrilo, y se agita a una temperatura adecuada, por ejemplo, 20 °C, durante un
 período de tiempo adecuado, por ejemplo, 1 – 2 horas. Se añade una solución de un
 agente oxidante adecuado, por ejemplo, una solución de hidroperóxido de *tert*-butilo
 en decano, y se agita la mezcla a una temperatura adecuada, por ejemplo, 20 °C,
 15 durante un período de tiempo adecuado, por ejemplo, 0,5 - 1 hora. Después de
 desactivar el exceso de agente oxidante, por ejemplo, por la adición de solución
 acuosa de bisulfito de sodio, y la evaporación del disolvente, se disuelve el residuo
 en un disolvente adecuado, por ejemplo, una mezcla de diclorometano y agua, y se
 trata con un reactivo adecuado, por ejemplo, ácido dicloroacético, y se agita a una
 20 temperatura adecuada, por ejemplo, 20 °C, durante un período de tiempo adecuado,
 por ejemplo, 15 minutos. Se obtiene una solución que contiene el producto (IV) por
 la adición de un disolvente adecuado, por ejemplo, piridina, y la concentración por
 evaporación.

25 Un compuesto de fórmula (V) se puede preparar por reacción de un compuesto de
 fórmula (VII).



en la que R₇ y R₈ se definen como anteriormente en el presente documento para un compuesto de fórmula (III) y DMTro es un grupo protector 4,4'-dimetoxitritilo.

5 Por ejemplo, un compuesto de fórmula (VII) se disuelve en una mezcla adecuada, por ejemplo, agua que contiene acetonitrilo, se trata con trifluoroacetato de piridinio, y se agita a una temperatura adecuada, por ejemplo, 20 °C, durante un período de tiempo adecuado, por ejemplo 1 minuto, a continuación se añade *tert*-butilamina y
10 se agita la mezcla a una temperatura adecuada, por ejemplo, 20 °C, durante un período de tiempo adecuado, por ejemplo, 10 minutos. El producto se aísla por evaporación del disolvente, a continuación se disuelve en un disolvente adecuado, por ejemplo, agua que contiene diclorometano, y se trata con ácido dicloroacético y se agita a una temperatura adecuada, por ejemplo, 20 °C, durante un período de
15 tiempo adecuado, por ejemplo, 15 minutos. Se obtiene una solución concentrada del producto (VII) en acetonitrilo por la adición de piridina seguida de destilación azeotrópica de la mezcla con acetonitrilo anhidro.

Las fosforamiditas de fórmula (VI) y (VII) son bien conocidas en la literatura, o están
20 comercialmente disponibles de proveedores tales como Sigma, Chemgenes y CarboSynth o bien se pueden preparar por procedimientos descritos en la literatura.

Se ilustran aspectos de la invención por referencia a, pero sin estar limitada de ninguna manera por, los siguientes ejemplos.

25 Metodología analítica
RMN de ¹H

Los espectros de RMN de ¹H se registraron en CDCl₃, DMSO-*d*₆, CD₃CN o bien
30 D₂O, en un espectrómetro Bruker DPX 400 o Bruker Avance DRX, Varian Unity 400 o bien JEOL Delta, que funcionan todos a 400 MHz. El patrón interno usado fue

tetrametilsilano o bien el disolvente protonado residual a 7,25 ppm para CDCl_3 o 2,50 ppm para $\text{DMSO}-d_6$.

CLEM

5 Sistema A

Columna: Acquity UPLC CSH C₁₈ de 1,7 m, 50 mm x 2,1 mm de DI

Caudal: 1 ml/min

Temp.: 40 °C

Volumen de inyección: 0,3 μ l

10 Intervalo de detección UV: 210 a 350 nm

Espectro de masas: Registrado en un espectrómetro de masas usando ionización por electropulverización en modo negativo y positivo con barrido alternativo

Disolventes: A: bicarbonato amónico 10 mM en agua ajustado hasta pH 10 con
solución de amoniaco
B: acetonitrilo

Gradiente:	<u>Tiempo (min)</u>	<u>% de A</u>	<u>% de B</u>
20	0	97	3
	0,05	97	3
	1,5	5	95
	1,9	5	95
	2,0	97	3

25 Sistema B

Columna: Acquity UPLC BEH C₁₈ de 1,7 µm, 50 mm x 2,1 mm de DI

Caudal: 1 ml/min

Temp.: 40 °C

Intervalo de detección UV: 210 a 350 nm

Espectro de masas: Registrado en un espectrómetro de masas usando ionización por electropulverización en modo negativo y positivo con barrido alternativo

35 Disolventes: A: bicarbonato amónico 10 mM en agua ajustado hasta pH 10 con
solución de amoniaco
B: acetonitrilo

	Gradiente:	<u>Tiempo (min)</u>	<u>% de A</u>	<u>% de B</u>
		0	99	1
		1,5	3	97
		1,9	3	97
5		2,0	99	1

Sistema C

CL: Sistema de administración de disolventes binario Waters Acquity, administración de columna 55 °C

10 Inyector automático: Inyector automático CTC Leap PAL

UV: PDA Waters Acquity (210-350 nm)

ELS: ELSD Waters Acquity (50 °C)

EM SQD Waters Acquity; polaridad (positiva o negativa); modo (continuo); tiempo de exploración (0,15 s); V capilar (3500); V del cono (25-35); Columna: Termo Hypersil

15 Gold (C₁₈, 20 x 2,1 mm, 1,9 µm de diam. de partículas)

Disolvente A: H₂O, TFA al 0,02 %

Disolvente B: MeCN, TFA al 0,02 %

	Gradiente:	Tiempo (min)	Flujo (ml/min)	Disol. B
		0,02	1,6	2,0
20		1,90	1,6	95,0
		1,91	parada	4,0

Abreviaturas:

La siguiente lista proporciona definiciones de ciertas abreviaturas como se usan en el presente documento. Se apreciará que la lista no es exhaustiva, pero el significado de las abreviaturas no definidas a continuación en el presente documento será evidente para los expertos en la técnica.

