



No. 11-058070- -00000-0000

Fecha: 2011-05-11 17:20:48 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYI Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 221



Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

PCT

DELEGATURA DE PROPIEDAD INDUSTRIAL

DIRECCIÓN DE NUEVAS CREACIONES

11-58070

SOLICITUD DE PATENTE DE
INVENCION

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
INVENTARI

TITULO: COMPUESTOS QUE EXPANDEN LAS CÉLULAS MADRE
HEMATOPOIÉTICAS.

SOLICITANTE: IRM LLC Y THE SCRIPPS RESEARCH INSTITUTE.

DIRECCIÓN: 131 Front Street, P.O. Box HM 2899, Hamilton HM LX, Bermuda
y 10550 North Torrey Pines Road, La Jolla, California, 92037.

APODERADO: CARLOS R. OLARTE

BOGOTÁ 11 de Mayo de 2011

P2011/000083

Recibido
30-05-2011
No. 54

PETITORIO - FORMULARIO ÚNICO DE SOLICITUD

PATENTE PCT

ENTRADA EN FASE NACIONAL

P2011/000083

SOLICITUD DE:

1

☒

Patente de Invención.

☐

Patente de Modelo de Utilidad.

☒

Capítulo I.

☐

Capítulo II.

2

SOLICITANTE
(71)

Nombre: IRM LLC y THE SCRIPPS
RESEARCH INSTITUTE.

Dirección: 1. 131 Front Street, P.O. Box HM 2899,
Hamilton HM LX, Bermuda. 2. 10550 North Torrey
Pines Road, La Jolla, California, 92037.

Nacionalidad o Domicilio: (1) Bermuda,
(2) Estados Unidos de América.

Lugar de Constitución: (1) Bermuda, (2)
Estados Unidos de América.

Teléfono: _____ **Fax:** _____
E-mail: _____

IDENTIFICACIÓN

C.C. ☐ NIT ☐

C.E. ☐ Otro ☐

Cual _____

Número _____

REPRESENTANTE
O APODERADO

Nombre: CARLOS R. OLARTE

Dirección: Diagonal 34 No. 5-28

Teléfono: 601-7700 **Fax:** 601-7799
E-mail: office@olartemoure.com

IDENTIFICACIÓN

C.C. ☒ NIT ☐

C.E. ☐ Otro ☐

Cual _____

Número 79782747 Bta
TP 74.295

INVENTOR (ES)
(72)

Nombre: VER PAGINA ADJUNTA

Dirección: VER PAGINA ADJUNTA

Nacionalidad o Domicilio: VER PAGINA ADJUNTA

5

PCT (86)

Solicitud Internacional No. PCT/US2009/062646 Fecha Octubre 29, 2009

Publicación Internacional No. WO 2010/059401 Fecha Mayo 27, 2010

6

Título (54) COMPUESTOS QUE EXPANDEN LAS CÉLULAS MADRE
HEMATOPOIÉTICAS.

Clasificación Internacional (51) A61K 35/28; C07D 473/34; A61K 31/52; A61P
35/02; A61P 35/00; A61P 7/06; A61P 37/00; C12N 5/0789; C12N 5/078.

Prioridad
SI ☒ NO ☐

(33) País de Origen

(32) Fecha

(31) Número de
Solicitud

US

Octubre 30, 2008

61/109.821

US

Septiembre 15, 2009

61/242.765

9

Comprobante de pago No. 11-0044739

Fecha 10 de mayo de 2011



ANEXOS



Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud.



Documento que acredita la existencia y representación legal cuando el solicitante sea persona jurídica.



Poderes, si fuere el caso.



Documento de cesión del inventor al solicitante o a su causante. Declaración bajo la regla 4.17 (ii) del PCT.



Declaraciones.



Copia de la solicitud internacional. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos).



Traducción de la solicitud internacional al castellano. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos).



Copia del examen preliminar internacional efectuado por la Autoridad Internacional de Examen Preliminar (IPEA).



Traducción del examen preliminar internacional efectuado por la IPEA.



De ser el caso, copia del contrato de acceso.



De ser el caso, documento que acredite la licencia o autorización de uso de conocimientos tradicionales de las comunidades indígenas.



De ser el caso, certificado de depósito del material biológico.



Arte final 12 x 12.



De ser el caso, información sobre otras solicitudes de patente o títulos obtenidos en el extranjero por el mismo titular o su causante, relacionadas parcial o totalmente con la invención de esta solicitud.



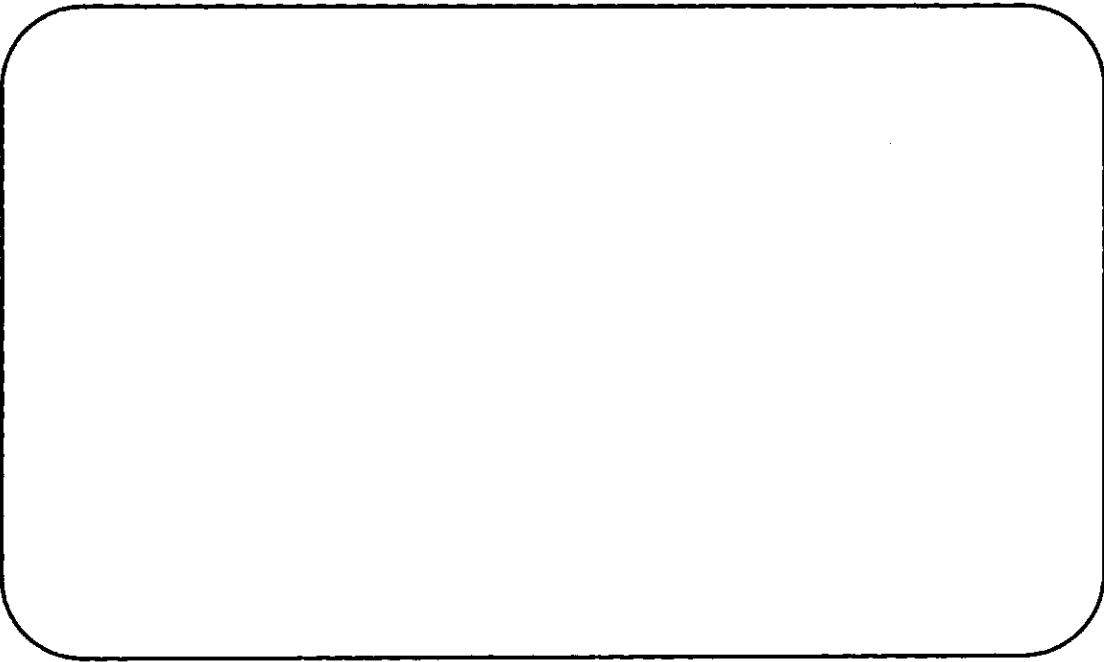
De ser el caso, modificaciones efectuadas a la solicitud internacional. Form PCT/IB306.



Otros. Búsqueda Internacional



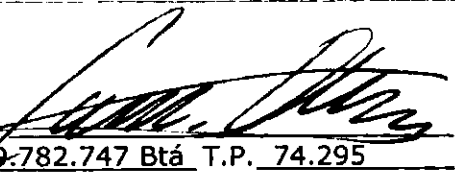
FIGURA CARACTERÍSTICA:



Solicito la concesión de la patente,

NOMBRE: CARLOS R. OLARTE

FIRMA:


C.C. 79.782.747 Btá T.P. 74.295

LISTA DE INVENTORES

PCT/US2009/062646

Michael, COOKE

4265 Ingleside Avenue, San Diego,
California, 92103

Estados Unidos

Nacionalidad: Estadounidense

Shifeng, PAN

13880 Kerry Lane, San Diego,
California, 92130

Estados Unidos

Nacionalidad: Estadounidense

John, TELLEW

1340 Caminito Balada, La Jolla,
California, 92037

Estados Unidos

Nacionalidad: Estadounidense

Yongqin, WAN

19 Santa Eugenia, Irvine,
California, 92026,

Estados Unidos

Nacionalidad: Estadounidense

Xing, WANG

10445 Monterey Ridge Drive
San Diego, CA 92127

Estados Unidos

Nacionalidad: China

Anthony E., BOITANO

13037 Cavalry Ct., San Diego,
California, 92129

Estados Unidos

Nacionalidad: Estadounidense

Peter G., SCHULTZ

1650 La Jolla Rancho, La Jolla,
California, 92037

Estados Unidos

Nacionalidad: Estadounidense

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800.176.089-2

-/-

4

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

RECIBO DE CAJA

No. 11 - 0044739

Bogotá D.C., Mayo 10 de 2011 - 16:19:06

RECIBIDO DE : OLARTERAISBECK

NI 830.122.870

*** Soporte del Pago ***

TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR PAGO
CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	157074481	10/05/2011	10.179.000.00

*** Conceptos Pagados ***

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	Vr. LINDITARIO	Vr. CONCEPTO
1	50005-01-01	SOLICITUDES	1	TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE INVENCIÓN
			571.000.00	571.000.00
				\$571.000.00

SON: **QUINIENTOS SETENTA Y UN MIL PESOS MONEDA CORRIENTE***

Responsable

Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 11-058070-00000-0000

Fecha: 2011-05-11 17:20:48
Tra. 11 PATENTE IYII
Act. 411 PRESENTACIONDep. 2020 DIR. NUEVAS CR
Eve: 378 FASE NACIONAL I
Folios: 221

Sede Centro: Carrera 13 No. 27 - 00 Pisos 3,4,5 y 10 Bogotá, D.C. - Colombia

Web: www.sic.gov.co e-mail: info@sic.gov.co Conmutador: (571) 5870000 Fax: (571) 5870284 Línea: 018000-910165 Call Center: (571) 6513240

Mayo 10 de 2011 - 16:19:08

PCT REQUEST

Original (for SUBMISSION)

VIII-2-1	Declaration: Entitlement to apply for and be granted a patent Declaration as to the applicant's entitlement, as at the international filing date, to apply for and be granted a patent (Rules 4.17(ii) and 51bis.1(a)(ii)), in a case where the declaration under Rule 4.17(iv) is not appropriate: Name (LAST, First)	in relation to this international application IRM LLC is entitled to apply for and be granted a patent by virtue of the following:
VIII-2-1(i)		IRM LLC is entitled as employer of the inventor, COOKE, Michael
VIII-2-1(i)		IRM LLC is entitled as employer of the inventor, PAN, Shifeng
VIII-2-1(i)		IRM LLC is entitled as employer of the inventor, TELLEW, John
VIII-2-1(i)		IRM LLC is entitled as employer of the inventor, WAN, Yongqin
VIII-2-1(i)		IRM LLC is entitled as employer of the inventor, WANG, Xing
VIII-2-1(i)		THE SCRIPPS RESEARCH INSTITUTE is entitled as employer of the inventor, BOITANO, Anthony
VIII-2-1(i)		THE SCRIPPS RESEARCH INSTITUTE is entitled as employer of the inventor, SCHULTZ, Peter G.

PCT REQUEST

Original (for SUBMISSION)

VIII-4-1	Declaration: Inventorship (only for the purposes of the designation of the United States of America) Declaration of Inventorship (Rules 4.17(iv) and 51bis.1(a)(iv)) for the purposes of the designation of the United States of America:	I hereby declare that I believe I am the original, first and sole (if only one inventor is listed below) or joint (if more than one inventor is listed below) inventor of the subject matter which is claimed and for which a patent is sought. This declaration is directed to the international application of which it forms a part (if filing declaration with application). This declaration is directed to international application No. PCT/ (if furnishing declaration pursuant to Rule 26ter). I hereby declare that my residence, mailing address, and citizenship are as stated next to my name. I hereby state that I have reviewed and understand the contents of the above-identified international application, including the claims of said application. I have identified in the request of said application, in compliance with PCT Rule 4.10, any claim to foreign priority, and I have identified below, under the heading "Prior Applications", by application number, country or Member of the World Trade Organization, day, month, and year of filing, any application for a patent or inventor's certificate filed in a country other than the United States of America, including any PCT international application designating at least one country other than the United States of America, having a filing date before that of the application on which foreign priority is claimed.
VIII-4-1-1	Prior applications:	61/109,821, US, 30 October 2008 (30.10.2008) ; 61/242,765, US, 15 September 2009 (15.09.2009)

PCT REQUEST

Original (for SUBMISSION)

		I hereby acknowledge the duty to disclose information that is known by me to be material to patentability as defined by 37 C.F.R. § 1.56, including for continuation-in-part applications, material information which became available between the filing date of the prior application and the PCT international filing date of the continuation-in-part application. I hereby declare that all statements made herein of my own knowledge are true and that all statements made on information and belief are believed to be true; and further that these statements were made with the knowledge that willful false statements and the like so made are punishable by fine or imprisonment, or both, under Section 1001 of Title 18 of the United States Code and that such willful false statements may jeopardize the validity of the application or any patent issued thereon.
VIII-4-1-1-1	Name (LAST, First)	BOITANO, Anthony
VIII-4-1-1-2	Residence: (city and either US State, if applicable, or country)	San Diego, California
VIII-4-1-1-3	Mailing address:	13037 Cavalry Court San Diego, cA 92129 United States of America
VIII-4-1-1-4	Citizenship:	US
VIII-4-1-1-5	Inventor's Signature: (The signature must be that of the inventor, not that of the agent)	
VIII-4-1-1-6	Date:	

PCT REQUEST

Original (for SUBMISSION)

VIII-4-1-2-1	Name (LAST, First)	COOKE, Michael
VIII-4-1-2-2	Residence: (city and either US State, if applicable, or country)	San Diego, California
VIII-4-1-2-3	Mailing address:	4265 Ingleside Avenue San Diego, CA 92103 United States of America
VIII-4-1-2-4	Citizenship:	US
VIII-4-1-2-5	Inventor's Signature: (The signature must be that of the inventor, not that of the agent)	
VIII-4-1-2-6	Date	
VIII-4-1-3-1	Name (LAST, First)	PAN, Shifeng
VIII-4-1-3-2	Residence: (city and either US State, if applicable, or country)	San Diego, California
VIII-4-1-3-3	Mailing address:	13880 Kerry Lane San Diego, CA 92130 United States of America
VIII-4-1-3-4	Citizenship:	US
VIII-4-1-3-5	Inventor's Signature: (The signature must be that of the inventor, not that of the agent)	
VIII-4-1-3-6	Date	
VIII-4-1-4-1	Name (LAST, First)	SCHULTZ, Peter G.
VIII-4-1-4-2	Residence: (city and either US State, if applicable, or country)	La Jolla, California
VIII-4-1-4-3	Mailing address:	1650 La Jolla Rancho La Jolla, CA 92037 United States of America
VIII-4-1-4-4	Citizenship:	US
VIII-4-1-4-5	Inventor's Signature: (The signature must be that of the inventor, not that of the agent)	
VIII-4-1-4-6	Date	
VIII-4-1-5-1	Name (LAST, First)	TELLEW, John
VIII-4-1-5-2	Residence: (city and either US State, if applicable, or country)	La Jolla, California
VIII-4-1-5-3	Mailing address:	1340 Caminito Balada La Jolla, CA 92037 United States of America
VIII-4-1-5-4	Citizenship:	US
VIII-4-1-5-5	Inventor's Signature: (The signature must be that of the inventor, not that of the agent)	
VIII-4-1-5-6	Date	

PCT REQUEST

Original (for SUBMISSION)

VIII-4-1-6-1	Name (LAST, First)	WAN, Yongqin
VIII-4-1-6-2	Residence: (city and either US State, if applicable, or country)	Irvine, California
VIII-4-1-6-3	Mailing address:	19 Santa Eugenia Irvine, CA 92026 United States of America
VIII-4-1-6-4	Citizenship:	CN
VIII-4-1-6-5	Inventor's Signature: (The signature must be that of the inventor, not that of the agent)	
VIII-4-1-6-6	Date	
VIII-4-1-7-1	Name (LAST, First)	WANG, Xing
VIII-4-1-7-2	Residence: (city and either US State, if applicable, or country)	San Diego, California
VIII-4-1-7-3	Mailing address:	16152 Avenida Venusto, No. 4 San Diego, CA 92128 United States of America
VIII-4-1-7-4	Citizenship:	CN
VIII-4-1-7-5	Inventor's Signature: (The signature must be that of the inventor, not that of the agent)	
VIII-4-1-7-6	Date	

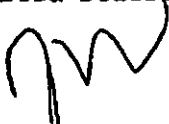
PCT REQUEST

Original (for SUBMISSION)

		I hereby acknowledge the duty to disclose information that is known by me to be material to patentability as defined by 37 C.F.R. § 1.56, including for continuation-in-part applications, material information which became available between the filing date of the prior application and the PCT international filing date of the continuation-in-part application. I hereby declare that all statements made herein of my own knowledge are true and that all statements made on information and belief are believed to be true; and further that these statements were made with the knowledge that willful false statements and the like so made are punishable by fine or imprisonment, or both, under Section 1001 of Title 18 of the United States Code and that such willful false statements may jeopardize the validity of the application or any patent issued thereon.
VIII-4-1-1-1	Name (LAST, First)	BOITANO, Anthony
VIII-4-1-1-2	Residence: (city and either US State, if applicable, or country)	San Diego, California
VIII-4-1-1-3	Mailing address:	13037 Cavalry Court San Diego, CA 92129 United States of America
VIII-4-1-1-4	Citizenship:	US <i>Anthony Boitano February 8, 2010</i>
VIII-4-1-1-5	Inventor's Signature: (The signature must be that of the inventor, not that of the agent)	
VIII-4-1-1-6	Date:	

PCT REQUEST

Original (for SUBMISSION)

VIII-4-1-2-1	Name (LAST, First)	COOKE, Michael
VIII-4-1-2-2	Residence: (city and either US State, if applicable, or country)	San Diego, California
VIII-4-1-2-3	Mailing address:	4265 Ingleside Avenue San Diego, CA 92103 United States of America
VIII-4-1-2-4	Citizenship:	US
VIII-4-1-2-5	Inventor's Signature: (The signature must be that of the inventor, not that of the agent)	
VIII-4-1-2-6	Date	Feb 17, 2010
VIII-4-1-3-1	Name (LAST, First)	PAN, Shifeng
VIII-4-1-3-2	Residence: (city and either US State, if applicable, or country)	San Diego, California
VIII-4-1-3-3	Mailing address:	13880 Kerry Lane San Diego, CA 92130 United States of America
VIII-4-1-3-4	Citizenship:	US
VIII-4-1-3-5	Inventor's Signature: (The signature must be that of the inventor, not that of the agent)	
VIII-4-1-3-6	Date	Feb 12, 2010
VIII-4-1-4-1	Name (LAST, First)	SCHULTZ, Peter G.
VIII-4-1-4-2	Residence: (city and either US State, if applicable, or country)	La Jolla, California
VIII-4-1-4-3	Mailing address:	1650 La Jolla Rancho La Jolla, CA 92037 United States of America
VIII-4-1-4-4	Citizenship:	US
VIII-4-1-4-5	Inventor's Signature: (The signature must be that of the inventor, not that of the agent)	
VIII-4-1-4-6	Date	Feb 8 2010
VIII-4-1-5-1	Name (LAST, First)	TELLEW, John
VIII-4-1-5-2	Residence: (city and either US State, if applicable, or country)	La Jolla, California
VIII-4-1-5-3	Mailing address:	1340 Caminito Balada La Jolla, CA 92037 United States of America
VIII-4-1-5-4	Citizenship:	US
VIII-4-1-5-5	Inventor's Signature: (The signature must be that of the inventor, not that of the agent)	
VIII-4-1-5-6	Date	Feb 8, 2010

PCT REQUEST

Original (for SUBMISSION)

VIII-4-1-6-1	Name (LAST, First)	WAN, Yongqin
VIII-4-1-6-2	Residence: (city and either US State, if applicable, or country)	Irvine, California
VIII-4-1-6-3	Mailing address:	19 Santa Eugenia Irvine, CA 92026 United States of America
VIII-4-1-6-4	Citizenship:	CN
VIII-4-1-6-5	Inventor's Signature: (The signature must be that of the inventor, not that of the agent)	<i>Yongqin Wan</i>
VIII-4-1-6-6	Date	Feb. 8, 10
VIII-4-1-7-1	Name (LAST, First)	WANG, Xing
VIII-4-1-7-2	Residence: (city and either US State, if applicable, or country)	San Diego, California
VIII-4-1-7-3	Mailing address:	16152 Avenida Venusto, No. 4 San Diego, CA 92128 United States of America
VIII-4-1-7-4	Citizenship:	CN
VIII-4-1-7-5	Inventor's Signature: (The signature must be that of the inventor, not that of the agent)	<i>Xing Wang</i>
VIII-4-1-7-6	Date	Feb. 11. 2010

(12) INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau



(43) International Publication Date
27 May 2010 (27.05.2010)

(10) International Publication Number
WO 2010/059401 A2

(51) International Patent Classification:

A61K 35/28 (2006.01) A61P 7/06 (2006.01)
C07D 473/34 (2006.01) A61P 37/00 (2006.01)
A61K 31/52 (2006.01) C12N 5/0789 (2010.01)
A61P 35/02 (2006.01) C12N 5/078 (2010.01)
A61P 35/00 (2006.01)

(21) International Application Number:

PCT/US2009/062646

(22) International Filing Date:

29 October 2009 (29.10.2009)

(25) Filing Language:

English

(26) Publication Language:

English

(30) Priority Data:

61/109,821 30 October 2008 (30.10.2008) US
61/242,765 15 September 2009 (15.09.2009) US

(71) Applicants (for all designated States except US): **IRM LLC** [US/—]; Hurst Holme, 12 Trott Road, Hamilton, HM 11 (BM). **THE SCRIPPS RESEARCH INSTITUTE** [US/US]; 10550 North Torrey Pines Road, La Jolla, California 92037 (US).

(72) Inventors; and

(75) Inventors/Applicants (for US only): **BOITANO, Anthony** [US/US]; 13037 Cavalry Court, San Diego, California 92129 (US). **COOKE, Michael** [US/US]; 4265 Ingleside

Avenue, San Diego, California 92103 (US). **PAN, Shifeng** [US/US]; 13880 Kerry Lane, San Diego, California 92130 (US). **SCHULTZ, Peter G.** [US/US]; 1650 La Jolla Rancho, La Jolla, California 92037 (US). **TELLEW, John** [US/US]; 1340 Caminito Balada, La Jolla, California 92037 (US). **WAN, Yongqin** [CN/US]; 19 Santa Eugenia, Irvine, California 92026 (US). **WANG, Xing** [CN/US]; 16152 Avenida Venusto, No. 4, San Diego, California 92128 (US).

(74) Agents: **REID, Scott et al.**; Genomics Institute of the Novartis, Research Foundation, 10675 John Jay Hopkins Drive, San Diego, California 92121 (US).

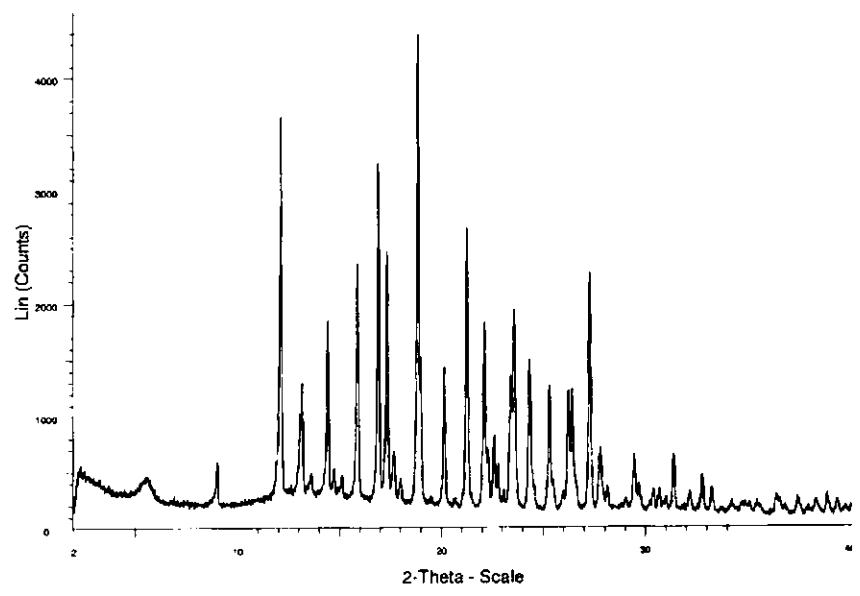
(81) Designated States (unless otherwise indicated, for every kind of national protection available): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) Designated States (unless otherwise indicated, for every kind of regional protection available): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasian (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ,

[Continued on next page]

(54) Title: COMPOUNDS THAT EXPAND HEMATOPOIETIC STEM CELLS

Fig 1 Free molecule (no salt) Example 1 PXRD



(57) Abstract: The present invention relates to compounds and compositions for expanding the number of CD34+ cells for transplantation. The invention further relates to a cell population comprising expanded hematopoietic stem cells (HSCs) and its use in autologous or allogeneic transplantation for the treatment of patients with inherited immunodeficient and autoimmune diseases and diverse hematopoietic disorders to reconstitute the hematopoietic cell lineages and immune system defense.

WO 2010/059401 A2

COMPOUNDS THAT EXPAND HEMATOPOIETIC STEM CELLS

CROSS-REFERENCED TO RELATED APPLICATIONS

[0001] This application claims the benefit of priority to U.S. Provisional Patent Application Number 61/109,821, filed 30 October 2008 and U.S. Provisional Patent Application Number 61/242,765, filed 15 September 2009. The full disclosures of these applications are incorporated herein by reference in their entirety and for all purposes.

BACKGROUND OF THE INVENTION

Field of the Invention

[0002] The present invention relates to compounds and compositions for expanding the number of CD34+ cells for transplantation. The invention further relates to a cell population comprising expanded hematopoietic stem cells (HSCs) and its use in autologous or allogeneic transplantation for the treatment of patients with inherited immunodeficient and autoimmune diseases and diverse hematopoietic disorders to reconstitute the hematopoietic cell lineages and immune system defense.

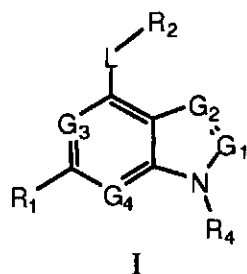
Background

[0003] Hematopoietic stem cells (HSCs) are capable of regenerating all blood products throughout the life of an individual, balancing their self-renewal with progeny differentiation. Hematopoietic stem cells have therapeutic potential as a result of their capacity to restore blood and immune cells in transplant recipients. Furthermore, HSCs have the potential to generate cells for other tissues such as brain, muscle and liver. Human autologous and allogeneic bone marrow transplantation methods are currently used as therapies for leukemia, lymphoma, and other life-threatening diseases. For these procedures, a large number of stem cells must be isolated to ensure that there are enough HSCs for engraftment. The number of HSCs available for treatment is a clinical limitation.

[0004] The present invention relates to compounds and compositions for expanding hematopoietic stem cell populations and uses thereof.

SUMMARY OF THE INVENTION

[0005] In one aspect, the present invention provides a compound of Formula I:



[0006] in which:

[0007] G₁ is selected from N and CR₃;

[0008] G₂, G₃ and G₄ are independently selected from CH and N; with the proviso that at least 1 of G₃ and G₄ is N; with the proviso that G₁ and G₂ are not both N;

[0009] L is selected from -NR_{5a}(CH₂)₀₋₃- (0-3 herein means 0, 1, 2 or 3), -NR_{5a}CH(C(O)OCH₃)CH₂-, -NR_{5a}(CH₂)₂NR_{5b}-, -NR_{5a}(CH₂)₂S-, -NR_{5a}CH₂CH(CH₃)CH₂-, -NR_{5a}CH₂CH(OH)- and -NR_{5a}CH(CH₃)CH₂-; wherein R_{5a} and R_{5b} are independently selected from hydrogen and C₁₋₄alkyl;

[0010] R₁ is selected from hydrogen, phenyl, thiophenyl, furanyl, 1H-benzimidazolyl, isoquinolinyl, 1H-imidazopyridinyl, benzothiophenyl, pyrimidinyl, 1H-pyrazolyl, pyridinyl, 1H-imidazolyl, pyrrolidinyl, pyrazinyl, pyridazinyl, 1H-pyrrolyl and thiazolyl; wherein said phenyl, thiophenyl, furanyl, 1H-benzimidazolyl, isoquinolinyl, 1H-imidazopyridinyl, benzothiophenyl, pyrimidinyl, 1H-pyrazolyl, pyridinyl, 1H-imidazolyl, pyrrolidinyl, pyrazinyl, pyridazinyl, 1H-pyrrolyl or thiazolyl of R₁ can be optionally substituted by 1 to 3 radicals independently selected from cyano, hydroxy, C₁₋₄alkyl, C₁₋₄alkoxy, halo, halo-substituted-C₁₋₄alkyl, halo-substituted-C₁₋₄alkoxy, hydroxy, amino, -C(O)R_{8a}, -S(O)₀₋₂R_{8a}, -C(O)OR_{8a} and -C(O)NR_{8a}R_{8b}; wherein R_{8a} and R_{8b} are independently selected from hydrogen and C₁₋₄alkyl; with the proviso that R₁ and R₃ are not both hydrogen;

[0011] R₂ is selected from -S(O)₂NR_{6a}R_{6b}-, -NR_{9a}C(O)R_{9b}-, -NR_{6a}C(O)NR_{6b}R_{6c}-, phenyl, 1H-pyrrolopyridin-3-yl, 1H-indolyl, thiophenyl, pyridinyl, 1H-1,2,4-triazolyl, 2-oxoimidazolidinyl, 1H-pyrazolyl, 2-oxo-2,3-dihydro-1H-benzimidazolyl and 1H-indazolyl;

wherein R_{6a} , R_{6b} and R_{6c} are independently selected from hydrogen and C_{1-4} alkyl; wherein said phenyl, 1H-pyrrolopyridin-3-yl, 1H-indolyl, thiophenyl, pyridinyl, 1H-1,2,4-triazolyl, 2-oxoimidazolidinyl, 1H-pyrazolyl, 2-oxo-2,3-dihydro-1H-benzimidazolyl or 1H-indazolyl of R_2 is optionally substituted with 1 to 3 radicals independently selected from hydroxy, halo, methyl, methoxy, amino, $-O(CH_2)_nNR_{7a}R_{7b}$, $-S(O)_2NR_{7a}R_{7b}$, $-OS(O)_2NR_{7a}R_{7b}$ and $-NR_{7a}S(O)_2R_{7b}$; wherein R_{7a} and R_{7b} are independently selected from hydrogen and C_{1-4} alkyl;

[0012] R_3 is selected from hydrogen, C_{1-4} alkyl and biphenyl; and

[0013] R_4 is selected from C_{1-10} alkyl, prop-1-en-2-yl, cyclohexyl, cyclopropyl, 2-(2-oxopyrrolidin-1-yl)ethyl, oxetan-3-yl, benzhydryl, tetrahydro-2H-pyran-3-yl, tetrahydro-2H-pyran-4-yl, phenyl, tetrahydrofuran-3-yl, benzyl, (4-pentylphenyl)(phenyl)methyl and 1-(1-(2-oxo-6,9,12-trioxa-3-azatetradecan-14-yl)-1H-1,2,3-triazol-4-yl)ethyl; wherein said alkyl, cyclopropyl, cyclohexyl, 2-(2-oxopyrrolidin-1-yl)ethyl, oxetan-3-yl, oxetan-2-yl, benzhydryl, tetrahydro-2H-pyran-2-yl, tetrahydro-2H-pyran-3-yl, tetrahydro-2H-pyran-4-yl, phenyl, tetrahydrofuran-3-yl, tetrahydrofuran-2-yl, benzyl, (4-pentylphenyl)(phenyl)methyl or 1-(1-(2-oxo-6,9,12-trioxa-3-azatetradecan-14-yl)-1H-1,2,3-triazol-4-yl)ethyl can be optionally substituted with 1 to 3 radicals independently selected from hydroxy, C_{1-4} alkyl and halo-substituted- C_{1-4} alkyl; or the N-oxide derivatives, prodrug derivatives, protected derivatives, individual isomers and mixture of isomers thereof; or the salts (preferably the pharmaceutically acceptable salts) and solvates (e.g. hydrates) of such compounds.

BRIEF DESCRIPTION OF DRAWINGS

[0014] Fig 1 discloses the PXRD pattern of solid form modification A of 4-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol.

[0015] Figs 2 to 12 disclose the PXRD patterns of solid forms of 4-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol salts, respectively the nitrate, mesylate, tosylate, hydrochloride, sulphate, besylate, esylate, hydrobromide, orotate, fumarate and napadysilate salts.

[0016] Fig 13 discloses the DSC pattern of the amorphous form of 4-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol.

DETAILED DESCRIPTION OF THE INVENTION**Definitions**

[0017] "Alkyl" as a group and as a structural element of other groups, for example halo-substituted-alkyl and alkoxy, can be either straight-chained or branched. For example, alkyl includes methyl, ethyl, propyl, isopropyl, butyl, isobutyl, sec-butyl, t-butyl, etc. C₁₋₄-alkoxy includes methoxy, ethoxy, and the like. Halo-substituted alkyl includes trifluoromethyl, pentafluoroethyl, and the like.

[0018] "Aryl" means a monocyclic or fused bicyclic aromatic ring assembly containing six to ten ring carbon atoms. For example, aryl may be phenyl or naphthyl, preferably phenyl. "Arylene" means a divalent radical derived from an aryl group.

[0019] "Heteroaryl" is as defined for aryl where one or more of the ring members are a heteroatom or moiety selected from -O-, -N=, -NR-, -C(O)-, -S-, -S(O)- or -S(O)₂-, wherein R is hydrogen, C₁₋₄alkyl or a nitrogen protecting group. For example heteroaryl includes pyridyl, indolyl, indazolyl, quinoxaliny, quinoliny, benzofuranyl, benzopyranyl, benzothiopyranyl, benzo[1,3]dioxole, imidazolyl, benzo-imidazolyl, pyrimidinyl, furanyl, oxazolyl, isoxazolyl, triazolyl, tetrazolyl, pyrazolyl, thienyl, etc.

[0020] "Cycloalkyl" means a saturated or partially unsaturated, monocyclic, fused bicyclic or bridged polycyclic ring assembly containing the number of ring atoms indicated. For example, C₃₋₁₀cycloalkyl includes cyclopropyl, cyclobutyl, cyclopentyl, cyclohexyl, etc.

"Heterocycloalkyl" means cycloalkyl, as defined in this application, provided that one or more of the ring carbons indicated, are replaced by a moiety selected from -O-, -N=, -NR-, -C(O)-, -S-, -S(O)- or -S(O)₂-, wherein R is hydrogen, C₁₋₄alkyl or a nitrogen protecting group. For example, C₃₋₈heterocycloalkyl as used in this application to describe compounds of the invention includes morpholino, pyrrolidinyl, piperazinyl, piperidinyl, piperidinylone, 2-Oxo-pyrrolidin-1-yl, 1,4-dioxa-8-aza-spiro[4.5]dec-8-yl, etc.

[0021] "Halogen" (or halo) preferably represents chloro or fluoro, but may also be bromo or iodo.

[0022] "Hematopoietic stem cells" (HSCs) as used herein refer to immature blood cells having the capacity to self-renew and to differentiate into more mature blood cells comprising granulocytes (e.g., promyelocytes, neutrophils, eosinophils, basophils), erythrocytes (e.g., reticulocytes, erythrocytes), thrombocytes (e.g., megakaryoblasts, platelet producing

megakaryocytes, platelets), and monocytes (e.g., monocytes, macrophages). HSCs are interchangeably described as stem cells throughout the specification. It is known in the art that such cells may or may not include CD34⁺ cells. CD34⁺ cells are immature cells that express the CD34 cell surface marker. CD34⁺ cells are believed to include a subpopulation of cells with the stem cell properties defined above. It is well known in the art that HSCs include pluripotent stem cells, multipotent stem cells (e.g., a lymphoid stem cell), and/or stem cells committed to specific hematopoietic lineages. The stem cells committed to specific hematopoietic lineages may be of T cell lineage, B cell lineage, dendritic cell lineage, Langerhans cell lineage and/or lymphoid tissue-specific macrophage cell lineage. In addition, HSCs also refer to long term HSC (LT-HSC) and short term HSC (ST-HSC). ST-HSCs are more active and more proliferative than LT-HSCs. However, LT-HSC have unlimited self renewal (i.e., they survive throughout adulthood), whereas ST-HSC have limited self renewal (i.e., they survive for only a limited period of time). Any of these HSCs can be used in any of the methods described herein. Optionally, ST-HSCs are useful because they are highly proliferative and thus, quickly increase the number of HSCs and their progeny. Hematopoietic stem cells are optionally obtained from blood products. A blood product includes a product obtained from the body or an organ of the body containing cells of hematopoietic origin. Such sources include un-fractionated bone marrow, umbilical cord, peripheral blood, liver, thymus, lymph and spleen. All of the aforementioned crude or un-fractionated blood products can be enriched for cells having hematopoietic stem cell characteristics in ways known to those of skill in the art.

[0023] “Treat”, “treating” and “treatment” refer to a method of alleviating or abating a disease and/or its attendant symptoms.

[0024] “Expansion” in the context of cells refers to increase in the number of a characteristic cell type, or cell types, from an initial cell population of cells, which may or may not be identical. The initial cells used for expansion may not be the same as the cells generated from expansion.

[0025] “Cell population” refers to eukaryotic mammalian, preferably human, cells isolated from biological sources, for example, blood product or tissues and derived from more than one cell.

[0026] “Enriched” when used in the context of cell population refers to a cell population selected based on the presence of one or more markers, for example, CD34⁺.

[0027] The term “CD34+ cells” refers to cells that express at their surface CD34 marker. CD34+ cells can be detected and counted using for example flow cytometry and fluorescently labeled anti-CD34 antibodies.

[0028] “Enriched in CD34+ cells” means that a cell population has been selected based on the presence of CD34 marker. Accordingly, the percentage of CD34+ cells in the cell population after selection method is higher than the percentage of CD34+ cells in the initial cell population before selecting step based on CD34 markers. For example, CD34+ cells may represent at least 50%, 60%, 70%, 80% or at least 90% of the cells in a cell population enriched in CD34+ cells.

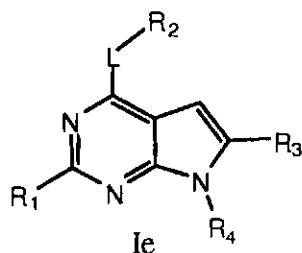
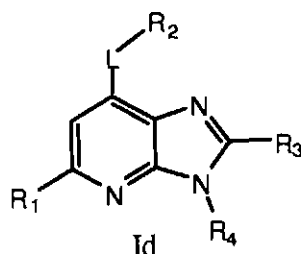
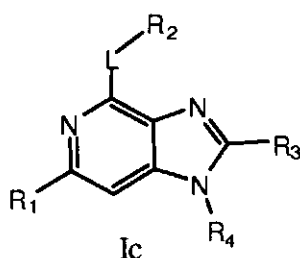
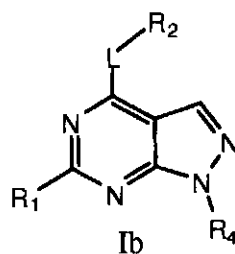
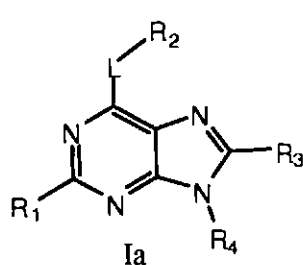
[0029] “Cord blood unit” refers to the blood collected from umbilical cord of a single birth.

Description of the Preferred Embodiments

[0030] The present invention relates to methods and compositions for expanding HSC populations using an agent capable of down-regulating the activity and/or expression of aryl hydrocarbon receptor and/or a downstream effector of aryl hydrocarbon receptor pathway.

[0031] In one embodiment, said agent capable of down-regulating the activity and/or expression of aryl hydrocarbon receptor is a compound of Formula I.

[0032] In one embodiment, with reference to compounds of Formula I, are compounds selected from Formulae Ia, Ib, Ic, Id and Ie:



[0033] in which:

[0034] L is selected from $-\text{NR}_{5a}(\text{CH}_2)_{0-3}-$, $-\text{NR}_{5a}\text{CH}(\text{C}(\text{O})\text{OCH}_3)\text{CH}_2-$, $-\text{NR}_{5a}(\text{CH}_2)_2\text{NR}_{5b}-$, $-\text{NR}_{5a}(\text{CH}_2)_2\text{S}-$, $-\text{NR}_{5a}\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2-$, $-\text{NR}_{5a}\text{CH}_2\text{CH}(\text{OH})-$ and $-\text{NR}_{5a}\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2-$; wherein R_{5a} and R_{5b} are independently selected from hydrogen and C_1 - 4 alkyl; wherein the right side of the L moiety as shown is attached to R_2 , for example: $-\text{NR}_{5a}(\text{CH}_2)_{0-3}-\text{R}_2$, $-\text{NR}_{5a}\text{CH}(\text{C}(\text{O})\text{OCH}_3)\text{CH}_2-\text{R}_2$, $-\text{NR}_{5a}(\text{CH}_2)_2\text{NR}_{5b}-\text{R}_2$, $-\text{NR}_{5a}(\text{CH}_2)_2\text{S}-\text{R}_2$, $-\text{NR}_{5a}\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2-\text{R}_2$, $-\text{NR}_{5a}\text{CH}_2\text{CH}(\text{OH})-\text{R}_2$ and $-\text{NR}_{5a}\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2-\text{R}_2$.

[0035] R_1 is selected from hydrogen, phenyl, thiophen-2-yl, thiophen-3-yl, furan-3-yl, 1H-benzo[d]imidazol-1-yl, isoquinolin-4-yl, 1H-imidazo[4,5-b]pyridin-1-yl, benzo[b]thiophen-3-yl, pyrimidin-5-yl, 1H-pyrazol-4-yl, pyridin-2-yl, pyridin-4-yl, 1H-imidazol-1-yl, pyrrolidin-1-yl, pyrazin-2-yl, pyridin-3-yl, pyridazin-4-yl, 1H-pyrrol-2-yl and thiazol-5-yl;

[0036] wherein said phenyl, thiophen-2-yl, thiophen-3-yl, furan-3-yl, 1H-benzo[d]imidazol-1-yl, isoquinolin-4-yl, 1H-imidazo[4,5-b]pyridin-1-yl, benzo[b]thiophen-3-yl, pyrimidin-5-yl, pyridin-2-yl, pyridin-4-yl, 1H-imidazol-1-yl, pyrrolidin-1-yl, pyrazin-2-yl, pyridin-3-yl, pyridazin-4-yl, 1H-pyrrol-2-yl or thiazol-5-yl of R_1 can be optionally substituted

by 1 to 3 radicals independently selected from cyano, hydroxy, C₁₋₄alkyl, C₁₋₄alkoxy, halo, halo-substituted-C₁₋₄alkyl, -S(O)_{0.2}R_{8a} and -C(O)OR_{8a}; wherein R_{8a} and R_{8b} are independently selected from hydrogen and C₁₋₄alkyl; with the proviso that R₁ and R₃ are not both hydrogen;

[0037] R₂ is selected from -NR_{6a}C(O)NR_{6b}R_{6c}, phenyl, 1H-pyrrolo[2,3-b]pyridin-3-yl, 1H-pyrrolo[2,3-b]pyridin-5-yl, 1H-indol-3-yl, thiophen-3-yl, pyridin-2-yl, pyridin-3-yl, pyridin-4-yl, 1H-1,2,4-triazol-5-yl, 2-oxoimidazolidin-1-yl, 1H-pyrazol-3-yl, 1H-pyrazol-4-yl, 2-oxo-2,3-dihydro-1H-benzo[d]imidazol-5-yl and 1H-indazol-3-yl; wherein R_{6a}, R_{6b} and R_{6c} are independently selected from hydrogen and C₁₋₄alkyl; wherein said phenyl, 1H-pyrrolo[2,3-b]pyridin-3-yl, 1H-pyrrolo[2,3-b]pyridin-5-yl, 1H-indol-3-yl, thiophen-3-yl, pyridin-2-yl, pyridin-3-yl, pyridin-4-yl, 1H-1,2,4-triazol-5-yl, 2-oxoimidazolidin-1-yl, 1H-pyrazol-3-yl, 1H-pyrazol-4-yl, 2-oxo-2,3-dihydro-1H-benzo[d]imidazol-5-yl or 1H-indazol-3-yl of R₂ is optionally substituted with 1 to 3 radicals independently selected from hydroxy, halo, methoxy, amino, -OS(O)₂NR_{7a}R_{7b} and -NR_{7a}S(O)₂R_{7b}; wherein R_{7a} and R_{7b} are independently selected from hydrogen and C₁₋₄alkyl;

[0038] R₃ is selected from hydrogen, C₁₋₄alkyl and biphenyl; and

[0039] R₄ is selected from isopropyl, methyl, ethyl, prop-1-en-2-yl, isobutyl, cyclohexyl, sec-butyl, (S)-sec-butyl, (R)-sec-butyl, 1-hydroxypropan-2-yl, (S)-1-hydroxypropan-2-yl, (R)-1-hydroxypropan-2-yl, nonan-2-yl, 2-(2-oxopyrrolidin-1-yl)ethyl, oxetan-3-yl, oxetan-2-yl, benzhydryl, tetrahydro-2H-pyran-2-yl, phenyl, tetrahydrofuran-3-yl and benzyl; wherein said cyclohexyl, 2-(2-oxopyrrolidin-1-yl)ethyl, oxetan-3-yl, oxetan-2-yl, benzhydryl, tetrahydro-2H-pyran-4-yl, phenyl, tetrahydrofuran-3-yl or benzyl can be optionally substituted with 1 to 3 radicals independently selected from C₁₋₄alkyl and halo-substituted-C₁₋₄alkyl.