	DCM	diclorometano
30	DMF	<i>N,N</i> -dimetilformamida
	DMSO	dimetilsulfóxido
	DMTr	dimetoxitritilo
	THF	tetrahidrofurano
	EtOAc	acetato de etilo
35	MeOH	metanol
	EtOH	etanol
	MeCN	acetonitrilo

HCl	ácido clorhídrico
HPLC	cromatografía de líquidos de alto rendimiento
MDAP	HPLC autopreparativa dirigida a masas
EFS	extracción en fase sólida
5 MeOH	metanol
TBDMS	<i>terc</i> -butildimetilsililo
TBME	éter metil- <i>terc</i> -butílico
TFA	ácido trifluoroacético
DIPEA	<i>N,N</i> -diisopropiletilamina

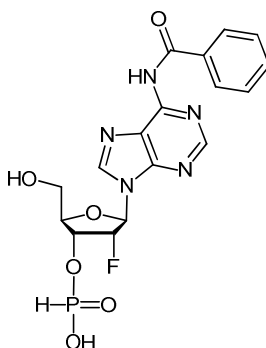
10

Nomenclatura

Los compuestos se nombran a partir de la estructura usando la herramienta de nomenclatura en Chem Draw (CambridgeSoft) o bien Marvin Sketch (ChemAxon).

15 Intermedios de reacción

Intermedio 1: hidrogenofosfonato de (2*R*,3*R*,4*R*,5*R*)-5-(6-benzamido-9*H*-purin-9-il)-4-fluoro-2-(hidroximetil)tetrahidrofuran-3-ilo



20

A una solución de (2*R*,3*R*,4*R*,5*R*)-5-(6-benzamido-9*H*-purin-9-il)-2-((bis(4-metoxifenil)(fenil)metoxi)metil)-4-fluorotetrahidrofuran-3-il-(2-

cianoetil)diisopropilfosforamidita (695 mg, 0,793 mmol) en acetonitrilo (4,1 ml) y agua (14,3 µl, 0,793 mmol) a temperatura ambiente se le añadió trifluoroacetato de

25 piridinio (184 mg, 0,952 mmol). Se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante 1 minuto. Se añadió *terc*-butilamina (3,96 ml, 37,7 mmol)

inmediatamente y se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante 10 minutos. Se evaporó la mezcla de reacción a vacío (baño de agua a 35 °C) para

producir una espuma blanca que se disolvió en acetonitrilo (10 ml) y se evaporó a vacío para producir una espuma blanca. Se disolvió de nuevo la espuma en

30 acetonitrilo (10 ml) y se evaporó a vacío para producir una espuma blanca. Se disolvió la espuma en diclorometano (19 ml) y se añadió agua (0,145 ml, 8,079

mmol), ácido dicloroacético (0,576 ml, 6,98 mmol) y se agitó la solución roja a temperatura ambiente durante 15 minutos. Se desactivó la mezcla de reacción con piridina (1,129 ml, 13,96 mmol) y se concentró a vacío hasta aproximadamente un volumen de 3 ml (baño de agua a 35-40 °C). Se destiló la suspensión blanca
 5 resultante de manera azeotrópica cinco veces con acetonitrilo anhidro (5 x 6 ml) (baño de agua a 35-40 °C), concentrándola hasta aproximadamente un volumen de 3 ml en el primer, segundo, tercer y cuarto azeótropos y aproximadamente un volumen de 2 ml en el azeótropo final para dar una suspensión del compuesto del título impuro.

10

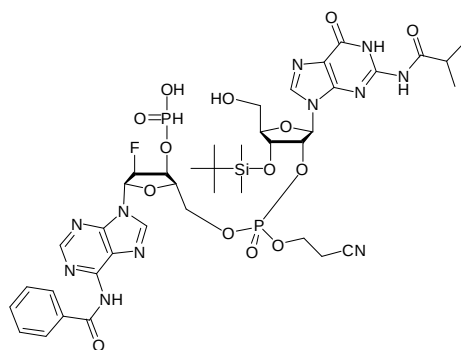
CLEM (Sistema B): $t_{RET} = 0,50$ min; MH^+ 436.

El matraz se tapó con un precinto, se evacuó/se purgó con nitrógeno y la suspensión blanca se usó inmediatamente en la siguiente reacción.