[0040] In another embodiment, L is selected from -NR_{5a}(CH₂)₀₋₃-, -NR_{5a}CH(C(O)OCH₃)CH₂-, -NR_{5a}(CH₂)₂NR_{5b}-, -NR_{5a}(CH₂)₂S-, -NR_{5a}CH₂CH(CH₃)CH₂-, -NR_{5a}CH(CH₃)CH₂- and -NR_{5a}CH₂CH(OH)-; wherein R_{5a} and R_{5b} are independently selected from hydrogen and methyl; and R₁ is selected from hydrogen, phenyl, thiophen-2-yl, thiophen-3-yl, furan-3-yl, 1H-benzo[d]imidazol-1-yl, isoquinolin-4-yl, 1H-imidazo[4,5-b]pyridin-1-yl, benzo[b]thiophen-3-yl, pyrimidin-5-yl, 1H-pyrazol-4-yl, pyridin-2-yl, pyridin-4-yl, 1H-imidazol-1-yl, pyrrolidin-1-yl, pyrazin-2-yl, pyridin-3-yl, pyridazin-4-yl, 1H-pyrrol-2-yl and thiazol-5-yl; wherein said phenyl, thiophen-2-yl, thiophen-3-yl, furan-3-yl, 1H-benzo[d]imidazol-1-yl, isoquinolin-4-yl, 1H-imidazo[4,5-b]pyridin-1-yl, benzo[b]thiophen-3-yl, pyrimidin-5-yl,

pyridiny-2-yl, pyridin-4-yl, 1H-imidazol-1-yl, pyrrolidin-1-yl, pyrazin-2-yl, pyridiny-3-yl, pyridazin-4-yl, 1H-pyrrol-2-yl or thiazol-5-yl of R_1 can be optionally substituted by 1 to 3 radicals independently selected from cyano, hydroxy, C_{1-4} alkyl, C_{1-4} alkoxy, halo, halo-substituted- C_{1-4} alkyl, $-S(O)_{0-2}R_{8a}$ and $-C(O)OR_{8a}$; wherein R_{8a} and R_{8b} are independently selected from hydrogen and C_{1-4} alkyl; with the proviso that R_1 and R_3 are not both hydrogen.

[0041] In another embodiment, when L is $-NR_{5a}(CH_2)_{0-3}$, it is preferably $-NR_{5a}(CH_2)_{1-3}$ (where 1-3 herein 1, 2 or 3).

[0042] In another embodiment, R_2 is selected from urea, phenyl, 1H-indol-2-yl, 1H-indol-3-yl, thiophen-3-yl, piperidin-1-yl, pyridin-2-yl, pyridin-3-yl, pyridin-4-yl, 1H-1,2,4-triazol-3-yl, 1H-1,2,4-triazol-5-yl, 2-oxoimidazolidin-1-yl, 1H-pyrazol-3-yl, 1H-pyrazol-4-yl, 2-oxo-2,3-dihydro-1H-benzo[d]imidazol-5-yl, 1H-benzo[d]imidazol-5-yl and 1H-imidazol-4-yl; wherein said phenyl, 1H-indol-2-yl, 1H-indol-3-yl, thiophen-3-yl, piperidin-1-yl, pyridin-2-yl, pyridin-3-yl, pyridin-4-yl, 1H-1,2,4-triazol-3-yl, 1H-1,2,4-triazol-5-yl, 2-oxoimidazolidin-1-yl, 1H-pyrazol-3-yl, 1H-pyrazol-4-yl, 2-oxo-2,3-dihydro-1H-benzo[d]imidazol-5-yl or 1H-benzo[d]imidazol-5-yl of R_2 is optionally substituted with hydroxy, methoxy, methyl, halo, amino and amino-sulfonyl.

[0043] In another embodiment, R_3 is selected from hydrogen, methyl and biphenyl; and R_4 is selected from isopropyl, methyl, ethyl, prop-1-en-2-yl, isobutyl, cyclohexyl, sec-butyl, (S)-sec-butyl, (R)-sec-butyl, 1-hydroxypropan-2-yl, (S)-1-hydroxypropan-2-yl, (R)-1-hydroxypropan-2-yl, nonan-2-yl, 2-(2-oxopyrrolidin-1-yl)ethyl, oxetan-3-yl, oxetan-2-yl, benzhydryl, tetrahydro-2H-pyran-2-yl, phenyl, tetrahydrofuran-3-yl and benzyl; wherein said cyclohexyl, 2-(2-oxopyrrolidin-1-yl)ethyl, oxetan-3-yl, oxetan-2-yl, benzhydryl, tetrahydro-2H-pyran-4-yl, phenyl, tetrahydrofuran-3-yl or benzyl can be optionally substituted with 1 to 3 radicals independently selected from methyl and trifluoromethyl.

[0044] In another embodiment are compounds selected from: 4-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-sec-butyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(9-benzhydryl-2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-(tetrahydro-2H-pyran-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(9-isopropyl-2-(thiophen-2-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-(4-(trifluoromethyl)benzyl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-

9-isobutyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-methyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-(4-methylbenzyl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; N-(2-(1H-indol-3-yl)ethyl)-2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-amine; 2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-isopropyl-N-(2-(thiophen-3-yl)ethyl)-9H-purin-6-amine; 3-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-N-(4-fluorophenethyl)-9-isopropyl-9H-purin-6-amine; N-(4-aminophenethyl)-2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-amine; 4-(2-(9-isopropyl-2-(pyrimidin-5-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(9-isopropyl-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(9-isopropyl-2-phenyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(9-isopropyl-2-(thiophen-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(2-(furan-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-N-(4-fluorophenethyl)-9-phenyl-9H-purin-6-amine; N-benzyl-8-(biphenyl-4-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-amine; 4-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-(nonan-2-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; N-(2-(1H-indol-3-yl)ethyl)-2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-sec-butyl-9H-purin-6-amine; 3-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)-1H-indol-5-yl 5-((3aS,4S,6aR)-2-oxohexahydro-1H-thieno[3,4-d]imidazol-4-yl)pentanoate; N-(2-(2-(2-(4-(1-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-6-(4-hydroxyphenethylamino)-9H-purin-9-yl)ethyl)-1H-1,2,3-triazol-1-yl)ethoxy)ethoxy)ethyl)acetamide; 4-(2-(9-isopropyl-2-(pyridin-4-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; ethyl 5-(6-(4-hydroxyphenethylamino)-9-isopropyl-9H-purin-2-yl)nicotinate; ethyl 5-(6-(4-hydroxyphenethylamino)-9-isopropyl-9H-purin-2-yl)nicotinate; 4-(2-(2-(6-fluoropyridin-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(9-isopropyl-2-(4-methylpyridin-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 5-(6-(4-hydroxyphenethylamino)-9-isopropyl-9H-purin-2-yl)nicotinonitrile; 4-(2-(9-isopropyl-2-(pyrrolidin-1-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(2-(1H-imidazol-1-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(9-isopropyl-2-(pyridazin-4-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(9-isopropyl-2-(pyrazin-2-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(9-isopropyl-2-(pyridin-2-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(9-isopropyl-2-(5-(methylsulfonyl)pyridin-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(9-isopropyl-2-(5-methylpyridin-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(2-(4-chloropyridin-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(2-(5-fluoropyridin-3-yl)-9-isopropyl-9H-

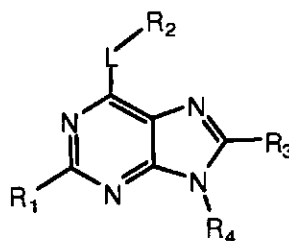
purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(9-isopropyl-2-(1-methyl-1H-pyrazol-4-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(9-isopropyl-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)-2-methoxyphenol; 4-(2-(9-isopropyl-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)-2-methoxyphenol; N-[2-(6-methoxy-1H-indol-3-yl)ethyl]-9-(propan-2-yl)-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-amine; N-[2-(5-methyl-1H-indol-3-yl)ethyl]-9-(propan-2-yl)-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-amine; 1-(2-([9-(propan-2-yl)-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-yl]amino)ethyl)imidazolidin-2-one; N-(2-([9-(propan-2-yl)-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-yl]amino)ethyl)pyridin-2-amine; 9-(propan-2-yl)-N-[3-(1H-pyrazol-4-yl)propyl]-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-amine; N-{2-[(3-methyl-1H-1,2,4-triazol-5-yl)sulfanyl]ethyl}-9-(propan-2-yl)-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-amine; 1-(2-([2-(1-benzothiophen-3-yl)-9-(propan-2-yl)-9H-purin-6-yl]amino)ethyl)imidazolidin-2-one; N-[2-(5-amino-1H-1,2,4-triazol-3-yl)ethyl]-2-(1-benzothiophen-3-yl)-9-(propan-2-yl)-9H-purin-6-amine; N-(2-([2-(1-benzothiophen-3-yl)-9-(propan-2-yl)-9H-purin-6-yl]amino)ethyl)pyridin-2-amine; 2-(1-benzothiophen-3-yl)-9-(propan-2-yl)-N-[3-(1H-pyrazol-4-yl)propyl]-9H-purin-6-amine; 2-(1-benzothiophen-3-yl)-N-[3-(3,5-dimethyl-1H-pyrazol-4-yl)propyl]-9-(propan-2-yl)-9H-purin-6-amine; (2-([2-(1-benzothiophen-3-yl)-9-(propan-2-yl)-9H-purin-6-yl]amino)ethyl)urea; 5-([2-(1-benzothiophen-3-yl)-9-(propan-2-yl)-9H-purin-6-yl]amino)methyl)-2,3-dihydro-1H-1,3-benzodiazol-2-one; N-[2-(1H-indol-3-yl)ethyl]-9-(propan-2-yl)-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-amine; N-(4-(2-(9-isopropyl-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenyl)methanesulfonamide; 4-(2-(2-(pyridin-3-yl)-9-(tetrahydrofuran-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(9-isopropyl-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)propyl)phenol; 4-(2-(9-(oxetan-3-yl)-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 5-(6-(4-hydroxyphenethylamino)-9-isopropyl-9H-purin-2-yl)-N-methylnicotinamide; 4-(2-(9-(1-hydroxypropan-2-yl)-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(9-isopropyl-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenyl sulfamate; 4-(2-(2-(2-fluoropyridin-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(9-isopropyl-2-(1-methyl-1H-pyrrol-2-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(9-isopropyl-2-(thiazol-5-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(2-(1H-benzo[d]imidazol-1-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(2-(2,4-dimethyl-1H-imidazol-1-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(9-isopropyl-2-(2-methyl-1H-imidazol-1-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 5-(9-sec-butyl-6-(4-hydroxy-3-

methylphenethylamino)-9H-purin-2-yl)nicotinonitrile; N-(2-(1H-pyrrolo[2,3-b]pyridin-5-yl)ethyl)-9-isopropyl-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-amine; 9-isopropyl-N-(2-(5-methyl-1H-pyrazol-3-yl)ethyl)-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-amine; 4-(2-(2-(5-fluoropyridin-3-yl)-9-(oxetan-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(2-(5-chloropyridin-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(9-isopropyl-2-(5-(trifluoromethyl)pyridin-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 5-(6-(2-(1H-indol-3-yl)ethylamino)-9-sec-butyl-9H-purin-2-yl)nicotinonitrile; N-(2-(1H-indol-3-yl)ethyl)-9-sec-butyl-2-(5-methylpyridin-3-yl)-9H-purin-6-amine; (R)-N-(2-(1H-indol-3-yl)ethyl)-9-sec-butyl-2-(5-fluoropyridin-3-yl)-9H-purin-6-amine; (S)-N-(2-(1H-indol-3-yl)ethyl)-9-sec-butyl-2-(5-fluoropyridin-3-yl)-9H-purin-6-amine; N-(2-(1H-indol-3-yl)ethyl)-9-sec-butyl-2-(5-fluoropyridin-3-yl)-9H-purin-6-amine; (R)-N-(2-(1H-indol-3-yl)ethyl)-9-sec-butyl-2-(5-methylpyridin-3-yl)-9H-purin-6-amine; (S)-N-(2-(1H-indol-3-yl)ethyl)-9-sec-butyl-2-(5-methylpyridin-3-yl)-9H-purin-6-amine; 5-(6-(4-hydroxyphenethylamino)-9-(oxetan-3-yl)-9H-purin-2-yl)nicotinonitrile; 4-(2-(6-(5-fluoropyridin-3-yl)-1-isopropyl-1H-pyrazolo[3,4-d]pyrimidin-4-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(6-(benzo[b]thiophen-3-yl)-1-isopropyl-1H-pyrazolo[3,4-d]pyrimidin-4-ylamino)ethyl)phenol; (R)-4-(2-(2-(5-fluoropyridin-3-yl)-9-(tetrahydrofuran-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(9-isopropyl-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)-3-methylphenol; 5-(6-(4-hydroxyphenethylamino)-9-isopropyl-9H-purin-2-yl)picolinonitrile; 3-(6-(4-hydroxyphenethylamino)-9-isopropyl-9H-purin-2-yl)isonicotinonitrile; 4-(2-(2-(5-fluoropyridin-3-yl)-7-isopropyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-4-ylamino)ethyl)phenol; 3-(6-(4-hydroxyphenethylamino)-9-isopropyl-9H-purin-2-yl)picolinonitrile; 4-(2-(9-isopropyl-2-(6-methylpyridin-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(9-isopropyl-2-(isoquinolin-4-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 2-chloro-4-(2-(9-isopropyl-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 3-fluoro-4-(2-(9-isopropyl-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; N-(2-(5-chloro-1H-indol-3-yl)ethyl)-9-isopropyl-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-amine; N-(2-(5-fluoro-1H-indol-3-yl)ethyl)-9-isopropyl-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-amine; 4-(2-(9-isopropyl-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)-2-methylphenol; 4-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-(oxetan-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; (S)-4-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-(tetrahydrofuran-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; (R)-4-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-(tetrahydrofuran-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 2-(6-(2-(1H-indol-3-yl)ethylamino)-2-(5-fluoropyridin-3-yl)-9H-purin-9-yl)propan-1-ol;

(R)-2-(6-(2-(1H-indol-3-yl)ethylamino)-2-(5-fluoropyridin-3-yl)-9H-purin-9-yl)propan-1-ol;
 (S)-2-(6-(2-(1H-indol-3-yl)ethylamino)-2-(5-fluoropyridin-3-yl)-9H-purin-9-yl)propan-1-ol;
 (R)-N-(2-(1H-indol-3-yl)ethyl)-2-(5-fluoropyridin-3-yl)-9-(tetrahydrofuran-3-yl)-9H-purin-6-amine; 4-(2-(2-(3H-imidazo[4,5-b]pyridin-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(2-(1H-imidazo[4,5-b]pyridin-1-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(6-(5-fluoropyridin-3-yl)-1-isopropyl-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-4-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(2-(4,5-dimethyl-1H-imidazol-1-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 2-(5-fluoropyridin-3-yl)-9-isopropyl-N-(2-(pyridin-3-yl)ethyl)-9H-purin-6-amine; 4-(2-(2-(5-fluoropyridin-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)-1-hydroxyethyl)phenol; 2-(5-fluoropyridin-3-yl)-9-isopropyl-N-(2-(6-methoxy-1H-indol-3-yl)ethyl)-9H-purin-6-amine; N-(2-(1H-indol-3-yl)ethyl)-2-(5-fluoropyridin-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-amine; 2-(5-fluoropyridin-3-yl)-9-isopropyl-N-(2-(5-methoxy-1H-indol-3-yl)ethyl)-9H-purin-6-amine; N-(2-(1H-indol-3-yl)ethyl)-2-(5-fluoropyridin-3-yl)-9-(prop-1-en-2-yl)-9H-purin-6-amine; 5-(2-(2-(5-fluoropyridin-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)pyridin-2-ol; N-(2-(1H-pyrrolo[2,3-b]pyridin-3-yl)ethyl)-2-(5-fluoropyridin-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-amine; N-(2-(6-(2-(diethylamino)ethoxy)-1H-indol-3-yl)ethyl)-2-(5-fluoropyridin-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-amine; 4-(2-(5-(5-fluoropyridin-3-yl)-3-isopropyl-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-7-ylamino)ethyl)phenol; N-(2-(1H-indol-3-yl)ethyl)-9-sec-butyl-2-(2-methyl-1H-imidazol-1-yl)-9H-purin-6-amine; 4-(2-(2-(2-ethyl-1H-imidazol-1-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(9-isopropyl-2-(2-propyl-1H-imidazol-1-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 3-(2-(2-(5-fluoropyridin-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)-1H-indol-6-ol; N-(2-(1H-indol-3-yl)ethyl)-9-isopropyl-2-(5-methylpyridin-3-yl)-9H-purin-6-amine; N-(2-(1H-indol-3-yl)ethyl)-9-isopropyl-2-(2-methyl-1H-imidazol-1-yl)-9H-purin-6-amine; 2-(5-fluoropyridin-3-yl)-9-isopropyl-N-(2-(7-methyl-1H-indol-3-yl)ethyl)-9H-purin-6-amine; N-(2-(1H-indol-3-yl)ethyl)-2-(5-fluoropyridin-3-yl)-9-(oxetan-3-yl)-9H-purin-6-amine; N-(2-(1H-indol-3-yl)ethyl)-2-(5-methylpyridin-3-yl)-9-(oxetan-3-yl)-9H-purin-6-amine; N-(2-(6-fluoro-1H-indol-3-yl)ethyl)-2-(5-fluoropyridin-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-amine; 2-(5-fluoropyridin-3-yl)-9-isopropyl-N-(2-(6-methyl-1H-indol-3-yl)ethyl)-9H-purin-6-amine; 2-(5-fluoropyridin-3-yl)-9-isopropyl-N-(2-(2-methyl-1H-indol-3-yl)ethyl)-9H-purin-6-amine; N-(2-(4-fluoro-1H-indol-3-yl)ethyl)-2-(5-fluoropyridin-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-amine;

N-(2-(7-fluoro-1H-indol-3-yl)ethyl)-2-(5-fluoropyridin-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-amine; 2-(5-fluoropyridin-3-yl)-9-isopropyl-N-(2-(4-methyl-1H-indol-3-yl)ethyl)-9H-purin-6-amine; 4-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-7-isopropyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-4-ylamino)ethyl)phenol; 9-isopropyl-2-(pyridin-3-yl)-N-(2-(pyridin-4-yl)ethyl)-9H-purin-6-amine; N-(2-(1H-pyrrolo[2,3-b]pyridin-5-yl)ethyl)-9-isopropyl-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-amine; 4-(2-(2-(5-fluoropyridin-3-yl)-9-(1-hydroxypropan-2-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)-2-methylphenol; 4-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-cyclohexyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(9-isopropyl-2-(thiophen-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; and 1-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-6-(4-hydroxyphenethylamino)-9H-purin-9-yl)ethyl)pyrrolidin-2-one. Compounds of Formula I are detailed in the Examples and Table I, *infra*.

[0045] In another embodiment are compounds of Formula Ia:



[0046] in which:

[0047] L is selected from $-\text{NR}_{5a}(\text{CH}_2)_{0-3}-$, $-\text{NR}_{5a}\text{CH}(\text{C}(\text{O})\text{OCH}_3)\text{CH}_2-$, $-\text{NR}_{5a}(\text{CH}_2)_2\text{NR}_{5b}-$, $-\text{NR}_{5a}(\text{CH}_2)_2\text{S}-$, $-\text{NR}_{5a}\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2-$, $-\text{NR}_{5a}\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2-$, $-(\text{CH}_2)_3-$, $-\text{CH}_2\text{OCH}_2-$, $-\text{CH}_2\text{NR}_{5a}\text{CH}_2-$, $-\text{NR}_{5a}\text{C}(\text{O})\text{CH}_2-$ and $-\text{NR}_{5a}\text{Y}-$; wherein R_{5a} and R_{5b} are independently selected from hydrogen and C_{1-4} alkyl; and Y is a 5 member heteroaryl ring containing up to 3 heteroatoms selected from O, N and S;

[0048] R_1 is selected from hydrogen, phenyl, thiophen-2-yl, thiophen-3-yl, furan-2-yl, furan-3-yl, benzo[b]thiophen-2-yl, benzo[b]thiophen-3-yl, benzofuran-2-yl, benzofuran-3-yl, pyrimidin-4-yl, pyrimidin-5-yl, 1H-pyrazol-4-yl, 1H-pyrazol-3-yl, pyridin-2-yl, pyridazin-3-yl, pyridin-4-yl, 1H-imidazol-1-yl, pyrrolidin-1-yl, pyrazin-2-yl, pyridin-3-yl, 1H-pyrazol-1-yl, pyridazin-4-yl, 1H-indol-2-yl, thiazol-4-yl, 1H-indol-3-yl, 1H-pyrrol-2-yl and thiazol-5-yl; wherein said phenyl, thiophen-2-yl, thiophen-3-yl, furan-2-yl, furan-3-yl, benzo[b]thiophen-2-yl, benzo[b]thiophen-3-yl, benzofuran-2-yl, benzofuran-3-yl, pyrimidin-4-yl, pyrimidin-5-yl, 1H-pyrazol-4-yl, 1H-pyrazol-3-yl, pyridin-2-yl, pyridazin-3-yl, pyridin-4-yl, 1H-imidazol-1-yl,

pyrrolidin-1-yl, pyrazin-2-yl, pyridiny-3-yl, 1H-pyrazol-1-yl, pyridazin-4-yl, 1H-indol-2-yl, thiazol-4-yl, 1H-indol-3-yl, 1H-pyrrol-2-yl or thiazol-5-yl of R_1 can be optionally substituted by 1 to 3 radicals independently selected from cyano, hydroxy, C_{1-4} alkyl, C_{1-4} alkoxy, halo, halo-substituted- C_{1-4} alkyl, halo-substituted- C_{1-4} alkoxy, hydroxy, amino, $-C(O)R_{8a}$, $-S(O)_{0-2}R_{8a}$, $-C(O)OR_{8a}$ and $-C(O)NR_{8a}R_{8b}$; wherein R_{8a} and R_{8b} are independently selected from hydrogen and C_{1-4} alkyl; with the proviso that R_1 and R_3 are not both hydrogen;

[0049] R_2 is selected from $-S(O)_2NR_{6a}R_{6b}$, $-NR_{9a}C(O)R_{9b}$, $-NR_{6a}C(O)NR_{6b}R_{6c}$, phenyl, 1H-indol-2-yl, 1H-indol-3-yl, benzo[b]thiophen-2-yl, benzo[b]thiophen-3-yl, benzofuran-2-yl, benzofuran-3-yl, thiophen-2-yl, thiophen-3-yl, furan-2-yl, furan-3-yl, piperidin-4-yl, piperidin-3-yl, piperidin-2-yl, piperidin-1-yl, pyridin-2-yl, pyridin-3-yl, pyridin-4-yl, 1H-1,2,4-triazol-3-yl, 1H-1,2,4-triazol-5-yl, 2-oxoimidazolidin-1-yl, 1H-pyrazol-3-yl, 1H-pyrazol-4-yl, 3-oxopiperazin-1-yl, 2-oxo-2,3-dihydro-1H-benzo[d]imidazol-5-yl, 1,2,3,4-tetrahydronaphthalen-2-yl, indolin-5-yl, 2-oxoindolin-5-yl, 1H-benzo[d]imidazol-5-yl, 1H-indazol-5-yl and 1H-imidazol-4-yl; wherein R_{6a} , R_{6b} and R_{6c} are independently selected from hydrogen and C_{1-4} alkyl; wherein said phenyl, 1H-indol-2-yl, 1H-indol-3-yl, benzo[b]thiophen-2-yl, benzo[b]thiophen-3-yl, benzofuran-2-yl, benzofuran-3-yl, thiophen-2-yl, thiophen-3-yl or furan-2-yl, furan-3-yl, piperidin-4-yl, piperidin-3-yl, piperidin-2-yl, piperidin-1-yl, pyridin-2-yl, pyridin-3-yl, pyridin-4-yl, 1H-1,2,4-triazol-3-yl, 1H-1,2,4-triazol-5-yl, 2-oxoimidazolidin-1-yl, 1H-pyrazol-3-yl, 3-oxopiperazin-1-yl, 2-oxo-2,3-dihydro-1H-benzo[d]imidazol-5-yl, 1,2,3,4-tetrahydronaphthalen-2-yl, indolin-5-yl, 2-oxoindolin-5-yl, 1H-benzo[d]imidazol-5-yl, 1H-indazol-5-yl or 1H-imidazol-4-yl of R_2 is optionally substituted with 1 to 3 radicals independently selected from hydroxy, halo, methyl, methoxy, amino, $-S(O)_2NR_{7a}R_{7b}$, $-OS(O)_2NR_{7a}R_{7b}$ and $-NR_{7a}S(O)_2R_{7b}$; wherein R_{7a} and R_{7b} are independently selected from hydrogen and C_{1-4} alkyl; or a single radical selected from 5-((3aS,4S,6aR)-2-oxohexahydro-1H-thieno[3,4-d]imidazol-4-yl)pentanoyloxy, 2-(2-(5-((3aS,4S,6aR)-2-oxohexahydro-1H-thieno[3,4-d]imidazol-4-yl)pentanamido)ethoxy)ethoxy and 2-(4-(4-hex-5-ynamidobenzoyl)phenylamino)-2-oxoethoxy;

[0050] R_3 is selected from hydrogen, C_{1-4} alkyl and biphenyl; and

[0051] R_4 is selected from isopropyl, isobutyl, sec-butyl, 1-hydroxypropan-2-yl, cyclopropyl, oxetan-3-yl, oxetan-2-yl, benzhydryl, piperidin-4-yl, piperidin-3-yl, piperidin-2-yl, tetrahydro-2H-pyran-2-yl, tetrahydro-2H-pyran-3-yl, tetrahydro-2H-pyran-4-yl, phenyl,

tetrahydrofuran-3-yl, tetrahydrofuran-2-yl, benzyl, (4-pentylphenyl)(phenyl)methyl and 1-(1-(2-oxo-6,9,12-trioxa-3-azatetradecan-14-yl)-1H-1,2,3-triazol-4-yl)ethyl; wherein said cyclopropyl, oxetan-3-yl, oxetan-2-yl, benzhydryl, piperidin-4-yl, piperidin-3-yl, piperidin-2-yl, tetrahydro-2H-pyran-2-yl, tetrahydro-2H-pyran-3-yl, tetrahydro-2H-pyran-4-yl, phenyl, tetrahydrofuran-3-yl, tetrahydrofuran-2-yl, benzyl, (4-pentylphenyl)(phenyl)methyl or 1-(1-(2-oxo-6,9,12-trioxa-3-azatetradecan-14-yl)-1H-1,2,3-triazol-4-yl)ethyl can be optionally substituted with 1 to 3 radicals independently selected from C₁₋₄alkyl and halo-substituted-C₁₋₄alkyl; or the N-oxide derivatives, prodrug derivatives, protected derivatives, individual isomers and mixture of isomers thereof; or the pharmaceutically acceptable salts and solvates (e.g. hydrates) of such compounds.

[0052] In a further embodiment, with reference to compounds of Formula Ia, L is selected from $-NR_{5a}(CH_2)_{0-3}-$, $-NR_{5a}CH(C(O)OCH_3)CH_2-$, $-NR_{5a}(CH_2)_2NR_{5b}-$, $-NR_{5a}(CH_2)_2S-$, $-NR_{5a}CH_2CH(CH_3)CH_2-$, $-NR_{5a}CH(CH_3)CH_2-$, $-(CH_2)_3-$, $-CH_2OCH_2-$, $-CH_2NR_{5a}CH_2-$, $-NR_{5a}C(O)CH_2-$ and $-NR_{5a}Y-$; wherein R_{5a} and R_{5b} are independently selected from hydrogen and methyl; Y is selected from isoxazole and 1,3,4-oxadiazole.

[0053] In another embodiment, when L is $-NR_{5a}(CH_2)_{0-3}$, it is preferably $-NR_{5a}(CH_2)_{1-3}$ (where 1-3 herein means 1, 2 or 3).

[0054] In another embodiment, R₁ is selected from hydrogen, phenyl, thiophen-3-yl, thiophen-2-yl, furan-3-yl, furan-2-yl, benzo[b]thiophen-3-yl, pyrimidin-5-yl, pyridin-4-yl, pyridin-2-yl, pyrrolidin-1-yl, 1H-pyrazol-4-yl, pyrazin-2-yl, pyridazin-3-yl, pyridazin-4-yl, 1H-pyrazol-1-yl, 1H-pyrazol-3-yl, 1H-imidazol-1-yl, thiazol-4-yl, 1H-pyrrol-2-yl, thiazol-5-yl, and pyridin-3-yl; wherein said phenyl, thiophen-3-yl, thiophen-2-yl, furan-3-yl, furan-2-yl, benzo[b]thiophen-3-yl, pyrimidin-5-yl, pyridin-4-yl, pyridin-2-yl, pyrrolidin-1-yl, 1H-pyrazol-4-yl, pyrazin-2-yl, pyridazin-3-yl, pyridazin-4-yl, 1H-pyrazol-1-yl, 1H-pyrazol-3-yl, 1H-imidazol-1-yl, thiazol-4-yl, 1H-pyrrol-2-yl, thiazol-5-yl or pyridin-3-yl of R₁ is optionally substituted with 1 to 3 radicals independently selected from cyano, methyl, methyl-sulfonyl, methoxy, halo, hydroxy, carboxyl, ethoxy-carbonyl, methyl-amino-carbonyl and amino; with the proviso that R₁ and R₃ are not both hydrogen.

[0055] In another embodiment, R₂ is selected from amino-sulfonyl, methyl-carbonyl-amino, methyl-sulfonyl-amino, amino-sulfonyl-oxy, urea, phenyl, 1H-indol-2-yl, 1H-indol-3-yl, benzo[b]thiophen-2-yl, benzo[b]thiophen-3-yl, benzofuran-2-yl, benzofuran-3-yl, thiophen-2-yl, thiophen-3-yl, furan-2-yl, furan-3-yl, piperidin-4-yl, piperidin-3-yl, piperidin-2-yl, piperidin-1-

yl, pyridin-2-yl, pyridin-3-yl, pyridin-4-yl, 1H-1,2,4-triazol-3-yl, 1H-1,2,4-triazol-5-yl, 2-oxoimidazolidin-1-yl, 1H-pyrazol-3-yl, 1H-pyrazol-4-yl, 3-oxopiperazin-1-yl, 2-oxo-2,3-dihydro-1H-benzo[d]imidazol-5-yl, 1,2,3,4-tetrahydronaphthalen-2-yl, indolin-5-yl, 2-oxoindolin-5-yl, 1H-benzo[d]imidazol-5-yl, 1H-indazol-5-yl and 1H-imidazol-4-yl; wherein said phenyl, 1H-indol-2-yl, 1H-indol-3-yl, benzo[b]thiophen-2-yl, benzo[b]thiophen-3-yl, benzofuran-2-yl, benzofuran-3-yl, thiophen-2-yl, thiophen-3-yl, furan-2-yl, furan-3-yl, piperidin-4-yl, piperidin-3-yl, piperidin-2-yl, piperidin-1-yl, pyridin-2-yl, pyridin-3-yl, pyridin-4-yl, 1H-1,2,4-triazol-3-yl, 1H-1,2,4-triazol-5-yl, 2-oxoimidazolidin-1-yl, 1H-pyrazol-3-yl, 1H-pyrazol-4-yl, 3-oxopiperazin-1-yl, 2-oxo-2,3-dihydro-1H-benzo[d]imidazol-5-yl, 1,2,3,4-tetrahydronaphthalen-2-yl, indolin-5-yl, 2-oxoindolin-5-yl, 1H-benzo[d]imidazol-5-yl, 1H-indazol-5-yl and 1H-imidazol-4-yl of R₂ is optionally substituted with hydroxy, methoxy, methyl, halo, amino, amino-sulfonyl, 5-((3aS,4S,6aR)-2-oxohexahydro-1H-thieno[3,4-d]imidazol-4-yl)pentanoyloxy, 2-(2-(5-((3aS,4S,6aR)-2-oxohexahydro-1H-thieno[3,4-d]imidazol-4-yl)pentanamido)ethoxy)ethoxy and 2-(4-(4-hex-5-ynamidobenzoyl)phenylamino)-2-oxoethoxy.

[0056] In another embodiment, R₃ is selected from hydrogen, methyl, and biphenyl; and R₄ is selected from isopropyl, isobutyl, sec-butyl, 1-hydroxypropan-2-yl, cyclopropyl, oxetan-3-yl, oxetan-2-yl, benzhydryl, piperidin-4-yl, piperidin-3-yl, piperidin-2-yl, tetrahydro-2H-pyran-2-yl, tetrahydro-2H-pyran-3-yl, tetrahydro-2H-pyran-4-yl, phenyl, tetrahydrofuran-3-yl, tetrahydrofuran-2-yl, benzyl, (4-pentylphenyl)(phenyl)methyl and 1-(1-(2-oxo-6,9,12-trioxa-3-azatetradecan-14-yl)-1H-1,2,3-triazol-4-yl)ethyl; wherein said cyclopropyl, oxetan-3-yl, oxetan-2-yl, benzhydryl, piperidin-4-yl, piperidin-3-yl, piperidin-2-yl, tetrahydro-2H-pyran-2-yl, tetrahydro-2H-pyran-3-yl, tetrahydro-2H-pyran-4-yl, phenyl, tetrahydrofuran-3-yl, tetrahydrofuran-2-yl, benzyl, (4-pentylphenyl)(phenyl)methyl or 1-(1-(2-oxo-6,9,12-trioxa-3-azatetradecan-14-yl)-1H-1,2,3-triazol-4-yl)ethyl can be optionally substituted with 1 to 3 radicals independently selected from methyl and trifluoromethyl.

[0057] In another embodiment are compounds selected from: 4-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-sec-butyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(9-benzhydryl-2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-(tetrahydro-2H-pyran-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-

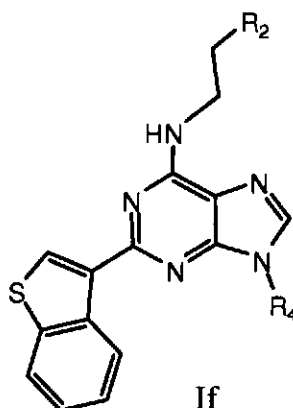
9-(4-(trifluoromethyl)benzyl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-isobutyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-methyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-(4-methylbenzyl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; N-(2-(1H-indol-3-yl)ethyl)-2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-amine; 2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-isopropyl-N-(2-(thiophen-3-yl)ethyl)-9H-purin-6-amine; 3-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-N-(4-fluorophenethyl)-9-isopropyl-9H-purin-6-amine; N-(4-aminophenethyl)-2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-amine; 4-(2-(9-isopropyl-2-(pyrimidin-5-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(9-isopropyl-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(9-isopropyl-2-phenyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(9-isopropyl-2-(thiophen-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(2-(furan-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-N-(4-fluorophenethyl)-9-phenyl-9H-purin-6-amine; N-benzyl-8-(biphenyl-4-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-amine; 4-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-(nonan-2-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-((4-pentylphenyl)(phenyl)methyl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; N-(2-(1H-indol-3-yl)ethyl)-2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-sec-butyl-9H-purin-6-amine; 4-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-sec-butyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 3-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)-1H-indol-5-ol; 3-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)-1H-indol-5-yl 5-((3aS,4S,6aR)-2-oxohexahydro-1H-thieno[3,4-d]imidazol-4-yl)pentanoate; N-(2-(2-(3-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)-1H-indol-5-yloxy)ethoxy)ethyl)-5-((3aS,4S,6aR)-2-oxohexahydro-1H-thieno[3,4-d]imidazol-4-yl)pentanamide; N-(4-(4-(2-(3-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)-1H-indol-5-yloxy)acetamido)benzoyl)phenyl)hex-5-ynamide; N-(2-(2-(2-(2-(4-(1-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-6-(4-hydroxyphenethylamino)-9H-purin-9-yl)ethyl)-1H-1,2,3-triazol-1-yl)ethoxy)ethoxy)ethoxy)ethyl)acetamide; 4-(2-(9-isopropyl-2-(pyridin-4-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; ethyl 5-(6-(4-hydroxyphenethylamino)-9-isopropyl-9H-purin-2-yl)nicotinate; ethyl 5-(6-(4-hydroxyphenethylamino)-9-isopropyl-9H-purin-2-yl)nicotinate; 4-(2-(2-(6-fluoropyridin-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(9-isopropyl-2-(4-methylpyridin-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(9-isopropyl-2-(2-methoxypyridin-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 5-(6-(4-hydroxyphenethylamino)-9-isopropyl-9H-purin-

2-yl)nicotinonitrile; 4-(2-(9-isopropyl-2-(pyrrolidin-1-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(9-isopropyl-2-(1H-pyrazol-1-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(2-(1H-imidazol-1-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(9-isopropyl-2-(pyridazin-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(9-isopropyl-2-(pyridazin-4-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(9-isopropyl-2-(pyrazin-2-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(9-isopropyl-2-(pyridin-2-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(9-isopropyl-2-(5-(methylsulfonyl)pyridin-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(9-isopropyl-2-(5-methylpyridin-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(2-(2-chloropyridin-3-yl)-6-isopropyl-2,6-dihydroimidazo[4,5-c]pyrazol-3-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(2-(4-chloropyridin-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(9-isopropyl-2-(4-methoxypyridin-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(2-(5-fluoropyridin-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(9-isopropyl-2-(thiazol-4-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(9-isopropyl-2-(1-methyl-1H-pyrazol-4-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(9-isopropyl-2-(1H-pyrazol-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(9-isopropyl-2-(1H-pyrazol-4-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(9-isopropyl-2-(thiophen-2-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(6-(4-hydroxyphenethylamino)-9-isopropyl-9H-purin-2-yl)thiophene-2-carboxylic acid; 4-(2-(2-(furan-2-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(9-isopropyl-2-(4-methylthiophen-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(9-isopropyl-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)-2-methoxyphenol; 4-(2-(9-isopropyl-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)-2-methoxyphenol; N-[2-(6-methoxy-1H-indol-3-yl)ethyl]-9-(propan-2-yl)-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-amine; N-[2-(5-methyl-1H-indol-3-yl)ethyl]-9-(propan-2-yl)-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-amine; N-[2-(piperidin-4-yl)ethyl]-9-(propan-2-yl)-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-amine; 1-(2-([9-(propan-2-yl)-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-yl]amino)ethyl)piperidin-4-ol; methyl (2S)-3-(4-hydroxyphenyl)-2-([9-(propan-2-yl)-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-yl]amino)propanoate; 4-(2-([9-(propan-2-yl)-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-yl]amino)ethyl)benzene-1-sulfonamide; 2-([2-(1-benzothiophen-3-yl)-9-(propan-2-yl)-9H-purin-6-yl]amino)ethane-1-sulfonamide; 4-(2-([9-(propan-2-yl)-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-yl]amino)ethyl)benzene-1,2-diol; N-[2-(1H-imidazol-4-yl)ethyl]-9-(propan-2-yl)-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-amine; 1-(2-([9-(propan-2-yl)-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-yl]amino)ethyl)imidazolidin-2-one; N-[2-(5-amino-1H-1,2,4-triazol-3-yl)ethyl]-9-(propan-2-yl)-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-amine; N-(2-([9-(propan-2-yl)-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-

yl]amino)ethyl)pyridin-2-amine; 9-(propan-2-yl)-N-[3-(1H-pyrazol-4-yl)propyl]-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-amine; N-[2-([9-(propan-2-yl)-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-yl]amino)methyl)propyl]acetamide; 4-(2-([9-(propan-2-yl)-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-yl]amino)ethyl)piperazin-2-one; N-{2-[(3-methyl-1H-1,2,4-triazol-5-yl)sulfanyl]ethyl}-9-(propan-2-yl)-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-amine; N-[3-(3,5-dimethyl-1H-pyrazol-4-yl)propyl]-9-(propan-2-yl)-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-amine; (2-([9-(propan-2-yl)-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-yl]amino)ethyl)urea; 5-([9-(propan-2-yl)-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-yl]amino)methyl)-2,3-dihydro-1H-1,3-benzodiazol-2-one; 2-(1-benzothiophen-3-yl)-N-[2-(1H-imidazol-4-yl)ethyl]-9-(propan-2-yl)-9H-purin-6-amine; 1-(2-[2-(1-benzothiophen-3-yl)-9-(propan-2-yl)-9H-purin-6-yl]amino)ethyl)imidazolidin-2-one; N-[2-(5-amino-1H-1,2,4-triazol-3-yl)ethyl]-2-(1-benzothiophen-3-yl)-9-(propan-2-yl)-9H-purin-6-amine; N-(2-[2-(1-benzothiophen-3-yl)-9-(propan-2-yl)-9H-purin-6-yl]amino)ethyl)pyridin-2-amine; 2-(1-benzothiophen-3-yl)-9-(propan-2-yl)-N-[3-(1H-pyrazol-4-yl)propyl]-9H-purin-6-amine; N-[2-([2-(1-benzothiophen-3-yl)-9-(propan-2-yl)-9H-purin-6-yl]amino)methyl)propyl]acetamide; 4-(2-([2-(1-benzothiophen-3-yl)-9-(propan-2-yl)-9H-purin-6-yl]amino)ethyl)piperazin-2-one; 2-(1-benzothiophen-3-yl)-N-{2-[(3-methyl-1H-1,2,4-triazol-5-yl)sulfanyl]ethyl}-9-(propan-2-yl)-9H-purin-6-amine; 2-(1-benzothiophen-3-yl)-N-[3-(3,5-dimethyl-1H-pyrazol-4-yl)propyl]-9-(propan-2-yl)-9H-purin-6-amine; (2-([2-(1-benzothiophen-3-yl)-9-(propan-2-yl)-9H-purin-6-yl]amino)ethyl)urea; 5-([2-(1-benzothiophen-3-yl)-9-(propan-2-yl)-9H-purin-6-yl]amino)methyl)-2,3-dihydro-1H-1,3-benzodiazol-2-one; N-[2-(1H-indol-3-yl)ethyl]-9-(propan-2-yl)-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-amine; N-(4-(2-(9-isopropyl-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenyl)methanesulfonamide; 4-(2-(2-(pyridin-3-yl)-9-(tetrahydrofuran-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(9-isopropyl-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)propyl)phenol; 4-(2-(9-(oxetan-3-yl)-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 5-(6-(4-hydroxyphenethylamino)-9-isopropyl-9H-purin-2-yl)-N-methylnicotinamide; 6-(9-isopropyl-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)-5,6,7,8-tetrahydronaphthalen-2-ol; N-(2-(1H-indazol-3-yl)ethyl)-9-isopropyl-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-amine; 4-(2-((9-isopropyl-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-yl)(methyl)amino)ethyl)phenol; 4-(2-(9-isopropyl-8-methyl-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 1-(2-(9-isopropyl-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)-1H-benzo[d]imidazol-2(3H)-one; 4-(3-(9-isopropyl-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-yl)propyl)phenol; 4-(((9-isopropyl-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-

yl)methyl(methylamino)methyl)phenol; 4-(((9-isopropyl-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-yl)methylamino)methyl)phenol; 4-(((9-isopropyl-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-yl)methoxy)methyl)phenol; N-(2-(indolin-5-yl)ethyl)-9-isopropyl-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-amine; 4-(2-(9-(1-methylpiperidin-4-yl)-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(9-(piperidin-4-yl)-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; N-(2-(1H-indazol-5-yl)ethyl)-9-isopropyl-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-amine; N-(2-(1H-benzo[d]imidazol-5-yl)ethyl)-9-isopropyl-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-amine; 5-(2-(9-isopropyl-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)indolin-2-one; 4-(2-(9-cyclopropyl-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(9-(1-hydroxypropan-2-yl)-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(9-isopropyl-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenyl sulfamate; 2-(4-hydroxyphenyl)-N-(9-isopropyl-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-yl)acetamide; 4-(5-(9-isopropyl-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)isoxazol-3-yl)phenol; 4-(5-(9-isopropyl-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)-1,3,4-oxadiazol-2-yl)phenol; 4-(2-(2-(2-fluoropyridin-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(9-isopropyl-2-(1-methyl-1H-pyrrol-2-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; and 4-(2-(9-isopropyl-2-(thiazol-5-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol.

[0058] In another embodiment is a compound of formula 1f:

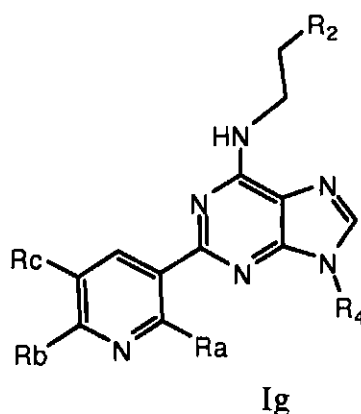


[0059] in which: R₂ is selected from 1H-indol-3-yl and phenyl optionally substituted with hydroxy; and R₄ is selected from isopropyl, sec-butyl, benzhydryl, nonan-2-yl, oxetan-3-yl and tetrahydrofuran-3-yl.