15

Intermedio 2: hidrogenofosfonato de (2*R*,3*R*,4*R*,5*R*)-5-(6-benzamido-9*H*-purin-9-il)-2-((((((2*R*,3*R*,4*R*,5*R*)-4-((*terc*-butildimetilsilil)oxi)-5-(hidroximetil)-2-(2-isobutiramido-6-oxo-1*H*-purin-9(6*H*)-il)tetrahidrofuran-3-il)oxi)(2-cianoetoxi)fosforil)oxi)metil)-4-fluorotetrahidrofuran-3-ilo

20



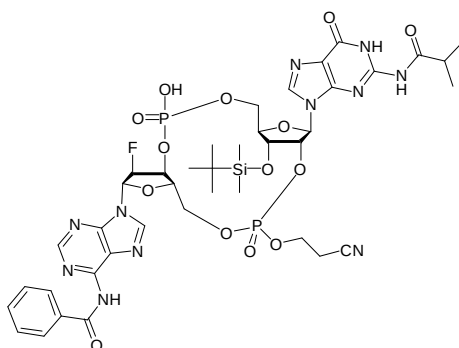
Se disolvió (2*R*,3*R*,4*R*,5*R*)-5-((bis(4-metoxifenil)(fenil)metoxi)metil)-4-((*terc*-butildimetilsilil)oxi)-2-(2-isobutiramido-6-oxo-1*H*-purin-9(6*H*)-il)tetrahidrofuran-3-il(2-
 25 cianoetil)diisopropilfosforamidita (1,00 g, 1,031 mmol) en acetonitrilo anhidro (3 ml), se añadieron cuatro tamices moleculares 3A y se almacenó la solución bajo una atmósfera de nitrógeno durante aproximadamente 45 minutos. Se añadió a continuación gota a gota esta solución a lo largo de 30 segundos a una suspensión de hidrogenofosfonato de (2*R*,3*R*,4*R*,5*R*)-5-(6-benzamido-9*H*-purin-9-il)-4-fluoro-2-
 30 (hidroximetil)tetrahidrofuran-3-ilo bruto (preparado por desprotección de 0,793 mmol de derivado 4,4'-dimetoxitritilo) en acetonitrilo anhidro (2 ml) y se agitó la mezcla bajo nitrógeno a temperatura ambiente durante 20 minutos. Se añadió solución de

hidroperóxido de *terc*-butilo anhidro (aproximadamente 5,5 M en decano) (0,433 ml, 2,379 mmol) y se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante 30 minutos. Se añadió más solución de hidroperóxido de *terc*-butilo anhidro (aproximadamente 5,5 M en decano) (0,072 ml, 0,397 mmol) y se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante 20 minutos y luego se enfrió en un baño de hielo/agua y se desactivó con solución acuosa de bisulfito de sodio al 33 % (0,464 ml). Se evaporó la mezcla a vacío y se almacenó el aceite residual en la nevera en un matraz tapado durante 17 horas y a continuación se disolvió en una mezcla de diclorometano (25 ml) y agua (0,145 ml, 8,079 mmol). Se añadió ácido dicloroacético (0,759 ml, 9,20 mmol) y se agitó la solución naranja a temperatura ambiente durante 15 minutos. La mezcla de reacción se desactivó con piridina anhidra (8 ml) y se concentró a vacío (baño de agua a 35-40 °C) hasta aproximadamente un volumen de 8 ml. Se añadió piridina anhidra adicional (20 ml) y se concentró de nuevo la mezcla de reacción a vacío (baño de agua a 35-40 °C) hasta aproximadamente un volumen de 8 ml. Se repitió una vez más esta destilación azeotrópica con piridina (20 ml) para dar una solución del compuesto del título impuro en piridina (8 ml).

CLEM (Sistema A): $t_{\text{RET}} = 0,88 \text{ min}$; $\text{MH}^+ 1020$

Esta solución se usó inmediatamente en la siguiente reacción.

Intermedio 3: N-{9-[(1*R*,6*R*,8*R*,9*R*,10*R*,15*R*,17*R*,18*R*)-18-[(*terc*-butildimetilsilil)oxi]-3-(2-cianoetoxi)-9-fluoro-12-hidroxi-17-[2-(2-metilpropanamido)-6-oxo-6,9-dihidro-1*H*-purin-9-il]-3,12-dioxo-2,4,7,11,13,16-hexaoxa-3 λ^5 ,12 λ^5 -difosfatriciclo[13.2.1.0^{6,10}]octadecan-8-il]-9*H*-purin-6-il}benzamida



A una solución de hidrogenofosfonato de (2*R*,3*R*,4*R*,5*R*)-5-(6-benzamido-9*H*-purin-9-il)-2-((((((2*R*,3*R*,4*R*,5*R*)-4-((*terc*-butildimetilsilil)oxi)-5-(hidroximetil)-2-(2-isobutiramido-6-oxo-1*H*-purin-9(6*H*)-il)tetrahidrofuran-3-il)oxi)(2-

cianoetoxy)fosforil)oxi)metil)-4-fluorotetrahidrofuran-3-ilo impuro (preparado a partir de la secuencia de reacciones que comienzan con 0,793 mmol de (2*R*,3*R*,4*R*,5*R*)-5-(6-benzamido-9*H*-purin-9-il)-2-((bis(4-metoxifenil)(fenil)metoxi)metil)-4-fluorotetrahidrofuran-3-il(2-cianoetil)diisopropilfosforamidita) en piridina anhidra (8 ml)

5 se le añadió más piridina anhidra (16 ml). Se añadió 2-óxido de 2-cloro-5,5-dimetil-1,3,2-dioxafosforinano (512 mg, 2,78 mmol) y se agitó la mezcla de reacción bajo nitrógeno a temperatura ambiente durante 1 hora. Se añadió a continuación más 2-óxido de 2-cloro-5,5-dimetil-1,3,2-dioxafosforinano (512 mg, 2,78 mmol) y se agitó la mezcla de reacción bajo nitrógeno a temperatura ambiente durante 50 minutos