[0060] In a further embodiment are compounds selected from: 4-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(2-

(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-sec-butyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(9-benzhydryl-2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; N-(2-(1H-indol-3-yl)ethyl)-2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-amine; 4-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-(nonan-2-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; N-(2-(1H-indol-3-yl)ethyl)-2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-sec-butyl-9H-purin-6-amine; 4-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-(oxetan-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; (S)-4-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-(tetrahydrofuran-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; and (R)-4-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-(tetrahydrofuran-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol.

[0061] In another embodiment is a compound of formula Ig:



[0062] in which: R₂ is selected from: 1H-pyrrolo[2,3-b]pyridin-3-yl; 1H-indol-3-yl optionally substituted with 1 to 2 radicals independently selected from halo, methyl and methoxy; and phenyl optionally substituted with 1 to 2 radicals independently selected from methyl, halo and hydroxy; R₄ is selected from isopropyl, sec-butyl, 1-hydroxypropan-2-yl, prop-1-en-2-yl, benzhydryl, nonan-2-yl, oxetan-3-yl and tetrahydrofuran-3-yl; and Ra, Rb and Rc are independently selected from hydrogen, cyano, methyl, halo, -SO₂CH₃ and trifluoromethyl.

[0063] In a further embodiment are compounds selected from: 4-(2-(9-isopropyl-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(2-(6-fluoropyridin-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(9-isopropyl-2-(4-methylpyridin-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 5-(6-(4-hydroxyphenethylamino)-9-isopropyl-9H-purin-2-yl)nicotinonitrile; 4-(2-(9-isopropyl-2-(5-methylpyridin-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(9-isopropyl-2-(5-(methylsulfonyl)pyridin-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(2-(4-chloropyridin-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(2-(5-fluoropyridin-

3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 9-isopropyl-N-(2-(6-methoxy-1H-indol-3-yl)ethyl)-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-amine; 9-isopropyl-N-(2-(5-methyl-1H-indol-3-yl)ethyl)-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-amine; N-(2-(1H-indol-3-yl)ethyl)-9-isopropyl-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-amine; 4-(2-(9-(oxetan-3-yl)-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(9-(1-hydroxypropan-2-yl)-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(2-(2-fluoropyridin-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 5-(9-sec-butyl-6-(4-hydroxy-3-methylphenethylamino)-9H-purin-2-yl)nicotinonitrile; 4-(2-(2-(5-fluoropyridin-3-yl)-9-(oxetan-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(2-(5-chloropyridin-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(9-isopropyl-2-(5-(trifluoromethyl)pyridin-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 5-(6-(2-(1H-indol-3-yl)ethylamino)-9-sec-butyl-9H-purin-2-yl)nicotinonitrile; N-(2-(1H-indol-3-yl)ethyl)-9-sec-butyl-2-(5-methylpyridin-3-yl)-9H-purin-6-amine; (R)-N-(2-(1H-indol-3-yl)ethyl)-9-sec-butyl-2-(5-fluoropyridin-3-yl)-9H-purin-6-amine; (S)-N-(2-(1H-indol-3-yl)ethyl)-9-sec-butyl-2-(5-fluoropyridin-3-yl)-9H-purin-6-amine; N-(2-(1H-indol-3-yl)ethyl)-9-sec-butyl-2-(5-fluoropyridin-3-yl)-9H-purin-6-amine; (R)-N-(2-(1H-indol-3-yl)ethyl)-9-sec-butyl-2-(5-methylpyridin-3-yl)-9H-purin-6-amine; (S)-N-(2-(1H-indol-3-yl)ethyl)-9-sec-butyl-2-(5-methylpyridin-3-yl)-9H-purin-6-amine; 5-(6-(4-hydroxyphenethylamino)-9-(oxetan-3-yl)-9H-purin-2-yl)nicotinonitrile; 4-(2-(6-(5-fluoropyridin-3-yl)-1-isopropyl-1H-pyrazolo[3,4-d]pyrimidin-4-ylamino)ethyl)phenol; 3-(6-(4-hydroxyphenethylamino)-9-isopropyl-9H-purin-2-yl)isonicotinonitrile; 4-(2-(2-(5-fluoropyridin-3-yl)-7-isopropyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-4-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(9-isopropyl-2-(6-methylpyridin-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 2-chloro-4-(2-(9-isopropyl-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 3-fluoro-4-(2-(9-isopropyl-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; N-(2-(5-fluoro-1H-indol-3-yl)ethyl)-9-isopropyl-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-amine; N-(2-(5-chloro-1H-indol-3-yl)ethyl)-9-isopropyl-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-amine; 4-(2-(9-isopropyl-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)-2-methylphenol; 2-(6-(2-(1H-indol-3-yl)ethylamino)-2-(5-fluoropyridin-3-yl)-9H-purin-9-yl)propan-1-ol; (R)-2-(6-(2-(1H-indol-3-yl)ethylamino)-2-(5-fluoropyridin-3-yl)-9H-purin-9-yl)propan-1-ol; (S)-2-(6-(2-(1H-indol-3-yl)ethylamino)-2-(5-fluoropyridin-3-yl)-9H-purin-9-yl)propan-1-ol; (R)-N-(2-(1H-indol-3-yl)ethyl)-2-(5-fluoropyridin-3-yl)-9-(tetrahydrofuran-3-yl)-9H-purin-6-amine; 4-(2-(6-(5-fluoropyridin-3-yl)-1-isopropyl-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-4-ylamino)ethyl)phenol; N-(2-(1H-indol-3-yl)ethyl)-2-(5-fluoropyridin-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-amine; 2-(5-fluoropyridin-3-

yl)-9-isopropyl-N-(2-(6-methoxy-1H-indol-3-yl)ethyl)-9H-purin-6-amine; 2-(5-fluoropyridin-3-yl)-9-isopropyl-N-(2-(5-methoxy-1H-indol-3-yl)ethyl)-9H-purin-6-amine; N-(2-(1H-indol-3-yl)ethyl)-2-(5-fluoropyridin-3-yl)-9-(prop-1-en-2-yl)-9H-purin-6-amine; N-(2-(1H-pyrrolo[2,3-b]pyridin-3-yl)ethyl)-2-(5-fluoropyridin-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-amine; 4-(2-(5-(5-fluoropyridin-3-yl)-3-isopropyl-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-7-ylamino)ethyl)phenol; N-(2-(1H-indol-3-yl)ethyl)-9-isopropyl-2-(5-methylpyridin-3-yl)-9H-purin-6-amine; 2-(5-fluoropyridin-3-yl)-9-isopropyl-N-(2-(7-methyl-1H-indol-3-yl)ethyl)-9H-purin-6-amine; N-(2-(1H-indol-3-yl)ethyl)-2-(5-fluoropyridin-3-yl)-9-(oxetan-3-yl)-9H-purin-6-amine; N-(2-(1H-indol-3-yl)ethyl)-2-(5-methylpyridin-3-yl)-9-(oxetan-3-yl)-9H-purin-6-amine; N-(2-(6-fluoro-1H-indol-3-yl)ethyl)-2-(5-fluoropyridin-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-amine; 2-(5-fluoropyridin-3-yl)-9-isopropyl-N-(2-(2-methyl-1H-indol-3-yl)ethyl)-9H-purin-6-amine; 2-(5-fluoropyridin-3-yl)-9-isopropyl-N-(2-(6-methyl-1H-indol-3-yl)ethyl)-9H-purin-6-amine; N-(2-(4-fluoro-1H-indol-3-yl)ethyl)-2-(5-fluoropyridin-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-amine; 2-(5-fluoropyridin-3-yl)-9-isopropyl-N-(2-(4-methyl-1H-indol-3-yl)ethyl)-9H-purin-6-amine; N-(2-(7-fluoro-1H-indol-3-yl)ethyl)-2-(5-fluoropyridin-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-amine; and 4-(2-(2-(5-fluoropyridin-3-yl)-9-(1-hydroxypropan-2-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)-2-methylphenol.

[0064] In another embodiment is a method of using a compound of Formula I to stimulate the expansion of stem cells by increasing the number of divisions; said method comprising contacting the stem cells with a compound of Formula I.

[0065] In another embodiment is a method in which the expansion of stem cells is *in vivo*, *in vitro*, or *ex vivo*.

[0066] In another embodiment is a method in which the stem cells are human hematopoietic stem cells.

[0067] In another embodiment is a cell population with expanded hematopoietic stem cells, as obtained or obtainable by the method of the invention.

[0068] In a further embodiment is a composition comprising a cell population with expanded HSCs derived from one or two cord blood units, preferably one cord blood unit, wherein said composition contains a total amount of cells of at least 10^5 cells, 10^7 cells, 10^8 cells or 10^9 cells, and wherein between 20-100% of total cells are CD34+ cells, for example between 40-80% of total cells are CD34+.

[0069] In another embodiment is a method for treating a disease or disorder for which stem cell therapy would result in the prevention, treatment or eradication of said disorder.

[0070] It is anticipated that as stem cell use progresses the diseases that can be treated by stem cell transplantation will expand. A non-limiting list of examples follows, *infra*.

[0071] In another embodiment is the use of a compound of Formula I as defined in the Summary of the Invention, or a salt thereof, in the preparation of a composition for the treatment of an inherited immunodeficient disease, an autoimmune disease and/or a hematopoietic disorder.

[0072] In a further embodiment, the administration is an autologous transplantation and the hematopoietic disorder is selected from Multiple myeloma, Non-Hodgkin lymphoma, Hodgkin disease, Acute myeloid leukemia, Neuroblastoma, Germ cell tumors, Autoimmune disorders and Amyloidosis.

[0073] In a further embodiment, the autoimmune disorders are selected from Systemic lupus erythematosus (SLE) and systemic sclerosis.

[0074] In a further embodiment, the administration is an allogeneic transplantation and the hematopoietic disorder is selected from Acute myeloid leukemia, Acute lymphoblastic leukemia, Chronic myeloid leukemia, Chronic lymphocytic leukemia, Myeloproliferative disorders, Myelodysplastic syndromes, Multiple myeloma, Non-Hodgkin lymphoma, Hodgkin disease, Aplastic anemia, Pure red cell aplasia, Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria, Fanconi anemi, Thalassemia major, Sickle cell anemia, Severe combined immunodeficiency (SCID), Wiskott-Aldrich syndrome, Hemophagocytic lymphohistiocytosis (HLH) and inborn errors of metabolism.

[0075] In a further embodiment, the inborn errors of metabolism are selected from mucopolysaccharidosis, Gaucher disease, metachromatic leukodystrophies and adrenoleukodystrophies.

[0076] In another embodiment is a method for treating an inherited immunodeficient disease, an autoimmune disease and/or a hematopoietic disorder comprising administration to a patient in need of such treatment hematopoietic stem cells expanded by a compound as described in the Summary of the Invention.

[0077] In a further embodiment, the administration is an autologous transplantation and the hematopoietic disorder is selected from Multiple myeloma, Non-Hodgkin lymphoma,

Hodgkin disease, Acute myeloid leukemia, Neuroblastoma, Germ cell tumors, Autoimmune disorders and Amyloidosis.

[0078] In a further embodiment, the autoimmune disorders are selected from Systemic lupus erythematosus (SLE) and systemic sclerosis.

[0079] In a further embodiment, the administration is an allogeneic transplantation and the hematopoietic disorder is selected from Acute myeloid leukemia, Acute lymphoblastic leukemia, Chronic myeloid leukemia, Chronic lymphocytic leukemia, Myeloproliferative disorders, Myelodysplastic syndromes, Multiple myeloma, Non-Hodgkin lymphoma, Hodgkin disease, Aplastic anemia, Pure red cell aplasia, Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria, Fanconi anemia, Thalassemia major, Sickle cell anemia, Severe combined immunodeficiency (SCID), Wiskott-Aldrich syndrome, Hemophagocytic lymphohistiocytosis (HLH) and inborn errors of metabolism.

[0080] In a further embodiment, the inborn errors of metabolism are selected from mucopolysaccharidosis, Gaucher disease, metachromatic leukodystrophies and adrenoleukodystrophies.

Utility

[0081] HSCs are primitive cells capable of regenerating all blood cells. During development, hematopoiesis translocates from the fetal liver to the bone marrow, which then remains the site of hematopoiesis throughout adulthood. Once hematopoiesis has been established in the bone marrow, the HSCs are not distributed randomly throughout the bone cavity. Instead, they are found in close proximity to the endosteal surfaces. The more mature stem cells increase in number as the distance from the bone surface increases. Finally, as the central longitudinal axis of the bone is approached terminal differentiation of mature cells occurs.

[0082] Expanding the number of stem cells, whether from adult, umbilical cord blood, fetal, or embryonic sources, would have a huge impact on transplantation and other therapies for hematology and oncology diseases and disorders, the least of which would be increased safety and reduced costs. As described in the methods herein, HSC numbers are increased ex vivo. A method of increasing stem cell numbers is important as currently, approximately 25% of autologous donor transplants are prohibited for lack of sufficient stem cells. In addition, less than 25% of patients in need of allogeneic transplant can find a

histocompatible donor. Umbilical cord blood banks currently exist and cover the broad racial make-up of the general population, but these banks are currently restricted to use in children due to inadequate stem cell numbers in the specimens for adult recipients. A method to increase stem cell numbers permits cord blood to be useful for adult patients, thereby expanding the use of allogeneic transplantation. Compounds of the invention can also be used to expand the progenitor cell numbers which are clinically useful, for example, to speed engraftment and decrease the duration of neutopenia.

[0083] Accordingly, a method for increasing the number of HSCs is provided. As used herein, an increase in HSCs means that the subject has at least one more HSC, a 10% increase, a 20% increase, a 30% increase or greater. HSCs may consist of a subset of CD34+ cells, increase of HSCs can be measured indirectly by counting the number of CD34+ cells in a cell population and, optionally, by assessing the differentiation properties of the CD34+ cells by analyzing the colony forming units (CFU) as described in the experimental part below: An increase of the number of CD34+ cells culture of a least 10%, preferably 20% increase or 30% increase or greater as compared with a control without expansion is indicative of HSC expansion. The expanded population of HSCs is harvested, for example, from a bone marrow sample of a subject or from a culture. Harvesting HSCs is defined as the dislodging or separation of cells. This is accomplished using a number of methods, such as enzymatic, non-enzymatic, centrifugal, electrical, or size-based methods, or preferably, by flushing the cells using culture media (e.g., media in which cells are incubated) or buffered solution. The cells are optionally collected, separated, and further expanded generating even larger populations of HSCs and differentiated progeny.

[0084] A method for making an expanded population of HSCs comprises contacting an agent capable of down-regulating the activity and/or expression of AHR and/or a downstream effector of AHR, e.g., a compound of the invention, with a starting cell population (i.e., an unexpanded population of cells) comprising a mixture of HSCs and optionally HSC supporting cells. The administration step occurs *ex vivo*, *in vivo* and/or *in vitro*. As described herein, the expanded population of HSCs is optionally administered to a subject. For *ex vivo* expansion, such agent for HSC expansion, e.g. a compound of the invention, may be formulated in DMSO or some other suitable carrier, "washed" from the cells and the cells may be transferred, for example, into an infusion buffer. A DMSO formulation, for example, can contain 0.3mg/ml of a

compound of the invention in 60% DMSO/40% water solution. Thus, provided are methods of providing an expanded population of HSCs to a subject comprising administering to the subject the expanded population of HSCs described herein or made by the methods described herein. The expanded population of HSCs is optionally used to make blood cells. The blood cells are optionally administered to a subject in need. Optionally, the subject is the same subject from which the unexpanded population of HSCs or mixture of HSCs and HSC supporting cells was derived.

[0085] As used herein, the term HSC supporting cell refers to cells naturally found in the vicinity of one or more HSCs such that factors released by HSC supporting cells reach the HSC by diffusion, for example. HSC supporting cells include, but are not limited to, lymphoreticular stromal cells. Lymphoreticular stromal cells as used herein include, but are not limited to, all cell types present in a lymphoid tissue which are not lymphocytes or lymphocyte precursors or progenitors. Thus, lymphoreticular stromal cells include osteoblasts, epithelial cells, endothelial cells, mesothelial cells, dendritic cells, splenocytes and macrophages. Lymphoreticular stromal cells also include cells that would not ordinarily function as lymphoreticular stromal cells, such as fibroblasts, which have been genetically altered to secrete or express on their cell surface the factors necessary for the maintenance, growth or differentiation of HSCs, including their progeny. Lymphoreticular stromal cells are optionally derived from the disaggregation of a piece of lymphoid tissue. Such cells are capable of supporting *in vitro* or *in vivo* the maintenance, growth or differentiation of HSCs, including their progeny. By lymphoid tissue it is meant to include bone marrow, peripheral blood (including mobilized peripheral blood), umbilical cord blood, placental blood, fetal liver, embryonic cells (including embryonic stem cells), aortal-gonadal-mesonephros derived cells, and lymphoid soft tissue. Lymphoid soft tissue as used herein includes, but is not limited to, tissues such as thymus, spleen, liver, lymph node, skin, tonsil, adenoids and Peyer's patch, and combinations thereof.

[0086] Lymphoreticular stromal cells provide the supporting microenvironment in the intact lymphoid tissue for the maintenance, growth or differentiation of HSCs, including their progeny. The microenvironment includes soluble and cell surface factors expressed by the various cell types which comprise the lymphoreticular stroma. Generally, the support which the lymphoreticular stromal cells provide is characterized as both contact-dependent and non-contact-dependent.

[0087] Lymphoreticular stromal cells, for example, are autologous (self) or non-autologous (non-self, e.g., heterologous, allogenic, syngeneic or xenogeneic) with respect to HSCs. Autologous, as used herein, refers to cells from the same subject. Allogeneic, as used herein, refers to cells of the same species that differ genetically. Syngeneic, as used herein, refers to cells of a different subject that are genetically identical to the cell in comparison. Xenogeneic, as used herein, refers to cells of a different species. Lymphoreticular stroma cells are obtained, for example, from the lymphoid tissue of a human or a non-human subject at any time after the organ/tissue has developed to a stage (i.e., the maturation stage) at which it can support the maintenance, growth or differentiation of HSCs. The lymphoid tissue from which lymphoreticular stromal cells are derived usually determines the lineage-commitment HSCs undertake, resulting in the lineage-specificity of the differentiated progeny.

[0088] The co-culture of HSCs (and progeny thereof) with lymphoreticular stromal cells, usually occurs under conditions known in the art (e.g., temperature, CO₂ and O₂ content, nutritive media, duration, etc.). The time sufficient to increase the number of cells is a time that can be easily determined by a person skilled in the art, and varies depending upon the original number of cells seeded. The amounts of HSCs and lymphoreticular stromal cells initially introduced (and subsequently seeded) varies according to the needs of the experiment. The ideal amounts are easily determined by a person skilled in the art in accordance with needs.

[0089] As used throughout, by a subject is meant an individual. Thus, subjects include, for example, domesticated animals, such as cats and dogs, livestock (e.g., cattle, horses, pigs, sheep, and goats), laboratory animals (e.g., mice, rabbits, rats, and guinea pigs), mammals, non-human mammals, primates, non-human primates, rodents, birds, reptiles, amphibians, fish, and any other animal. The subject is optionally a mammal such as a primate or a human.

Methods For Expanding Hematopoietic Stem Cells

[0090] The invention therefore relates to a method for expanding hematopoietic stem cells, comprising (a) providing a starting cell population comprising hematopoietic stem cells and (b) culturing said starting cell population ex vivo in presence of an agent capable of down-regulating the activity and/or expression of aryl hydrocarbon receptor and/or a down-stream effector of aryl hydrocarbon receptor pathway, under suitable conditions for expanding hematopoietic stem cells.

[0091] The aryl hydrocarbon (dioxin) receptor (AHR) is a cytosolic ligand-activated transcription factor known to mediate a large number of toxic and carcinogenic effects in animals and possible in human (Safe S 2001 Toxicol Lett 120: 1-7). As a consequence of AHR activation by its ligands, many detoxification genes are transcriptionally induced, including those coding for phase I xenobiotic-metabolizing enzymes, such as the cytochromes P450 CYP1A1, CYP1A2, CYP1B1 and CYP2S1, and the phase II enzymes UDP-glucuronosyltransferase UGT1A6, NAD(P)H-dependent quinone oxidoreductase-1 (NQO1), the aldehyde dehydrogenase ALDH3A1, and several glutathione-S-transferase.

[0092] In one embodiment, an agent capable of down-regulating the activity and/or expression of aryl hydrocarbon receptor and/or a down-stream effector of aryl hydrocarbon receptor pathway is selected among the group consisting of: (i) an organic compound; (ii) a small interference RNA (siRNA) molecule capable of down-regulating the expression of AHR; and (iii) antisense oligonucleotide capable of down-regulating the expression of AHR.

[0093] In one specific embodiment, said method for expanding hematopoietic stem cells, comprises (a) providing a starting cell population comprising hematopoietic stem cells and (b) culturing said starting cell population ex vivo in the presence of an agent capable of down-regulating the activity and/or expression of aryl hydrocarbon receptor and/or a down-stream effector of aryl hydrocarbon receptor pathway, under suitable conditions for expanding hematopoietic stem cells, wherein said agent capable of down-regulating the activity and/or expression of aryl hydrocarbon receptor and/or a down-stream effector of aryl hydrocarbon receptor pathway is not alpha-naphthoflavone or 3'-methoxy-4'-nitroflavone.

[0094] Organic compound that inhibits AHR activity (also referred herein as AHR antagonist) have been described in the art, for example 2-methyl-2H-pyrazole-3-carboxylic acid (2-methyl-4-o-tolylazophenyl)amide (CH223191), alpha naphthoflavone, resveratrol (Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis., 2003 Apr; 13(2):104-13), 3'-methoxy-4'-nitroflavone (Biochem. Pharmacol., 2007 May 15; 73(10):1622-34, Epub 2007 Jan 30), and 6-methyl-1,3,8-trichlorodibenzofuran (Cancer Res., 2004, Apr 15;64(8):2889-97). An inhibitor of AHR activity refers to a compound which decreases AHR activity to at least 10%, 20%, 30%, 50%, 60%, 70%, 80% or at least 90% the transcriptional activity of AHR as observed under activated conditions. An assay to measure AHR inhibitory activity is for example the dioxin-induced AHR dependent luciferase reporter gene assay as described in the Examples. In one embodiment, an

inhibitor of AHR activity is a compound that has an EC₅₀ of less than 10 μ M, preferably less than 5 μ M as measured in the dioxin-induced AHR dependent luciferase reporter gene assay.

[0095] AHR is a transcriptional factor regulating the transcription of various genes in human. In one embodiment, a downstream effector of AHR pathway is a gene which is directly regulated at the transcriptional level by AHR. Examples of such genes are selected from Cyp1B1, Cyp1A1, and AHRR. AHR also functions in pathways outside of its well-characterized role in xenobiotic enzyme induction. Xenobiotic ligands of AHR have been shown to regulate beta catenin, STAT5, STAT1, HES-1, c-Myc, C/EBP, PU.1, β -catenin, p21, P27, pRb, deoxynucleotidyl transferase, CXCR4, and its chemokine ligand CXCL12 (SDF-1).