10 adicionales. Se añadió una alícuota adicional de 2-óxido de 2-cloro-5,5-dimetil-1,3,2-dioxafosforinano (146 mg, 0,793 mmol) y se agitó la mezcla de reacción durante 25 minutos cuando se añadió más 2-óxido de 2-cloro-5,5-dimetil-1,3,2-dioxafosforinano (512 mg, 2,78 mmol) y se agitó la mezcla de reacción durante 25 minutos adicionales. Se desactivó la reacción con agua (1,644 ml, 91,33 mmol) y se añadió

15 inmediatamente yodo (262 mg, 1,031 mmol). Se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante 5 minutos y a continuación se vertió en solución acuosa de bisulfito de sodio al 0,14 % (115 ml). Después de 5 minutos, se añadió hidrogenocarbonato de sodio sólido (3,210 g) en porciones y se extrajo la mezcla con acetato de etilo (125 ml). Se separó la capa orgánica y se volvió a extraer la

20 capa acuosa con acetato de etilo (125 ml). Se pasaron las capas orgánicas combinadas a través de una frita hidrófoba y se evaporaron a vacío para dar un aceite naranja (2,88 g). Se disolvió una porción (1 g) de este producto bruto en el volumen mínimo de diclorometano y se aplicó a un cartucho de sílice de 100 g preacondicionado con metanol al 10 % en diclorometano y se eluyó usando un

25 gradiente de metanol al 10-40 % en diclorometano sobre 20 volúmenes de columna (longitud de onda de detección de 280 nm). Se combinaron las fracciones apropiadas y se evaporaron a vacío para producir un sólido amarillo pálido (120 mg) que se mostró que contenía el producto deseado por CLEM. Se disolvió el resto del producto bruto (1,88 g) en el volumen mínimo de diclorometano, se aplicó a un

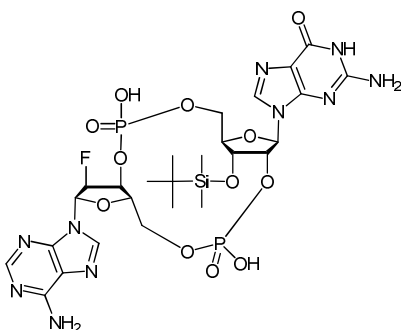
30 cartucho de sílice de 340 g preacondicionado con metanol al 10 % en diclorometano y se eluyó usando un gradiente de metanol al 10-40 % en diclorometano sobre 19 volúmenes de columna (longitud de onda de detección de 280 nm) y se combinaron y evaporaron a vacío las fracciones apropiadas para producir dos lotes adicionales de producto impuro (110 mg y 27 mg). Se combinaron estos tres lotes para dar el

35 compuesto del título impuro como un sólido amarillo pálido (257 mg).

CLEM (Sistema A): $t_{RET} = 0,89-0,93$ min; MH^+ 1018

Este material se usó directamente en la siguiente reacción.

Intermedio 4: (1*R*,6*R*,8*R*,9*R*,10*R*,15*R*,17*R*,18*R*)-17-(2-amino-6-oxo-6,9-dihidro-1*H*-
 5 purin-9-il)-8-(6-amino-9*H*-purin-9-il)-18-[(*terc*-butildimetilsilil)oxi]-9-fluoro-3,12-
 dihidroxi-2,4,7,11,13,16-hexaoxa-3 λ^5 ,12 λ^5 -difosfatriciclo[13.2.1.0^{6,10}]octadecano-
 3,12-diona

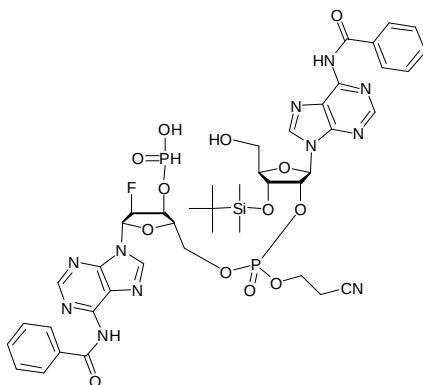


10

A una solución de N-{9-[(1*R*,6*R*,8*R*,9*R*,10*R*,15*R*,17*R*,18*R*)-18-[(*terc*-
 butildimetilsilil)oxi]-3-(2-cianoetoxi)-9-fluoro-12-hidroxi-17-[2-(2-metilpropanamido)-6-
 oxo-6,9-dihidro-1*H*-purin-9-il]-3,12-dioxo-2,4,7,11,13,16-hexaoxa-3 λ^5 ,12 λ^5 -
 difosfatriciclo[13.2.1.0^{6,10}]octadecan-8-il]-9*H*-purin-6-il}benzamida bruta (257 mg,
 15 0,252 mmol) en metanol (7 ml) se le añadió solución de amoníaco 0,88 (7 ml). Se
 agitó y se calentó la suspensión a 50 °C en un vial de microondas sellado durante 47
 horas y a continuación se enfrió y se evaporó a vacío (se añadió metanol a la mezcla
 de reacción para reducir la formación de espuma durante la evaporación) para
 producir un sólido amarillo pálido (268 mg). Se disolvió este material en metanol (10
 20 ml) y se añadió solución de amoníaco 0,88 (8 ml) y se agitó la suspensión durante 23
 horas adicionales a 50 °C en un vial de microondas sellado. Se evaporó la mezcla de
 reacción enfriada a vacío (se añadió metanol a la mezcla de reacción para reducir la
 formación de espuma durante la evaporación) para producir un sólido amarillo pálido
 (280 mg) que se disolvió en el volumen mínimo de DMSO, se aplicó a un cartucho
 25 Biotage KP-C18-HS de fase inversa preacondicionado de 120 g y se eluyó usando
 un gradiente de acetonitrilo al 0-35 % (+0,1 % de solución de amoníaco 0,88) en
 bicarbonato de amonio 10 mM en agua ajustado a pH 10 con solución de amoníaco
 sobre 16 volúmenes de columna (longitud de onda de detección de 254 nm). Se
 combinaron y se evaporaron las fracciones apropiadas a vacío para producir el
 30 compuesto del título como un sólido amarillo pálido (45 mg).

CLEM (Sistema A): $t_{\text{RET}} = 0,54 \text{ min}$; $\text{MH}^+ 789$

Intermedio 5: hidrogenofosfonato de (2*R*,3*R*,4*R*,5*R*)-5-(6-benzamido-9*H*-purin-9-il)-2-((((((2*R*,3*R*,4*R*,5*R*)-2-(6-benzamido-9*H*-purin-9-il)-4-((*tert*-butildimetilsilil)oxi)-5-(hidroximetil)tetrahidrofuran-3-il)oxi)(2-cianoetoxi)fosforil)oxi)metil)-4-fluorotetrahidrofuran-3-ilo

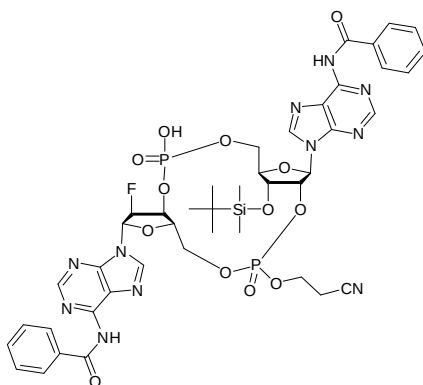


- 10 A una suspensión de hidrogenofosfonato de (2*R*,3*R*,4*R*,5*R*)-5-(6-benzamido-9*H*-purin-9-il)-4-fluoro-2-(hidroximetil)tetrahidrofuran-3-ilo (intermedio 1 preparado como se muestra anteriormente) (1,093 g, 2,5 mmol) en acetonitrilo (6 ml) a temperatura ambiente bajo una atmósfera de N_2 se le añadió una solución de (2*R*,3*R*,4*R*,5*R*)-2-(6-benzamido-9*H*-purin-9-il)-5-((bis(4-metoxifenil)(fenil)metoxi)metil)-4-((*tert*-
- 15 butildimetilsilil)oxi)tetrahidrofuran-3-il(2-cianoetil)diisopropilfosforamidita (3,21 g, 3,25 mmol) en acetonitrilo (10,00 ml) (nota: ambas soluciones se secaron previamente con tamices moleculares 3A activados durante aproximadamente una hora). Se agitó la mezcla bajo N_2 a temperatura ambiente durante 15 min. Se añadió hidroperóxido de *tert*-butilo anhidro (5,5 M en decano) (1,364 ml, 7,50 mmol) y se agitó la mezcla
- 20 de reacción a temperatura ambiente durante 30 min. Se enfrió la reacción en un baño de hielo/agua y se desactivó con bisulfito sódico (NaHSO_3 , al 33% acuoso) (1,250 ml, 6,00 mmol). Se retiró el baño de hielo/agua y se agitó la mezcla durante 5 min. Se concentró la mezcla hasta un volumen pequeño y a continuación se disolvió en diclorometano (80,00 ml), seguido de agua (0,450 ml, 25,00 mmol) y a
- 25 continuación ácido 2,2-dicloroacético (2,475 ml, 30,0 mmol). Se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante 10 min antes de desactivarse con piridina (25,00 ml). Se concentró la mezcla y se añadió otra porción de piridina (75,00 ml) y se concentró a ~50 ml para dar una solución del compuesto del título impuro en piridina (~50 ml).

CLEM (Sistema C): $t_{\text{RET}} = 1,04\text{-}1,08\text{ min}$; $\text{MH}^+ 1038$

Este material se usó directamente en la siguiente reacción.

- 5 Intermedio 6: N-{9-[(1*R*,6*R*,8*R*,9*R*,10*R*,15*R*,17*R*,18*R*)-17-(6-benzamido-9*H*-purin-9-il)-18-[(*terc*-butildimetilsilil)oxi]-3-(2-cianoetoxi)-9-fluoro-12-hidroxi-3,12-dioxo-2,4,7,11,13,16-hexaoxa-3 λ^5 ,12 λ^5 -difosfatriciclo[13.2.1.0^{6,10}]octadecan-8-il]-9*H*-purin-6-il}benzamida