[0096] In one specific embodiment, an agent capable of down-regulating the activity and/or expression of aryl hydrocarbon receptor is a compound as defined in the Summary of the Invention.

[0097] In another embodiment, an agent capable of down-regulating the activity and/or expression of aryl hydrocarbon receptor is an antisense oligonucleotide or a small interfering RNA molecule (siRNA), capable of down-regulating AHR protein expression or the protein expression of one more down-stream effectors of AHR.

[0098] Design of antisense oligonucleotides which can be used to efficiently inhibit the AHR protein expression must be effected in a way that such oligonucleotides specifically binds the designated mRNA within cells in a way which inhibits translation thereof. Sequence suitable for use in design and synthesis of antisense oligonucleotides which specifically bind to AHR mRNA, genomic DNA and/or its promoter or other control sequences are available in published sequence of AHR, in particular human AHR. In addition, algorithms for identifying sequences with the highest predicted binding affinity for their target mRNA based on thermodynamic cycle that accounts for the energetics of structural alterations in both the target mRNA and the oligonucleotides are also available.

[0099] Synthesis of RNAi molecules suitable for use with the present invention can be affected as follows: First, the AHR mRNA sequence (or one or more of its down-stream effectors) is scanned downstream of the AUG start codon for AA-dinucleotide sequences. Occurrence of each AA and the 19 3'-adjacent is recorded as a potential siRNA target site. Then, potential target sites are compared to an appropriate genomic database (e.g, human, mouse, rat, etc.) using any sequence alignment software. Putative target site that exhibit significant

homology to other coding sequences are filtered out. Preferred sequences are then those including low G/C content, in particular sequences with G/C content lower than 55%. Several target sites are then selected along the length of the target gene. Methods or algorithms to identify putative target site of siRNA are described for example in (Tilesi, et al., Curr. Opin. Mol. Ther. 11:156, 2009). Examples of siRNA molecules which are capable of down-regulating the expression of AHR are: AHR 111S, 5' GCG GCA TAG AGA CCG ACT TAA TTT CAA GAG AAT TAA GTC GGT CTC TAT GCC GCT TTT TTG G 3'; AHR 111AS, 5' CGC GCC AAA AAA GCG GCA TAG AGA CCG ACT TAA TTC TCT TGA AAT TAA GTC GGT CTC TAT GCC GC 3'; AHR 242S, 5' GGC TTC TTT GAT GTT GCA TTA ATT CAA GAG ATT AAT GCA ACA TCA AAG AAG CCT TTT TTG G 3'; AHR 242AS, 5' CGC GCC AAA AAA GGC TTC TTT GAT GTT GCA TTA ATC TCT TGA ATT AAT GCA ACA TCA AAG AAG CC 3'.

[00100] The starting cell population comprising hematopoietic stem cells will be selected by the person skilled in the art depending on the envisaged use. Various sources of cells comprising hematopoietic stem cells have been described in the art, including bone marrow, peripheral blood, neonatal umbilical cord blood, placenta or other sources such as liver, particularly fetal liver.

[00101] The cell population may first be subjected to enrichment or purification steps, including negative and/or positive selection of cells based on specific cellular markers in order to provide the starting cell population. Methods for isolating said starting cell population based on specific cellular markers may use fluorescent activated cell sorting (FACS) technology also called flow cytometry or solid or insoluble substrate to which is bound antibodies or ligands that interact with specific cell surface markers. For example, cells may be contacted with a solid substrate (e.g., column of beads, flasks, magnetic particles) containing the antibodies and any unbound cells are removed. When a solid substrate comprising magnetic or paramagnetic beads is used, cells bound to the beads can be readily isolated by a magnetic separator.

[00102] In one embodiment, said starting cell population is enriched in a desirable cell marker phenotype (e.g., CD34+, CD133+, CD90+) or based on efflux of dyes such as rhodamine, Hoechst or aldehyde dehydrogenase activity. In one specific embodiment, said starting cell population is enriched in CD34+ cells. Methods for enriching blood cell population

in CD34+ cells include kits commercialized by Miltenyi Biotec (CD34+ direct isolation kit, Miltenyi Biotec, Bergisch, Gladbach, Germany) or by Baxter (Isolex 3000).

[00103] The amount of cord blood from a single birth is often inadequate to treat an adult or an older child. One advantage of the expansion methods using the compounds of the invention, or an agent capable of down-regulating the activity and/or expression of aryl hydrocarbon receptor and/or a down-stream effector of aryl hydrocarbon receptor pathway, is that it enables the production of a sufficient amount of hematopoietic stem cells from only one cord blood unit.

[00104] Accordingly, in one embodiment, the starting cell population is derived from neonatal umbilical cord blood cells which have been enriched in CD34+ cells. In one related embodiment, said starting cell population is derived from one or two umbilical cord blood units.

[00105] In another embodiment, the starting cell population is derived from human mobilized peripheral blood cells which have been enriched in CD34+ cells. In one related embodiment, said starting cell population is derived from human mobilized peripheral blood cells isolated from only one patient.

[00106] Said starting cell population may preferably contain at least 50% CD34+ cells, in some embodiments, more than 90% of CD34+ cells, and may comprise between 10^5 and 10^9 nucleated cells.

[00107] The starting cell population may be used directly for expansion or frozen and stored for use at a later date.

[00108] Conditions for culturing the starting cell population for hematopoietic stem cell expansion will vary depending, inter alia, on the starting cell population, the desired final number of cells, and desired final proportion of HSCs.

[00109] In one specific embodiment, in particular, using a starting cell population from umbilical cord blood cells enriched in CD34+ cells, the culturing conditions comprises the use of other cytokines and growth factors, generally known in the art for hematopoietic stem cell expansion. Such cytokines and growth factors include without limitation IL-1, IL-3, IL-6, IL-11, G-CSF, GM-CSF, SCF, FLT3-L, thrombopoietin (TPO), erythropoietin, and analogs thereof. As used herein, "analogs" include any structural variants of the cytokines and growth factors having the biological activity as the naturally occurring forms, including without limitation, variants with enhanced or decreased biological activity when compared to the naturally occurring forms

or cytokine receptor agonists such as an agonist antibody against the TPO receptor (for example, VB22B sc(Fv)2 as detailed in patent publication WO 2007/145227, and the like). Cytokine and growth factor combinations are chosen to expand HSC and progenitor cells while limiting the production of terminally differentiated cells. In one specific embodiment, one or more cytokines and growth factors are selected from the group consisting of SCF, Flt3-L and TPO. In one specific embodiment, at least TPO is used in a serum-free medium under suitable conditions for HSC expansion. In one related embodiment, a mixture of IL6, SCF, Flt3-L and TPO is used in the method for expanding HSCs in combination with the compound of the invention or an agent capable of down-regulating the activity and/or expression of aryl hydrocarbon receptor and/or a down-stream effector of aryl hydrocarbon receptor pathway.

[00110] Human IL6 or interleukin-6, also known as B-cell stimulatory factor 2 has been described by (Kishimoto, Ann. review of Imm. 23:1 2005) and is commercially available. Human SCF or stem cell factor, also known as c-kit ligand, mast cell growth factor or Steel factor has been described (Smith, MA et al., ACTA Haematologica, 105, 3:143, 2001) and is commercially available. Flt3-L or FLT-3 Ligand, also referred as FL is a factor that binds to flt3-receptor. It has been described (Hannum C, *Nature* 368 (6472): 643–8) and is commercially available. TPO or thrombopoietin, also known as megakaryocyte growth factor (MGDF) or c-Mpl ligand has been described (Kaushansky K (2006). *N. Engl. J. Med.* 354 (19): 2034–45) and is commercially available.

[00111] The expansion of HSC may be carried out in a basal medium, which is supplemented with the mixtures of cytokines and growth factors described above. A basal medium typically comprises amino acids, carbon sources, vitamins, serum proteins (e.g. albumin), inorganic salts, divalent cations, buffers and any other element suitable for use in expansion of HSC. Examples of such basal medium appropriate for a method of expanding HSC include, without limitation, StemSpan® SFEM - Serum-Free Expansion Medium (StemCell Technologies, Vancouver, Canada), StemSpan® H3000 - Defined Medium (StemCell Technologies, Vancouver, Canada), CellGro® SCGM (CellGenix, Freiburg Germany), StemPro®-34 SFM (Invitrogen).

[00112] In one embodiment, the compound of the invention or the agent capable of down-regulating the activity and/or expression of aryl hydrocarbon receptor and/or a down-stream effector of aryl hydrocarbon receptor pathway, is administered during the expansion

method of said starting cell population under a concentration appropriate for HSC expansion. In one specific embodiment, said compound or AhR modulating agent is administered at a concentration comprised between 1pM and 100μM, for example between 10pM and 10μM, or between 100pM and 1μM.

[00113] In one specific embodiment where starting cell population essentially consists of CD34+ enriched cells from one or two cord blood units, the cells are grown under conditions for HSC expansion from about 3 days to about 90 days, for example between 7 and 2 days and/or until the indicated fold expansion and the characteristic cell populations are obtained. In one specific embodiment, the cells are grown under conditions for HSC expansion not more than 21 days, 14 days or 7 days.

[00114] In one embodiment, the starting cell population is cultured during a time sufficient to reach an absolute number of CD34+ cells of at least 10^5 , 10^6 , 10^7 , 10^8 or 10^9 cells. In another embodiment, said starting cell population is cultured during a time sufficient for a 10 to 50000 fold expansion of CD34+ cells, for example between 100 and 10000 fold expansion.

[00115] The cell population obtained after the expansion method may be used without further purification or may be subject to further purification or selection steps.

[00116] The cell population may then be washed to remove the compound of invention or any other agent capable of down-regulating the activity and/or expression of aryl hydrocarbon receptor and/or a down-stream effector of aryl hydrocarbon receptor pathway and/or any other components of the cell culture and resuspended in an appropriate cell suspension medium for short term use or in a long-term storage medium, for example a medium suitable for cryopreservation.

Cell Population With Expanded HSCs As Obtained by the Expansion Method and Therapeutic Compositions

[00117] The invention further provides a cell population with expanded HSCs, obtainable or obtained by the expansion method described above. In one specific embodiment, such cell population is resuspended in a pharmaceutically acceptable medium suitable for administration to a mammalian host, thereby providing a therapeutic composition.

[00118] The compound as defined in the Summary of the Invention or an agent capable of down-regulating the activity and/or expression of aryl hydrocarbon receptor and/or a down-stream effector of aryl hydrocarbon receptor pathway enables the expansion of HSCs, for

example from only one or two cord blood units, to provide a cell population quantitatively and qualitatively appropriate for efficient short and long term engraftment in human patient in need thereof. In particular, the invention relates to a composition comprising a cell population with expanded HSCs derived from not more than one or two cord blood units, wherein said therapeutic composition contains a total amount of cells of at least 10^5 , 10^6 , 10^7 , 10^8 or 10^9 cells, with between 20-100%, for example between 40-80% of total cells being CD34+ cells. In one related embodiment, said composition contains between 0.1-40%, for example between 0.1-10% of total cells being CD34+ Thyl+ and 20-80% of cells being CD34+ CD45RA+. In some specific embodiments, said composition contains between 10-95% of cells being CD38+ and between 5-70% of cells being CD133+.

Use of Therapeutic Compositions

[00119] The invention further provides the cell population with expanded HSCs or its composition for use in allogeneic or autologous stem cell transplantation in a mammalian subject.

[00120] The subject referred to herein is, for example, a bone marrow donor or an individual with or at risk for depleted or limited blood cell levels. Optionally, the subject is a bone marrow donor prior to bone marrow harvesting or a bone marrow donor after bone marrow harvesting. The subject is optionally a recipient of a bone marrow transplant. The methods described herein are particularly useful in subjects that have limited bone marrow reserve such as elderly subjects or subjects previously exposed to an immune depleting treatment or myeloablative treatment such as chemotherapy, e.g., for treating leukemia or lymphomas. The subject, optionally, has a decreased blood cell level or is at risk for developing a decreased blood cell level as compared to a control blood cell level. As used herein the term control blood cell level refers to an average level of blood cells in a subject prior to or in the substantial absence of an event that changes blood cell levels in the subject. An event that changes blood cell levels in a subject includes, for example, anemia, trauma, chemotherapy, bone marrow transplant and radiation therapy. For example, the subject has anemia or blood loss due to, for example, trauma.

[00121] The expanded HSC population or the composition comprising the cell population with expanded HSCs is administered to the subject, for example, before, at the same time, or after chemotherapy, radiation therapy or a bone marrow transplant. The subject optionally has depleted bone marrow related to, for example, congenital, genetic or acquired

syndrome characterized by bone marrow loss or depleted bone marrow. Thus, the subject is optionally a subject in need of hematopoiesis. Optionally, the subject is a bone marrow donor or is a subject with or at risk for depleted bone marrow.

[00122] Hematopoietic stem cell manipulation is useful as a supplemental treatment to chemotherapy or radiation therapy. For example, HSCs are localized into the peripheral blood and then isolated from a subject that will undergo chemotherapy, and after the therapy the cells are returned. Thus, the subject is a subject undergoing or expected to undergo an immune cell depleting treatment such as chemotherapy, radiation therapy or serving as a donor for a bone marrow transplant. Bone marrow is one of the most prolific tissues in the body and is therefore often the organ that is initially damaged by chemotherapy drugs and radiation. The result is that blood cell production is rapidly destroyed during chemotherapy or radiation treatment, and chemotherapy or radiation must be terminated to allow the hematopoietic system to replenish the blood cell supplies before a patient is re-treated with chemotherapy. Therefore, as described herein, HSCs or blood cells made by the methods described herein are optionally administered to such subjects in need of additional blood cells.

[00123] Provided are HSCs expanded by a compound of the invention or an agent capable of down-regulating the activity and/or expression of aryl hydrocarbon receptor and/or a down-stream effector of aryl hydrocarbon receptor pathway or the compositions with expanded HSCs as described above in combination with a therapeutic capable of enhancing the proliferation of HSCs *in vivo*, *in vitro*, or *ex vivo* (for example, a small molecule, an antibody, or the like) and optionally at least one pharmaceutically acceptable excipient or carrier. By a therapeutic capable of enhancing HSC proliferation is meant: an agonist antibody against the TPO receptor (for example, VB22B sc(Fv)2 as detailed in patent publication WO 2007/145227, and the like); a cytokine such as SCF, IL-6, Flt-3 ligand, TPO or a TPO mimetic (for example, such as described in WO/2007/022269; WO/2007/009120; WO/2004/054515; WO/2003/103686; WO/2002/085343; WO/2002/049413; WO/2001/089457; WO/2001/039773; WO/2001/034585; WO/2001/021180; WO/2001/021180; WO/2001/017349; WO/2000/066112; WO/2000/035446; WO/2000/028987; WO/2008/028645; and the like); granulocyte colony stimulating factor (G-CSF); granulocyte macrophage colony stimulating factor (GM-CSF); a prostaglandin or a prostaglandin receptor agonist (for example, prostaglandin E2 receptor-1 (EP-1) agonist, prostaglandin E2 receptor-2 (EP-2) agonist, prostaglandin E2 receptor-3 (EP-3)

agonist and prostaglandin E2 receptor-4 (EP-4) agonists, as detailed in patent publication WO/2008/073748); tetraethylenepentamine (TEPA); Notch-ligands (Delta-1); and/or a WNT agonist. In addition, culturing stem cells with mesenchymal stem cells (MSCs) prevents graft-versus-host disease (GVHD) and may help stem cell expansion. MSCs and stem cells can be transplanted as a whole culture.

[00124] By pharmaceutically acceptable is meant a material that is not biologically or otherwise undesirable, i.e., the material may be administered to a subject or cell, without causing undesirable biological effects or interacting in a deleterious manner with the other components of the pharmaceutical composition in which it is contained. The carrier or excipient is selected to minimize degradation of the active ingredient and to minimize adverse side effects in the subject or cell.

[00125] The compositions are formulated in any conventional manner for use in the methods described herein. Administration is via any route known to be effective by one of ordinary skill. For example, the compositions is administered orally, parenterally (e.g., intravenously), by intramuscular injection, by intraperitoneal injection, transdermally, extracorporeally, intranasally or topically.

[00126] The preferred method of administration is intravenous infusion. The number of cells transfused will take into consideration factors such as sex, age, weight, the types of disease or disorder, stage of the disorder, the percentage of the desired cells in the cell population and the amount of cells needed to produce a therapeutic benefit. In one particular embodiment, the composition is administered by intravenous infusion and comprises at least 10^4 cells/kg, from 10^5 to $5 \cdot 10^7$ cells/kg or more if necessary. In one specific embodiment, the infused cells are all deriving from expanded cord blood cells from a single birth.

[00127] A pharmaceutically acceptable carrier for infusion of a composition comprising cells into a patient typically comprise buffered saline with 5%HSA or unsupplemented basal medium or medium as known in the art.

[00128] For oral administration, the compositions take the form of, for example, tablets or capsules prepared by conventional means with pharmaceutically acceptable excipients such as binding agents (e.g., pregelatinised maize starch, polyvinylpyrrolidone or hydroxypropyl methylcellulose); fillers (e.g., lactose, microcrystalline cellulose or calcium hydrogen phosphate); lubricants (e.g., magnesium stearate, talc or silica); disintegrants (e.g., potato starch

or sodium starch glycolate); or wetting agents (e.g., sodium lauryl sulphate). The tablets are coated by methods well known in the art. Liquid preparations for oral administration take the form of, for example, solutions, syrups or suspensions, or they may be presented as a dry product for constitution with water or other suitable vehicle before use. Such liquid preparations are prepared by conventional means with pharmaceutically acceptable additives such as suspending agents (e.g., sorbitol syrup, cellulose derivatives or hydrogenated edible fats); emulsifying agents (e.g., lecithin or acacia); non-aqueous vehicles (e.g., almond oil, oily esters, ethyl alcohol or fractionated vegetable oils); and preservatives (e.g., methyl or propyl-p-hydroxybenzoates or sorbic acid). The preparations optionally contain buffer salts, flavoring, coloring and sweetening agents as appropriate.

[00129] The compositions are formulated for parenteral administration by injection, e.g., by bolus injection or continuous infusion. Formulations for injection are presented in unit dosage form, e.g., in ampules or in multi-dose containers, with or without an added preservative. The compositions take such forms as suspensions, solutions or emulsions in oily or aqueous vehicles, and may contain formulatory agents such as suspending, stabilizing and/or dispersing agents. Alternatively, the active ingredient is in powder form for constitution with a suitable vehicle, e.g., sterile pyrogen-free water, before use. In general, water, suitable oil, saline, aqueous dextrose (glucose), and related sugar solutions and glycols such as propylene glycol or polyethylene glycols are suitable carriers for parenteral solutions. Solutions for parenteral administration contain, for example, a water soluble salt of the active ingredient, suitable stabilizing agents and, if necessary, buffer substances. Antioxidizing agents such as sodium bisulfate, sodium sulfite or ascorbic acid, either alone or combined, are suitable stabilizing agents. Also citric acid and its salts and sodium ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) are optionally used. In addition, parenteral solutions optionally contain preservatives such as benzalkonium chloride, methyl- or propyl-paraben and chlorobutanol. Suitable pharmaceutical carriers are described in Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 21st Edition, David B. Troy, ed., Lippicott Williams & Wilkins (2005), which is incorporated by reference in its entirety at least for the material related to pharmaceutical carriers and compositions.

[00130] The compositions are optionally formulated as a depot preparation. Such long acting formulations are optionally administered by implantation. Thus, for example, the compositions are formulated with suitable polymeric or hydrophobic materials (for example as

an emulsion in an acceptable oil) or ion exchange resins, or as sparingly soluble derivatives, for example, as a sparingly soluble salt. The compositions are applied to or embedded with implants concurrent with or after surgical implant.

[00131] Additionally, standard pharmaceutical methods are employed to control the duration of action. These include control release preparations and appropriate macromolecules, for example, polymers, polyesters, polyamino acids, polyvinyl, pyrrolidone, ethylenevinylacetate, methyl cellulose, carboxymethyl cellulose or protamine sulfate. The concentration of macromolecules as well as the methods of incorporation are adjusted in order to control release. Optionally, the agent is incorporated into particles of polymeric materials such as polyesters, polyamino acids, hydrogels, poly (lactic acid) or ethylenevinylacetate copolymers. In addition to being incorporated, these agents are optionally used to trap the compound in microcapsules.

[00132] A composition for use in the methods described herein is optionally formulated as a sustained and/or timed release formulation. Such sustained and/or timed release formulations are made by sustained release means or delivery devices that are well known to those of ordinary skill in the art. The compositions are used to provide slow or sustained release of one or more of the active ingredients using, for example, hydropropylmethyl cellulose, other polymer matrices, gels, permeable membranes, osmotic systems, multilayer coatings, microparticles, liposomes, microspheres or a combination thereof to provide the desired release profile in varying proportions. Suitable sustained release formulations are selected for use with the compositions described herein. Thus, single unit dosage forms suitable for oral administration, such as, but not limited to, tablets, capsules, gelcaps, caplets, powders that are adapted for sustained release are used.

[00133] The compositions are optionally delivered by a controlled-release system. For example, the composition is administered using intravenous infusion, an implantable osmotic pump, liposomes, or other modes of administration. A controlled release system is placed in proximity to the target.

[00134] Optionally, it is desirable to administer the composition locally, i.e., to the area in need of treatment. For example, the composition is administered by injection into the bone marrow of a long bone, for example. Local administration is achieved, for example, by local infusion during surgery, topical application (e.g., in conjunction with a wound dressing

after surgery), injection, catheter, suppository, or implant. An implant is of a porous, non-porous, or gelatinous material, including membranes, such as sialastic membranes, or fibers.

[00135] The pharmaceutical compositions described herein are administered by any conventional means available for use in conjunction with pharmaceuticals, either as individual therapeutic active ingredients or in a combination of therapeutic active ingredients. They are optionally administered alone, but are generally administered with a pharmaceutical carrier selected on the basis of the chosen route of administration and standard pharmaceutical practice.