10

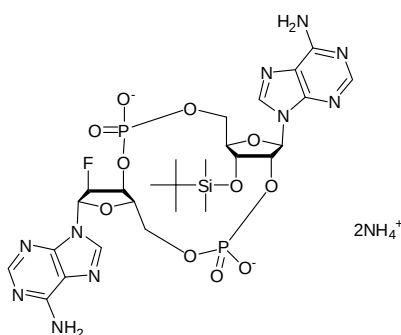
- A una solución impura obtenida anteriormente de hidrogenofosfonato de (2*R*,3*R*,4*R*,5*R*)-5-(6-benzamido-9*H*-purin-9-il)-2-((((((2*R*,3*R*,4*R*,5*R*)-4-((*terc*-butildimetilsilil)oxi)-5-(hidroximetil)-2-(2-isobutiramido-6-oxo-1*H*-purin-9(6*H*)-
- 15 il)tetrahidrofuran-3-il)oxi)(2-cianoetoxi)fosforil)oxi)metil)-4-fluorotetrahidrofuran-3-ilo (2,55 g, 2,5 mmol) en piridina (50,00 ml) se le añadió 2-óxido de 2-cloro-5,5-dimetil-1,3,2-dioxafosfinano (DMOCP) (1,615 g, 8,75 mmol). Se agitó la mezcla a temperatura ambiente bajo N_2 durante 30 min. Se desactivó la reacción por adición de agua (1,576 ml, 88 mmol) (10 equiv. respecto a DMOCP), seguido de I_2 (0,825 g,
- 20 3,25 mmol). Se agitó la mezcla durante 5 min y a continuación se vertió en agua (350 ml) que contenía bisulfito de sodio (NaHSO_3) (0,520 g, 5,00 mmol). Después de 5 min de agitación, se añadió lentamente bicarbonato de sodio (NaHCO_3) (10,50 g, 125 mmol) (precaución: evolución de gas) y se agitó la mezcla durante 5 min. Se extrajo el producto con EtOAc (400 ml x 2) y se concentraron los extractos
- 25 combinados. Se retiró el exceso de piridina por concentración con tolueno (5 ml x 2). Se dividió el residuo en tres porciones y se purificó cada una por cromatografía ultrarrápida en gel de sílice (Biotage, columna ultrarrápida de 50 g, MeOH al 0-30 %/DCM). Se combinaron y se concentraron las fracciones deseadas para proporcionar el compuesto del título impuro como un sólido blanco (0,84 g).

30

CLEM (Sistema C): $t_{\text{RET}} = 0,95-0,99$ min; $\text{MH}^+ 1036$

Este material se usó directamente en la siguiente reacción.

- 5 Intermedio 7: (1*R*,6*R*,8*R*,9*R*,10*R*,15*R*,17*R*,18*R*)-8,17-bis(6-amino-9*H*-purin-9-il)-18-[(*tert*-butildimetilsilil)oxi]-9-fluoro-3,12-dihidroxi-2,4,7,11,13,16-hexaoxa-3 λ^5 ,12 λ^5 -difosfatriciclo[13.2.1.0^{6,10}]octadecano-3,12-diona, sal bis-amónica



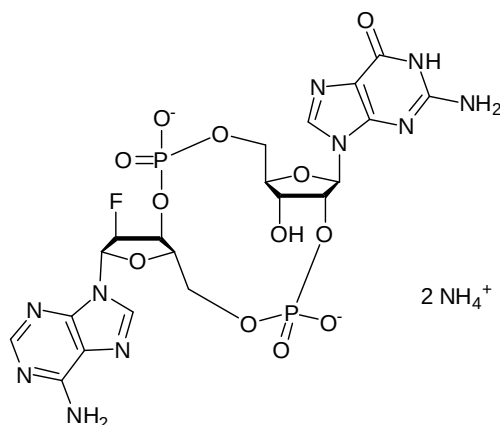
10

- Se agitó una mezcla de N-{9-[(1*R*,6*R*,8*R*,9*R*,10*R*,15*R*,17*R*,18*R*)-17-(6-benzamido-9*H*-purin-9-il)-18-[(*tert*-butildimetilsilil)oxi]-3-(2-cianoetoxi)-9-fluoro-12-hidroxi-3,12-dioxo-2,4,7,11,13,16-hexaoxa-3 λ^5 ,12 λ^5 -difosfatriciclo[13.2.1.0^{6,10}]octadecan-8-il]-9*H*-purin-6-il}benzamida (0,84 g) y metilamina (33 % en peso en EtOH) (40,4 ml, 324 mmol) a temperatura ambiente durante 20 h. Se concentró la mezcla y se purificó el residuo por HPLC de fase inversa Gilson (phenomenex Gemini-NX 5u C18(2) 100A, AXIA. 30 x 100 mm 5 micrómetros, 40 ml/min, CH₃CN al 0-40 %/H₂O (con NH₄OH al 0,1 %), detección UV a 214 nm). Se combinaron y se concentraron las fracciones apropiadas para dar el compuesto del título impuro como un sólido blanco como una sal bis-amónica (0,32 g).
- 15
- 20

CLEM (Sistema C): $t_{\text{RET}} = 0,66$ min; $\text{MH}^+ 775$

Ejemplos

- 25 Ejemplo 1: (1*R*,6*R*,8*R*,9*R*,10*R*,15*R*,17*R*,18*R*)-17-(2-amino-6-oxo-6,9-dihidro-1*H*-purin-9-il)-8-(6-amino-9*H*-purin-9-il)-9-fluoro-3,12,18-trihidroxi-2,4,7,11,13,16-hexaoxa-3 λ^5 ,12 λ^5 -difosfatriciclo[13.2.1.0^{6,10}]octadecano-3,12-diona, sal bis-amónica



Se suspendió (1*R*,6*R*,8*R*,9*R*,10*R*,15*R*,17*R*,18*R*)-17-(2-amino-6-oxo-6,9-dihidro-1*H*-
 purin-9-il)-8-(6-amino-9*H*-purin-9-il)-18-[(*terc*-butildimetilsilil)oxi]-9-fluoro-3,12-
 5 dihidroxi-2,4,7,11,13,16-hexaoxa-3λ⁵,12λ⁵-difosfatriciclo[13.2.1.0⁶,¹⁰]octadecano-
 3,12-diona (45 mg, 0,057 mmol) en piridina (0,8 ml) y se calentó la mezcla bajo
 nitrógeno en un baño de aceite a 50 °C. La adición simultánea gota a gota de
 trietilamina (1,0 ml) y trihidrofluoruro de trietilamina (0,46 ml, 2,84 mmoles) a lo largo
 de 1 minuto se siguió de agitación a 50 °C durante 2,5 horas. Se dejó enfriar la
 10 solución resultante hasta temperatura ambiente antes de añadir acetona de calidad
 HPLC (6 ml) gota a gota a lo largo de 2 minutos. Se dejó sedimentar la suspensión
 muy fina resultante. Se decantó la mayor parte de la porción líquida y se lavó la
 suspensión densa sucesivamente con acetona (2 x 3 ml). Se secó el sólido húmedo
 resultante a vacío para producir un aceite incoloro que se disolvió en el volumen
 15 mínimo de agua, se aplicó a un cartucho Biotage KP-C18-HS de fase inversa
 preacondicionado de 60 g y se eluyó usando bicarbonato de amonio 10 mM en agua
 ajustado a pH 10 con solución de amoniaco (3 volúmenes de columna), seguido de
 un gradiente de acetonitrilo al 0-15 % (+0,1 % de solución de amoniaco 0,88) en
 bicarbonato de amonio 10 mM en agua ajustado a pH 10 con solución de amoniaco
 20 sobre 17 volúmenes de columna (longitud de onda de detección de 254 nm). Se
 combinaron y se evaporaron las fracciones apropiadas a vacío para producir el
compuesto del título como un sólido blanco (21 mg).

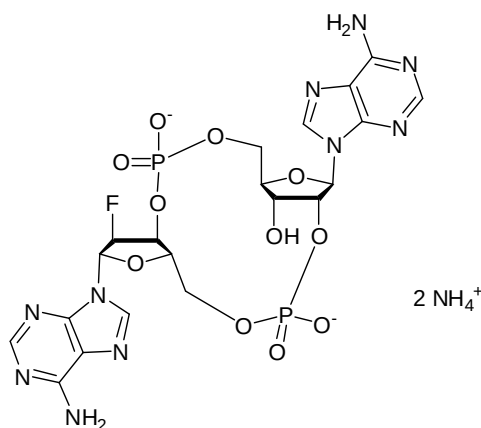
CLEM (Sistema A): $t_{\text{RET}} = 0,18 \text{ min}$; $\text{MH}^+ 677$

Masa exacta $\text{MH}^+ 677,1039$; $\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{O}_{12}\text{N}_{10}\text{FP}_2$ requiere $\text{MH}^+ 677,1029$

Se sometió a prueba el compuesto en un ensayo de unión a STING similar al
 descrito por Li *et al.* (Nature Chemical Biology, **10**, 1043-1048, (2014)) y obtuvo un
 30 Clp_{50} de >7 .

Ejemplo 2: (1*R*,6*R*,8*R*,9*R*,10*R*,15*R*,17*R*,18*R*)-8,17-bis(6-amino-9*H*-purin-9-il)-9-fluoro-3,12,18-trihidroxi-2,4,7,11,13,16-hexaoxa-3 λ^5 ,12 λ^5 -difosfatriciclo[13.2.1.0^{6,10}]octadecano-3,12-diona, sal bis-amónica

5



Se calentó una suspensión de la (1*R*,6*R*,8*R*,9*R*,10*R*,15*R*,17*R*,18*R*)-8,17-bis(6-amino-9*H*-purin-9-il)-18-[(*tert*-butildimetilsilil)oxi]-9-fluoro-3,12-dihidroxi-

10 2,4,7,11,13,16-hexaoxa-3 λ^5 ,12 λ^5 -difosfatriciclo[13.2.1.0^{6,10}]octadecano-3,12-diona impura obtenida anteriormente, (intermedio 7) (200 mg, 0,247 mmol) en piridina (4 ml) y trietilamina (4,00 ml) en un vial con una aguja de ventilación a 50 °C. Se añadió a continuación trihidrofluoruro de trietilamina (1,007 ml, 6,18 mmol) y se agitó la mezcla a 50 °C durante 2 h. A la mezcla se le añadió acetona de calidad HPLC (10

15 ml) y se agitó durante 10 min. Se recogió el precipitado resultante por filtración y se enjuagó minuciosamente con acetona (5 x 1 ml). Se purificó el producto en HPLC de fase inversa Gilson (phenomenex Gemini-NX 5u C18(2) 100A, AXIA. 30 x 100 mm, 5 micrómetros, 40 ml/min, CH₃CN al 0-10 %/H₂O (con NH₄OH al 0,1%), detección UV a 214 nm). Se combinaron y se concentraron las fracciones apropiadas. Se purificó

20 adicionalmente el residuo en una columna preparativa HILIC (Luna HILIC 5u 21 x 250 mm, NH₄HCO₂H acuoso al 20 % (30 mM, pH 4) y CH₃CN al 80 %, 20 ml/min, detección UV a 254 nm). Se combinaron y se evaporaron las fracciones apropiadas para retirar el CH₃CN y a continuación se liofilizaron. Se añadió a continuación agua (10 ml) y a continuación se liofilizó. Se añadieron otros 10 ml de agua junto con 5

25 gotas de NH₄OH concentrado y se volvió a liofilizar para dar el compuesto del título como una sal bis-amónica como un sólido blanco (45 mg).

CLEM (sistema C): $t_{\text{RET}} = 0,18$ min; MH⁺ 661

RMN de ^1H (400 MHz, D_2O) 8,30 (s, 1H), 8,06 (s. a., 1H), 7,95 (s. a., 2H), 6,27 (d, $J=15,97$ Hz, 1H), 6,14 (d, $J=8,11$ Hz, 1H), 5,47 (d, $J=51,71$ Hz, 1H), 5,05-5,18 (m, 1H), 4,82-4,97 (m, 1H), 4,48-4,56 (m, 1H), 4,39-4,47 (m, 1H), 4,33 (s. a., 1H), 4,15-4,31 (m, 2H), 3,95-4,09 (m, 2H).