[00136] The compounds described herein are provided in a pharmaceutically acceptable form including pharmaceutically acceptable salts and derivatives thereof. The term pharmaceutically acceptable form refers to compositions including the compounds described herein that are generally safe, relatively non-toxic and neither biologically nor otherwise undesirable. These compositions optionally include pharmaceutically acceptable carriers or stabilizers that are nontoxic to the cell or subject being exposed thereto at the dosages and concentrations employed. Examples of physiologically acceptable carriers include buffers such as phosphate, citrate, and other organic acids; antioxidants including ascorbic acid; low molecular weight (less than about 10 residues) polypeptide; proteins, such as serum albumin, gelatin, or immunoglobulins; hydrophilic polymers such as polyvinylpyrrolidone; amino acids such as glycine, glutamine, asparagine, arginine or lysine; monosaccharides, disaccharides, and other carbohydrates including glucose, mannose, or dextrans; chelating agents such as EDTA; sugar alcohols such as mannitol or sorbitol; salt-forming counterions such as sodium; and/or nonionic surfactants such as TWEEN™ (Uniqema, United Kingdom), polyethylene glycol (PEG), and PLURONICS™ (BASF, Germany).

[00137] The term pharmaceutically acceptable acid salts and derivatives refers to salts and derivatives of the compounds of Formula I described herein that retain the biological effectiveness and properties as described, and that are not biologically or otherwise undesirable. Pharmaceutically acceptable salts are formed, for example, with inorganic acids such as hydrochloric acid, hydrobromic acid, sulfuric acid, nitric acid, phosphoric acid and the like, and organic acids such as acetic acid, propionic acid, glycolic acid, pyruvic acid, oxalic acid, maleic acid, malonic acid, succinic acid, fumaric acid, tartaric acid, citric acid, benzoic acid, cinnamic acid, mandelic acid, methanesulfonic acid, ethanesulfonic acid, p-toluenesulfonic acid, salicylic acid, and the like.

[00138] The chemical stability of a composition comprising a compound of Formula I or a pharmaceutically acceptable salt or ester thereof is enhanced by methods known to those of skill in the art. For example, an alkanolic acid ester of a polyethoxylated sorbitol (a polysorbate) is added to a composition containing a compound of Formula I in an amount effective to enhance the chemical stability of the compound.

[00139] The data obtained from the cell culture assays and animal studies are optionally used in formulating a range of dosage for use in humans. The dosage of such compounds lies preferably within a range of circulating concentrations that include little or no toxicity. The dosage varies within this range depending upon the dosage form employed and the route of administration utilized. For any compound used in the provided methods, the therapeutically effective dose is estimated initially from cell culture assays.

[00140] Also provided herein is a pack or kit comprising one or more containers filled with one or more of the ingredients described herein. Such kits optionally comprise solutions and buffers as needed or desired. The kit optionally includes an expanded population of stem cells made by the methods described above or can contain containers or compositions for making an expanded population of HSCs. In particular, the invention provides a kit for expanding ex vivo hematopoietic stem cells, comprising a compound as defined in the Summary of Invention and instructions for use of such compound in a method for HSC expansion and, optionally, one or more cytokines or growth factors, or media for cell growth, in particular media for hematopoietic stem cell growth as described above. The kit may further comprise antibodies for monitoring production of the cells, such as anti-CD34, anti-CD133, anti-CD38, anti-CD45RA and/or anti-Thy1 antibodies. In one specific embodiment, such kit further include one or more cytokines or growth factors selected from the group consisting of IL6, FLT3-L, SCF and TPO. Optionally associated with such pack(s) or kit(s) are instructions for use.

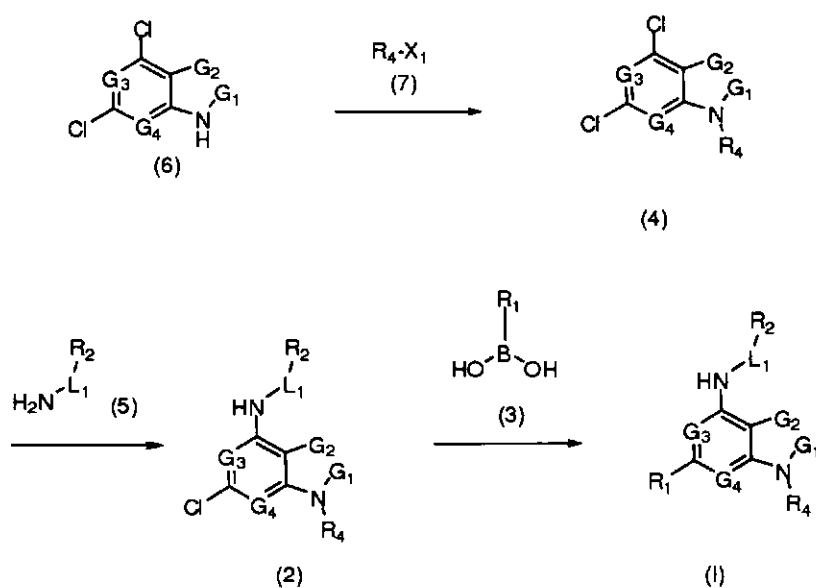
[00141] Also provided is a kit for providing an effective amount of a compound of the invention to increase HSCs in a subject comprising one or more doses of the compound for use over a period of time, wherein the total number of doses of the compound of the invention in the kit equals the effective amount sufficient to increase HSCs in a subject. The period of time is from about one to several days or weeks or months. Thus, the period of time is from at least about 5, 6, 7, 8, 10, 12, 14, 20, 21, 30 or 60 days or more or any number of days between one and 90.

Processes for Making Compounds of the Invention

[00142] The present invention also includes processes for the preparation of compounds of the invention. In the reactions described, it can be necessary to protect reactive functional groups, for example hydroxy, amino, imino, thio or carboxy groups, where these are desired in the final product, to avoid their unwanted participation in the reactions. Conventional protecting groups can be used in accordance with standard practice, for example, see T.W. Greene and P. G. M. Wuts in "Protective Groups in Organic Chemistry", John Wiley and Sons, 1991.

[00143] The following reaction schemes 1-5 detail the preparation of compounds of the invention. It will be appreciated by one skilled in the art that, following introduction by the methods detailed below, any of the groups R_1 , R_2 , R_3 , R_4 , and L_1 may optionally be further elaborated by known transformations to arrive at the desired final compounds of Formula I.

[00144] Compounds of Formula I can be prepared according the following Reaction Scheme 1:

Reaction Scheme 1

[00145] in which G_1 , G_2 , G_3 , G_4 , R_1 , R_2 and R_4 are as defined for Formula I in the Summary of the Invention and L of Formula I is defined in the reaction scheme as $-NH-L_1-$ which is equivalent to, for example, $-NR_{5a}(CH_2)_{0-3}-$ where R_{5a} is hydrogen and $-(CH_2)_{0-3}-$ is L_1 .

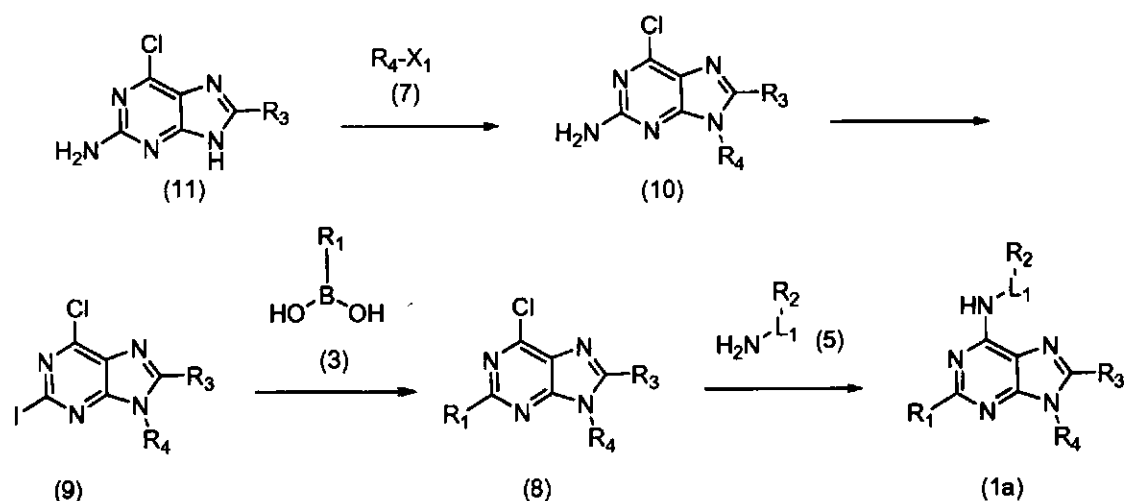
[00146] Compounds of Formula I can be prepared by reacting a compound of Formula 2 with a compound of Formula 3 in the presence of a suitable catalyst (e.g., $Pd_2(dba)_3$, or the

like) in the presence of an appropriate ligand (e.g., 1,3-bis(2,4,6-trimethylphenyl) imidazolium chloride), a suitable base (e.g., Cs_2CO_3 , or the like) and an appropriate solvent (e.g., 1,4-dioxane) at a temperature of about 80 to 100 °C for 2 to about 48 hours. Compounds of Formula 2 in turn can be prepared by reacting a compound of Formula 4 with a slight excess of an amine compound of Formula 5 in an appropriate solvent (e.g. isopropanol) at a temperature of about room temperature to about 80 °C. Compounds of Formula 4 can be prepared by alkylation of a compound of Formula 6 with a suitable alkylating agent 7, in which X_1 is chlorine, bromine, iodine, or a sulfonate ester, in the presence of a suitable base (e.g. sodium hydride or potassium carbonate), in a suitable solvent (e.g. DMF), at a temperature of about 0 °C to about 80 °C. Alternatively, the reaction can be performed under Mitsunobu conditions using a suitable alcohol $\text{R}_4\text{-OH}$ in the presence of a suitable phosphine (e.g. triphenylphosphine) and azodicarboxylate (e.g. diethylazodicarboxylate), in an inert solvent such as THF or toluene, at a temperature from about 0 °C to about room temperature.

[00147]

[00148] Compounds of Formula Ia, in which G_1 is CR_3 and in which all other G groups are N, can also be prepared by proceeding as in the following Reaction Scheme 2:

Reaction Scheme 2

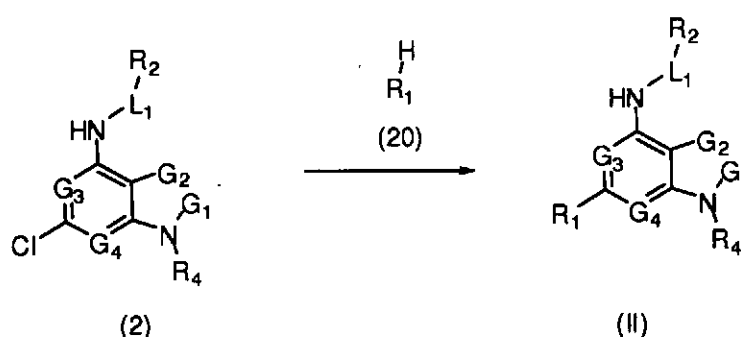


[00149] in which R_1 , R_2 , R_3 and R_4 are as defined for Formula I in the Summary of the Invention and L of Formula I is defined in the reaction scheme as $\text{-NH-L}_1\text{-}$ which is equivalent to, for example, $\text{-NR}_{5a}(\text{CH}_2)_{0-3}\text{-}$ where R_{5a} is hydrogen and $\text{-(CH}_2\text{)}_{0-3}\text{-}$ is L_1 .

[00150] Compounds of Formula I can be prepared by reacting a compound of Formula 8 with an amine compound of Formula 5 in an appropriate solvent (e.g. isopropanol) at a temperature of about room temperature to about 100 °C. Compounds of Formula 8 can in turn be prepared by reacting a compound of Formula 9 with a compound of Formula 3 in the presence of a suitable catalyst (e.g., Pd(Ph₃P)₄, Pd₂(dba)₃, or the like), optionally in the presence of an appropriate ligand (e.g., 1,3-bis(2,4,6-trimethylphenyl) imidazolium chloride), a suitable base (e.g., Cs₂CO₃, or the like) and an appropriate solvent (e.g., 1,4-dioxane) at a temperature of about 80 to 100 °C for 2 to about 48 hours. Compounds of Formula 9 in turn can be prepared by reacting a compound of Formula 10 with a mixture of di-iodomethane, copper(I) iodide, and an alkyl nitrite (e.g. isoamyl nitrite), optionally in the presence of an inert solvent, at a temperature of about 50 to 100 °C. Compounds of Formula 10 can be prepared by alkylation of a compound of Formula 11 with a suitable alkylating agent 7, in which X₁ is chlorine, bromine, iodine, or a sulfonate ester, in the presence of a suitable base (e.g. sodium hydride or potassium carbonate), in a suitable solvent (e.g. DMF), at a temperature of about 0 °C to about 80 °C. Alternatively, the reaction can be performed under Mitsunobu conditions using a suitable alcohol R₄-OH in the presence of a suitable phosphine (e.g. triphenylphosphine) and azodicarboxylate (e.g. diethylazodicarboxylate), in an inert solvent such as THF or toluene, at a temperature from about 0 °C to about room temperature.

[00151] Compounds of Formula II, which are a subset of compounds of Formula I in which R₁ is N-linked heterocyclyl or N-linked heteroaryl, can be prepared as detailed in the following Reaction Scheme 3:

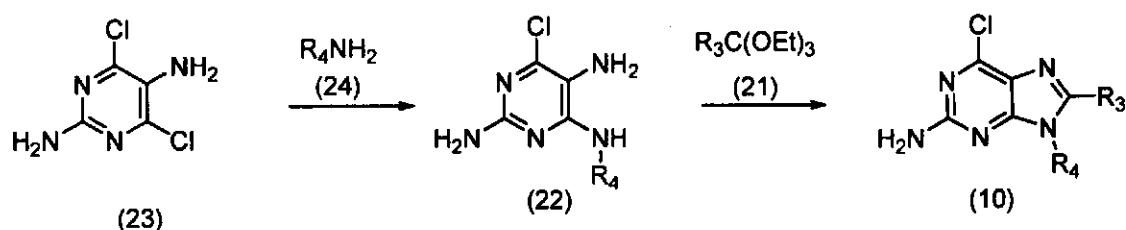
Reaction Scheme 3



[00152] G_1 , G_2 , G_3 , G_4 , R_1 , R_2 and R_4 are as defined for Formula I in the Summary of the Invention and L of Formula I is defined in the reaction scheme as $-\text{NH}-L_1-$ which is equivalent to, for example, $-\text{NR}_{5a}(\text{CH}_2)_{0-3}-$ where R_{5a} is hydrogen and $-(\text{CH}_2)_{0-3}-$ is L_1 . Compounds of Formula II can be prepared by reacting a compound of Formula 2 with a compound of Formula 20 in the presence of an excess of cyclic amine or NH-bearing heterocycle (for example, substituted pyrazole, substituted imidazole, and the like), at a temperature of about 50 °C to about 250 °C, for about 1 to about 24 hours, optionally in the presence of a base such as sodium hydride or DBU.

[00153] Compounds of Formula 10 in which G_1 is CR_3 , and in which all other G groups are N, can also be prepared by proceeding as in the following Reaction Scheme 4:

Reaction Scheme 4

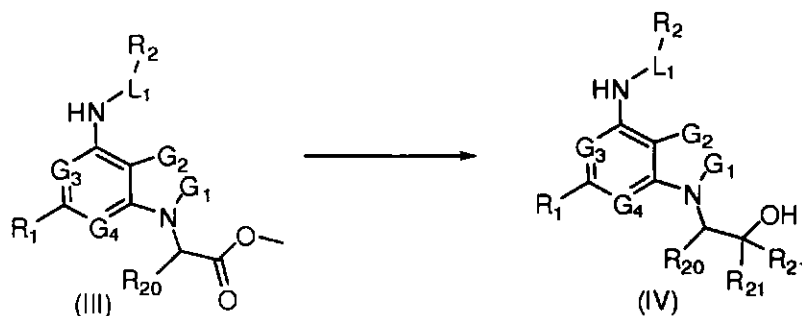


[00154] in which R_3 and R_4 are as defined for Formula I in the Summary of the Invention. Compounds of Formula 10 can be prepared according to procedures described in J. Med. Chem, 1972, 456, and J. Med. Chem., 1992, 4180. An orthoester compound of Formula 21 is reacted with a compound of Formula 22, optionally in the presence of an acid such as acetic acid, at a temperature of about room temperature to about 150 °C, for about 1 to about 24 hr.. A compound of Formula 22 can in turn be prepared by reacting a compound of Formula 23 with a

primary amine compound of Formula 24, optionally in the presence of an acid such as pTSA, or a base such as triethylamine or DBU, at a temperature of about 50 to about 200 °C.

[00155] Compounds of Formula IV can be prepared as detailed in the following Reaction Scheme 5:

Reaction Scheme 5



[00156] in which G_1 , G_2 , G_3 , G_4 , R_1 and R_2 are as defined for Formula I in the Summary of the Invention and L of Formula I is defined in the reaction scheme as $-NH-L_1-$ which is equivalent to, for example, $-NR_{5a}(CH_2)_{0-3}-$ where R_{5a} is hydrogen and $-(CH_2)_{0-3}-$ is L_1 . R_{20} and R_{21} are independently selected from hydrogen and C_{1-4} alkyl. A compound of Formula IV, in which R_{21} is hydrogen, can be prepared from a compound of Formula III by treatment with a suitable reducing agent such as lithium aluminum hydride or di-isobutyl aluminum hydride, in a suitable solvent such as THF or toluene, at a temperature of about -78°C to about 50°C . The reaction takes about 0.5 to about 16 hr to complete. A compound of Formula IV, in which R_{21} is lower alkyl, can be prepared by treatment of a compound of Formula III with an alkyl lithium or Grignard reagent, in a suitable solvent such as ether or tetrahydrofuran, at a temperature of about -78°C to about 50°C . The reaction takes about 0.5 to about 16 hr to complete.

[00157] Detailed examples of the synthesis of a compound of Formula I can be found in the Examples, *infra*.

Additional Processes for Making Compounds of the Invention

[00158] A compound of the invention can be prepared as a pharmaceutically acceptable acid addition salt by reacting the free base form of the compound with a pharmaceutically acceptable inorganic or organic acid. Alternatively, a pharmaceutically acceptable base addition salt of a compound of the invention can be prepared by reacting the free

acid form of the compound with a pharmaceutically acceptable inorganic or organic base.

Alternatively, the salt forms of the compounds of the invention can be prepared using salts of the starting materials or intermediates.

[00159] For example, salt forms of 4-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol (Example 1, *infra*) were synthesized as follows:

[00160] Mesylate salt: 4-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol free base (0.60g; 1.40 mmoles) are dissolved in 12 ml acetone at 50°C. Methanesulfonic acid (0.137 g; 1.40 mmoles) is added drop wise. The crystallization takes place rapidly. The white suspension is allowed to cool over about 30 minutes with cooling to room temperature. The slurry is stirred for 18 hours at room temperature and filtered. The solid is washed with acetone (6 ml) in three portions and dried first for about 3 hours at 50°C / ca. 10 mbar and then for about 16 hours at 80°C /ca.10 mbar. The material has a melting point at about 233°C with a melting enthalpy of 98g/J. The material produced exhibited a loss on drying of 0.2%.The water uptake was estimated by thermogravimetry after exposure to relative humidity (80%rh) during 24 hours. A water uptake of 0.4% was observed.

[00161] In another embodiment, the invention provides a mesylate salt of the compound of Example 1. In a further embodiment, the invention provides the mesylate salt of the compound of Example 1 comprising the following powder X-ray diffraction peaks (Angle 2-Theta °): 6.4, 6.7, 18.3, 18.6, 26.9; and which in an additional embodiment comprises the following powder X-ray diffraction peaks (Angle 2-Theta °): 6.4, 6.7, 10.3, 12.9, 16.4, 18.3, 25.8, 26.5, 26.9.

[00162] In a yet further embodiment, the invention provides the mesylate salt of the compound of Example 1 having the powder X-ray diffraction pattern shown in Figure 3 herein.

[00163] Tosylate salt: 4-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol free base (0.60g; 1.40 mmoles) are dissolved in 12 ml at 50°C. A solution of para-toluenesulfonic acid mono-hydrate (0.271g; 1.40 mmoles) in acetone (1.2 ml) is added drop wise. The solution is seeded at 50°C and crystallization takes place quickly. The suspension is allowed to cool over about 30 minutes to room temperature and stirred for about 18 hours. After filtration the solid is washed with acetone (6 ml) in three portions and dried first for about 3 hours at 50°C / ca. 10 mbar and then for about 16 hours at 80°C /ca.10 mbar. The material has a melting point at about 233°C with a melting enthalpy of 88g/J. The material produced

exhibited a loss on drying of 0.2%. The water uptake was estimated by Thermogravimetry after exposure to relative humidity (80%rh) during 24 hours. A water uptake of 0.4% was observed.

[00164] In another embodiment, the invention provides a tosylate salt of the compound of Example 1. In a further embodiment, the invention provides the tosylate salt of the compound of Example 1 comprising the following powder X-ray diffraction peaks (Angle 2-Theta °): 6.2, 13.3, 16.7, 19.5, 25.4; and which in an additional embodiment comprises the following powder X-ray diffraction peaks: 6.2, 7.6, 12.4, 13.3, 15.1, 16.7, 17.7, 19.5, 20.2, 24.6, 24.9, 25.4, 25.6.

[00165] In a yet further embodiment, the invention provides the tosylate salt of the compound of Example 1 having the powder X-ray diffraction pattern shown in Figure 4 herein.

[00166] Sulfate salt: 4-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol free base (0.60g; 1.40 mmoles) are dissolved in 10 ml acetone and 1 ml water at about 55°C. A solution of sulfuric acid (0.280g; 2.79 mmoles) in 1 ml water is added drop wise. The crystallization takes place rapidly. The suspension is allowed to cool over about 30 minutes with cooling to room temperature, stirred for about 18 hours and filtered. The filter cake is washed with 6 ml acetone in three portions and dried first for about 3 hours at 50°C / ca. 10 mbar and then for about 16 hours at 80°C /ca.10 mbar. The material has a melting point at about 224°C with a melting enthalpy of 91g/J. The material produced exhibited a loss on drying below 0.05%. The water uptake was estimated by Thermogravimetry after exposure to relative humidity (80%rh) during 24 hours. A water uptake of 0.2% was observed.

[00167] In another embodiment, the invention provides a sulfate salt of the compound of Example 1. In a further embodiment, the invention provides the sulfate salt of the compound of Example 1 comprising the following powder X-ray diffraction peaks (Angle 2-Theta °): 6.5, 6.8, 10.7, 13.5, 26.4, 27.6; and which in an additional embodiment comprises the following powder X-ray diffraction peaks (Angle 2-Theta °): 6.5, 6.8, 10.7, 13.1, 13.5, 18.6, 18.8, 20.8, 26.4, 27.1, 27.6.

[00168] In a yet further embodiment, the invention provides the sulfate salt of the compound of Example 1 having the powder X-ray diffraction pattern shown in Figure 6 herein.