5

Ejemplo 3: evaluación de la actividad adyuvante del compuesto del ejemplo 1

Lista de abreviaturas

- i.m. - Intramuscular
- HBsAg - Antígeno del virus de la hepatitis B
- 10 • 14dp1 - 14 días posteriores a la vacuna primaria
- 14dp2 - 14 días posteriores a la vacuna secundaria
- ELISA - Ensayo de inmunoabsorción enzimática
- LLOQ - Límite inferior de cuantificación
- CDN - Dinucleótidos cíclicos
- 15 • STING - Estimulador de genes de interferón
- IFN - Interferón
- FNT - Factor de necrosis tumoral
- 1401A - GSK3371401A - CDN modificados de Pharma de GSK
- PI - propiedad intelectual
- 20 • HBsAg - Antígeno de superficie del virus de la hepatitis B
- ICS - Tinción intracelular de citocinas
- Ab - anticuerpo

El objetivo de este estudio fue evaluar el potencial de los agonistas de STING de la presente invención para funcionar como adyuvantes en ratones usando el modelo de HBsAg. Este estudio compara la inmunogenicidad de las formulaciones potenciadas que contienen el compuesto del ejemplo 1 con la de un agonista clásico de STING generado por mamífero, cGAMP. Este estudio se diseñó para evaluar: 1) la respuesta a la dosis de adyuvante sistémica total con 1401A por vía de administración i.m.; 2) la respuesta inmunitaria específica al subtipo de IgG1 e IgG2a a vacunas potenciadas con el compuesto del ejemplo 1 en comparación con cGAMP, alumbre o vacuna no potenciada; 3) el perfil de citocinas de linfocitos T producido en respuesta a la vacuna potenciada con el compuesto del ejemplo 1, cGAMP o alumbre.

35

Se vacunaron i.m. ratones Balb/C hembras.

Se usaron cuatro dosis diferentes de este compuesto del ejemplo 1 a fin de evaluar la respuesta a la dosis. Se administraron las vacunas por vía intramuscular dos veces a intervalos de 21 días, y se evaluaron los sueros para respuestas de anticuerpos sistémicas. Se recogieron los bazos (3 ratones/grupo) para el análisis

5 Luminex/ICS.

Grupo	Antígeno	Dosis de Ag	Adyuvante	Dosis de ady. por ratón (ug)	Ruta de inmun.	N.º animales
1	HBsAg	2 ug	--		i.m.	13
2	HBsAg	2 ug	Alumbre	50	i.m.	13
3	HBsAg	2 ug	cGAMP	50	i.m.	13
4	HBsAg	2 ug	cGAMP	10	i.m.	13
5	HBsAg	2 ug	Compuesto del ejemplo 1	50	i.m.	13
6	HBsAg	2 ug	Compuesto del ejemplo 1	10	i.m.	13
7	HBsAg	2 ug	Compuesto del ejemplo 1	2	i.m.	13
8	HBsAg	2ug	Compuesto del ejemplo 1	0,4	i.m.	13

Se extrajeron los sueros de la vacunación 14dp1 y 14dp2. Se evaluó el suero por ELISA para los títulos de IgG anti-HBsAg, IgG1 e IgG2a.

10

Se extrajeron los bazos de la vacunación 5dp2, y se procesaron para análisis de ICS de citometría de flujo. Se analizaron los esplenocitos para los marcadores celulares CD3, CD4, CD8, además de tinción viva/muerta. Se tiñeron adicionalmente las células para las citocinas intracelulares IL-2, IL-4, IFN γ , TNF α e IL-17.

15

Sumario

El antígeno de superficie del virus de la hepatitis B (HBsAg), administrado intramuscularmente (i.m.) y potenciado con los agonistas cGAMP del estimulador de

genes de interferón (STING) o el compuesto del ejemplo 1, era fuertemente inmunogénico con altos niveles de IgG sérica específica para HBsAg.

5 Tanto el compuesto del ejemplo 1 como cGAMP potencian significativamente la respuesta inmunitaria a HBsAg cuando se administran por vía i.m. Los títulos de anti-HBsAg en ratones vacunados por vía i.m. fueron significativamente mayores que el punto de referencia no potenciado. La adición del compuesto del ejemplo 1 dio como resultado niveles de IgG específicos para HBsAg sensibles a la dosis. En relación con la dosis, no se observaron diferencias significativas en los títulos de anticuerpos
10 entre el agonista clásico de STING generado por mamífero, cGAMP, y el compuesto del ejemplo 1.

Los grupos de ratones a los que se administraron CDN tuvieron un aumento significativo en los niveles de IgG2a específicos para HBsAg respecto a los
15 observados en ratones que recibieron alumbre, lo que indica una fuerte respuesta de tipo Th1. Los niveles de anticuerpos anti-IgG1 específicos para HBsAg fueron similares en los grupos potenciados con alumbre y CDN.

Los datos de citometría de flujo e ICS apoyan la observación de una fuerte
20 respuesta de tipo Th1 en grupos de ratón potenciados con CDN. El número de células CD4+ que tiñen positivamente para IFN- γ fue mayor en los esplenocitos reestimulados de ratones tratados con CDN que los niveles observados en los grupos con alumbre o no potenciados.