[00169] Esylate salt: 4-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol free base (0.60g; 1.40 mmoles) are dissolved in 12 ml acetone at 50°C. Ethanesulfonic acid (0.155g; 1.40 mmoles) is added drop wise. The crystallization takes place quickly. The resulting white suspension is allowed to cool over about 30 minutes to room

temperature. The suspension is stirred for about 18 hours at room temperature and filtered. The solid is washed with 6 ml acetone in three portions and dried first for about 3 hours at 50°C / ca. 10 mbar and then for about 16 hours at 80°C /ca.10 mbar. The material has a melting point at about 231°C with a melting enthalpy of 76g/J. The material produced exhibited a loss on drying of 0.6%. The water uptake was estimated by Thermogravimetry after exposure to relative humidity (80%rh) during 24 hours. A water uptake of 0.05% was observed.

[00170] In another embodiment, the invention provides a esylate salt of the compound of Example 1. In a further embodiment, the invention provides the esylate salt of the compound of Example 1 comprising the following powder X-ray diffraction peaks (Angle 2-Theta °): 6.3, 9.9, 18.4, 25.3, 26.1; and which in an additional embodiment comprises the following powder X-ray diffraction peaks (Angle 2-Theta °): 6.3, 9.9, 17.1, 17.9, 18.4, 19.0, 22.0, 25.3, 26.1, 27.1.

[00171] In a yet further embodiment, the invention provides the esylate salt of the compound of Example 1 having the powder X-ray diffraction pattern shown in Figure 8 herein.

[00172] Hydrobromide salt: 4-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol free base (0.60g; 1.40 mmoles) are dissolved in 6 ml DMF at 65°C. Hydrobromic acid 48% (0.235g; 1.40 mmoles) is added drop wise. The solution is allowed to cool over about 30 minutes to room temperature. Seeds are added at 55°C and crystallization takes place slowly. The suspension is stirred for about 18 hours at room temperature and filtered. The solid is washed with 4 ml DMF/water 1:1 and 6 ml water. The salt is dried first for about 3 hours at 50°C / ca. 10 mbar and then for about 16 hours at 80°C /ca.10 mbar. The material has a melting point at about 285°C with a melting enthalpy of 119g/J. The material produced exhibited a loss on drying of 1.0%. The water uptake was estimated by Thermogravimetry after exposure to relative humidity (80%rh) during 24 hours. No water uptake was observed.

[00173] In another embodiment, the invention provides a hydrobromide salt of the compound of Example 1. In a further embodiment, the invention provides the hydrobromide salt of the compound of Example 1 comprising the following powder X-ray diffraction peaks (Angle 2-Theta °): 7.0, 25.9, 26.8, 27.9; and which in an additional embodiment comprises the following powder X-ray diffraction peaks (Angle 2-Theta °): 7.0, 11.4, 13.3, 21.4, 23.4, 25.9, 26.4, 26.8, 27.9.

[00174] In a yet further embodiment, the invention provides the hydrobromide salt of the compound of Example 1 having the powder X-ray diffraction pattern shown in Figure 9 herein.

[00175] Orotate salt: 4-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol free base (0.60g; 1.40 mmoles) and orotic acid (0.222g; 1.40 mmoles) are dissolved in 7.8 ml NMP (1-Methyl-2-pyrrolidone) at 85°C. The solution is cooled to 60°C and 6 ml water is added drop wise over about 5 minutes. The resulting white suspension is allowed to cool over about 30 minutes to room temperature and stirred for 18 hours. After filtration the filter cake is washed with 4 ml NMP/water 1:1 in two portions and 6 ml water in three portions. The solid is dried first for about 3 hours at 50°C / ca. 10 mbar and then for about 16 hours at 80°C /ca.10 mbar. The material has a melting point at about 240°C with a melting enthalpy of 130g/J. The material produced exhibited a loss on drying below 0.05%. The water uptake was estimated by Thermogravimetry after exposure to relative humidity (80%rh) during 24 hours. A water uptake of 1.7% was observed.

[00176] In another embodiment, the invention provides an orotate salt of the compound of Example 1. In a further embodiment, the invention provides the orotate salt of the compound of Example 1 comprising the following powder X-ray diffraction peaks (Angle 2-Theta °): 7.1, 16.3, 19.2, 23.5, 25.6, 26.9; and which in an additional embodiment comprises the following powder X-ray diffraction peaks (Angle 2-Theta °): 7.1, 14.4, 16.3, 18.6, 19.2, 21.7, 23.0, 23.5, 25.6, 26.9, 28.7.

[00177] In a yet further embodiment, the invention provides the orotate salt of the compound of Example 1 having the powder X-ray diffraction pattern shown in Figure 10 herein.

[00178] Hemi-fumarate salt: 4-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol free base (0.60g; 1.40 mmoles) are dissolved in 18 ml methanol at 65°C. Fumaric acid (0.164g; 1.40 mmoles) and 6 ml methanol are added. The solution is allowed to cool over about 30 minutes to room temperature. Some seed crystals are added at 60°C and crystallization takes place slowly. The suspension is stirred for 18 hours at room temperature and filtered. The solid is washed with 6 ml methanol in three portions and dried first for about 3 hours at 50°C / ca. 10 mbar and then for about 16 hours at 80°C /ca.10 mbar. The material has a melting point at about 232°C with a melting enthalpy of 83g/J. The material produced exhibited

a loss on drying below 0.05%. The water uptake was estimated by Thermogravimetry after exposure to relative humidity (80%rh) during 24 hours. A water uptake of 0.3% was observed.

[00179] In another embodiment, the invention provides a hemi-fumarate salt of the compound of Example 1. In a further embodiment, the invention provides the hemi-fumarate salt of the compound of Example 1 comprising the following powder X-ray diffraction peaks (Angle 2-Theta °): 7.2, 8.7, 14.4, 15.8, 17.4, 19.0, 23.7; and which in an additional embodiment comprises the following powder X-ray diffraction peaks (Angle 2-Theta °): 7.2, 8.7, 10.8, 14.4, 15.8, 17.4, 17.8, 19.0, 20.1, 23.7, 27.5.

[00180] In a yet further embodiment, the invention provides the hemi-fumarate salt of the compound of Example 1 having the powder X-ray diffraction pattern shown in Figure 11 herein.

[00181] Besylate salt: 4-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol free base (0.60g; 1.40 mmoles) are dissolved in 12 ml acetone at 50°C. A solution of benzenesulfonic acid (0.225g; 2.79 mmoles) in 1.2 ml acetone is added drop wise. Seed crystals are added at 48°C and the crystallization takes place slowly. The suspension is allowed to cool over about 30 minutes to room temperature. The slurry is stirred for about 18 hours at room temperature and filtered. The salt is washed with 6 ml acetone in three portions and dried first for about 3 hours at 50°C / ca. 10 mbar and then for about 16 hours at 80°C /ca.10 mbar. The material has a melting point at about 219°C with a melting enthalpy of 92g/J. The material produced exhibited a loss on drying of 0.3%. The water uptake was estimated by Thermogravimetry after exposure to relative humidity (80%rh) during 24 hours. A water uptake of about 0.05% was observed.

[00182] In another embodiment, the invention provides a besylate salt of the compound of Example 1. In a further embodiment, the invention provides the besylate salt of the compound of Example 1 comprising the following powder X-ray diffraction peaks (Angle 2-Theta °): 6.2, 7.7, 17.7, 25.5; and which in an additional embodiment comprises the following powder X-ray diffraction peaks (Angle 2-Theta °): 6.2, 7.7, 15.2, 16.7, 17.1, 17.7, 19.8, 20.2, 24.9, 25.2, 25.5.

[00183] In a yet further embodiment, the invention provides the besylate salt of the compound of Example 1 having the powder X-ray diffraction pattern shown in Figure 7 herein.

[00184] Napadisylate salt: 4-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol free base (0.60g; 1.40 mmoles) and 0.259 g 1,5-naphthalenedisulfonic acid (0.70 mmoles) are dissolved in 9 ml DMF at 87°C. The clear solution is allowed to cool over about 30 minutes to room temperature. Seeds are added at 65°C and crystallization takes place slowly. The suspension is stirred for about 18 hours at room temperature and filtered. The solid is washed with 4 ml DMF/water 1:1 in two portions and 6 ml water in three portions. The salt is dried first for about 3 hours at 50°C / ca. 10 mbar and then for about 16 hours at 80°C /ca.10 mbar. The material has a melting point at about 304°C with a melting enthalpy of 83g/J. A broad endothermic phenomenon is observed at 107°C that might be attributed to the loss of water. The material produced exhibited a loss on drying of 6.1%. The water uptake was estimated by Thermogravimetry after exposure to relative humidity (80%rh) during 24 hours. A water uptake less than 0.05% was observed.

[00185] In another embodiment, the invention provides a napadysilate salt of the compound of Example 1. In a further embodiment, the invention provides the napadysilate salt of the compound of Example 1 comprising the following powder X-ray diffraction peaks (Angle 2-Theta °): 6.4, 9.6, 13.1, 15.7, 16.1, 26.0; and which in an additional embodiment comprises the following powder X-ray diffraction peaks (Angle 2-Theta °): 9.6, 13.1, 15.7, 16.1, 16.4, 20.4, 20.9, 23.7, 26.0, 26.9.

[00186] In a yet further embodiment, the invention provides the napadysilate salt of the compound of Example 1 having the powder X-ray diffraction pattern shown in Figure 12 herein.

[00187] Hydrochloride salt: 4-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol free base (0.60g; 1.40 mmoles) are dissolved in 12 ml acetone at 55°C. Hydrochloric acid 37% (0.138g; 1.40 mmoles) is added drop wise. The crystallization takes place quickly. The white suspension is allowed to cool over about 30 minutes to room temperature and stirred for 18 hours. After filtration the solid is washed with 6 ml acetone in three portions and dried first for about 3 hours at 50°C / ca. 10 mbar and then for about 16 hours at 80°C /ca.10 mbar. The material is exhibiting an exothermic event at about 162°C with an enthalpy of -13.8J/g. This phenomenon might be attributed to a solid transformation into a more stable modification. An endothermic event is then seen at about 259°C with an enthalpy of 99.7J/g. The material produced exhibited a loss on drying of 0.6%. The water uptake was

estimated by Thermogravimetry after exposure to relative humidity (80%rh) during 24 hours. A water uptake of 0.3% was observed.

[00188] In another embodiment, the invention provides a hydrochloride salt of the compound of Example 1. In a further embodiment, the invention provides the hydrochloride salt of the compound of Example 1 comprising the following powder X-ray diffraction peaks (Angle 2-Theta °): 6.1, 7.0, 19.8, 26.1; and which in an additional embodiment comprises the following powder X-ray diffraction peaks (Angle 2-Theta °): 6.1, 7.0, 18.1, 19.8, 24.7, 26.1, 27.0, 27.7.

[00189] In a yet further embodiment, the invention provides the hydrochloride salt of the compound of Example 1 having the powder X-ray diffraction pattern shown in Figure 5 herein.

[00190] The free acid or free base forms of the compounds of the invention can be prepared from the corresponding base addition salt or acid addition salt form, respectively. For example a compound of the invention in an acid addition salt form can be converted to the corresponding free base by treating with a suitable base (e.g., ammonium hydroxide solution, sodium hydroxide, and the like). A compound of the invention in a base addition salt form can be converted to the corresponding free acid by treating with a suitable acid (e.g., hydrochloric acid, etc.). The nitrate salt of the compound of example 1 can be made using methods known to the skilled person. The powder X-ray diffraction pattern is disclosed in Fig 2 herein.

[00191] Compounds of the invention in unoxidized form can be prepared from N-oxides of compounds of the invention by treating with a reducing agent (e.g., sulfur, sulfur dioxide, triphenyl phosphine, lithium borohydride, sodium borohydride, phosphorus trichloride, tribromide, or the like) in a suitable inert organic solvent (e.g. acetonitrile, ethanol, aqueous dioxane, or the like) at 0 to 80°C.

[00192] Prodrug derivatives of the compounds of the invention can be prepared by methods known to those of ordinary skill in the art (e.g., for further details see Saulnier et al., (1994), Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters, Vol. 4, p. 1985). For example, appropriate prodrugs can be prepared by reacting a non-derivatized compound of the invention with a suitable carbamylating agent (e.g., 1,1-acyloxyalkylcarbanochloridate, para-nitrophenyl carbonate, or the like).

[00193] Protected derivatives of the compounds of the invention can be made by means known to those of ordinary skill in the art. A detailed description of techniques

applicable to the creation of protecting groups and their removal can be found in T. W. Greene, "Protecting Groups in Organic Chemistry", 3rd edition, John Wiley and Sons, Inc., 1999.

[00194] Compounds of the present invention can be conveniently prepared, or formed during the process of the invention, as solvates (e.g., hydrates). Hydrates of compounds of the present invention can be conveniently prepared by recrystallization from an aqueous/organic solvent mixture, using organic solvents such as dioxin, tetrahydrofuran or methanol.

[00195] Compounds of the invention can be prepared as their individual stereoisomers by reacting a racemic mixture of the compound with an optically active resolving agent to form a pair of diastereoisomeric compounds, separating the diastereomers and recovering the optically pure enantiomers. While resolution of enantiomers can be carried out using covalent diastereomeric derivatives of the compounds of the invention, dissociable complexes are preferred (e.g., crystalline diastereomeric salts). Diastereomers have distinct physical properties (e.g., melting points, boiling points, solubilities, reactivity, etc.) and can be readily separated by taking advantage of these dissimilarities. The diastereomers can be separated by chromatography, or preferably, by separation/resolution techniques based upon differences in solubility. The optically pure enantiomer is then recovered, along with the resolving agent, by any practical means that would not result in racemization. A more detailed description of the techniques applicable to the resolution of stereoisomers of compounds from their racemic mixture can be found in Jean Jacques, Andre Collet, Samuel H. Wilen, "Enantiomers, Racemates and Resolutions", John Wiley And Sons, Inc., 1981. Compounds of the invention can also be prepared as their individual stereoisomers by using chiral chromatography techniques, in particular, by use of HPLC or SFC chromatography using a chiral stationary phase.

[00196] Powder X-ray diffraction spectra as enclosed herein were obtained using the instrument Bruker D8 Vario in transmission geometry, irradiation CuK α (30 kV, 40 mA), scan range 2°-40° (2 theta value), step time 90.3s. Differential scanning calorimetry (DSC) of Example 1 amorphous material was carried out using the instrument Perkin Elmer DSC7 at a heating rate of 40°C/min.

[00197] In summary, the compounds of Formula I can be made by a process, which involves:

- (a) those of reaction schemes 1-5; and

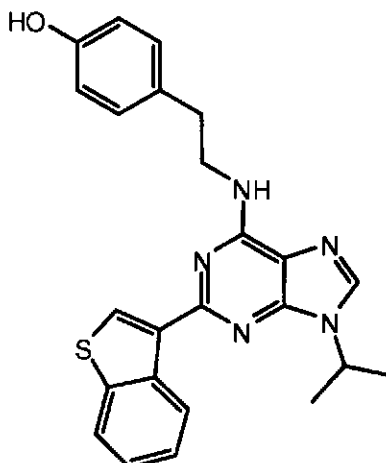
- (b) optionally converting a compound of the invention into a pharmaceutically acceptable salt;
- (c) optionally converting a salt form of a compound of the invention to a non-salt form;
- (d) optionally converting an unoxidized form of a compound of the invention into a pharmaceutically acceptable N-oxide;
- (e) optionally converting an N-oxide form of a compound of the invention to its unoxidized form;
- (f) optionally resolving an individual isomer of a compound of the invention from a mixture of isomers;
- (g) optionally converting a non-derivatized compound of the invention into a pharmaceutically acceptable prodrug derivative; and
- (h) optionally converting a prodrug derivative of a compound of the invention to its non-derivatized form.

[00198] Insofar as the production of the starting materials is not particularly described, the compounds are known or can be prepared analogously to methods known in the art or as disclosed in the Examples hereinafter.

[00199] One of skill in the art will appreciate that the above transformations are only representative of methods for preparation of the compounds of the present invention, and that other well known methods can similarly be used.

Examples

[00200] The present invention is further exemplified, but not limited, by the following examples that illustrate the preparation of compounds of Formula I (Examples) according to the invention.

*Example 1*4-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol

[00201] Synthesis of 2,6-dichloro-9-isopropyl-9H-purine (b): To 2,6-dichloro-9H-purine (a) (6.0 mmol) dissolved in anhydrous DMF (5.0 mL) was slowly added sodium hydride (7.8 mmol) with stirring at rt over 2 hr. 2-iodopropane was added and the mixture was stirred for 16 hr. The mixture was concentrated. The residue was purified by column chromatography on silica gel, eluting with hexane/EtOAc (20:1 to 3:1) to afford the title compound as a white solid. ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): δ 8.15 (s, 1H), 4.91 (m, 1H), 1.63 (d, 6H).

[00202] Synthesis of 4-(2-(2-chloro-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol (c): 2,6-dichloro-9-isopropyl-9H-purine (1.1 mmol) was mixed with tyramine (1.16 mmol) dissolved in i-PrOH (6 ml) and the mixture was stirred overnight. The reaction mixture was concentrated, and the residue purified by column chromatography on silica gel, eluting with hexane/EtOAc (5:1 to 1:2) to afford the title compound as a white solid. ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): δ 9.21 (br, 1H), 8.49 (s, 1H), 7.80 (s, 1H), 7.10 (d, 2H), 6.73 (d, 2H), 4.87 (m, 1H), 4.03 (t, 2H), 3.01 (t, 2H), 1.68 (d, 6H); HRMS (EI) calcd for C₁₆H₁₈ClN₅O (M + H⁺) 332.1273, found 332.1278.

[00203] Synthesis of 4-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol (d): A flame-dried schlenk flask was charged with 4-(2-(2-chloro-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol (0.62 mmol), thianaphthene-3-boronic acid (0.94 mmol), Pd₂(dba)₃ (0.062 mmol), Cs₂CO₃ (1.25 mmol) and 1,3-bis(2,4,6-trimethylphenyl)imidazolium chloride (0.125 mmol). The flask was evacuated and backfilled with N₂ and anhydrous 1,4-dioxane (2 mL) was added. The flask was sealed and the reaction mixture was

stirred at 80 °C for 24 hours. The reaction mixture was concentrated and purified directly by column chromatography on silica gel, eluting with hexane/EtOAc (20:1 to 1:4) to afford the title compound as a yellowish solid.

[00204] Alternatively, the synthesis of Example 1 can be carried out as follows:

[00205] **Synthesis of 2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-6-chloro-9-isopropyl-9H-purine**

(b): A round-bottom flask was charged with 6-chloro-2-iodo-9-isopropyl-9H-purine (prepared in Example 15c, 3.31 g, 0.0103 mol), benzo[b]thiophen-3-ylboronic acid (2.74 g, 0.0154 mol), and tetrakis(triphenylphosphine)palladium(0) (1.19 g, 0.0103 mol). To this mixture was added toluene (80 ml), ethanol (25 ml) and aqueous sodium carbonate solution (2M, 21 ml). The flask was sealed and the reaction mixture was stirred at 90 °C for 1 h. Water was added to the cooled mixture, which was extracted with ethyl acetate. The organic fractions were combined, dried over sodium sulfate, and concentrated. The residue was purified by column chromatography on silica gel, eluting with 20 to 50% EtOAc in hexane to afford the title compound as a solid, which was recrystallized from 1:1 methanol/water. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): δ = 9.15 (d, 1H), 8.85 (s, 2H), 8.17 (d, 1H), 7.62 (t, 1H), 7.53 (t, 1H), 5.06 (m, 1H), 1.71 (d, 6H); MS *m/z* 329.0 (M + 1).

[00206] **Synthesis of 4-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol (c):** 2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-6-chloro-9-isopropyl-9H-purine (2.2 g, 0.0067 mol) was suspended in anhydrous 2-propanol (70 mL) in a pressure tube. Tyramine (1.01 g, 0.0074 mol) was added. The tube was sealed and heated at 85 °C for 16 hr. Additional tyramine (0.50 g, 0.0037 mol) was added and the mixture was heated at 85 °C for 48 hr. The reaction was concentrated. Aqueous sodium bicarbonate solution was added to the residue, which was extracted with EtOAc. The combined organic extracts were dried over sodium sulfate, filtered, and concentrated. The residue was purified by column chromatography on silica gel, eluting with 50 to 85% EtOAc in hexane to afford a solid. The solid was triturated with methanol to provide the title compound as an off-white solid.

[00207] Alternatively, the synthesis of Example 1 can be carried out as follows:

[00208] **Synthesis of 2,6-dichloro-9-isopropyl-9H-purine (b):** To 2,6-dichloro-9H-purine (a) (998 g, 5.28 mol) dissolved in anhydrous DMF (5.0 L) was added sodium hydride (60% dispersion, 254 g, 6.35 mol) with stirring at 10 °C over 1 hr. 2-iodopropane (1595 g) was added and the mixture was stirred at rt for 24 hr. Water (5.0 L) was added, and the resulting solid

precipitate was collected and washed with water (500 ml) and heptane (2 x 2.5 L). The crude solid was crystallized from isopropyl acetate (2.1 L) to provide the title compound as a solid.

[00209] Synthesis of 4-(2-(2-chloro-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol

(c): 2,6-dichloro-9-isopropyl-9H-purine (500 g) was added in portions to a stirred mixture of tyramine (593g), triethylamine (262 g), and i-PrOH (5.0 L) at 50 °C. The mixture was stirred at that temperature for 4 hr, then the reaction mixture was concentrated. The residue was taken up in isopropyl acetate (6.0 L) and was washed with 20% citric acid solution (2.0 L) and water (2.0 L). The organic layer was concentrated to dryness, then was taken up in ethanol (2.0 L) and again concentrated to dryness. The crude solid was crystallized from ethanol (3.2 L) to provide the title compound as a solid.

[00210] Synthesis of 4-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol (d):

A mixture of 4-(2-(2-chloro-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol (950 g), thianaphthene-3-boronic acid (561 g), dichlorobis(triphenylphosphine)palladium(II) (10.1 g), potassium carbonate (791 g), water (3.25 L), and DMA (3.25 L) was stirred under a nitrogen atmosphere for 10 min. The stirred mixture was then heated at 70 °C for 14 h. Ethyl acetate (6.5 L) and water (3.25 L) were added, and the mixture was filtered through Celite (125 g) at 50 °C, rinsing with ethyl acetate (1.0 L). The layers were separated, and the aqueous layer was extracted at 50 °C with additional ethyl acetate (7.5 L). The combined organic layers were washed with water (3 x 2.5 L), then distilled to remove about 2.5 L of solvent. Tetrahydrofuran (2.5 L) and silica bond thio silica gel (200 g) were added. The mixture was stirred at 70 °C for 16 hr, then was filtered, washing the pad with ethyl acetate (1.0 L). The combined filtrates were concentrated at atmospheric pressure to a volume of about 5 L, then the mixture was allowed to cool. The resulting solid was collected and washed with ethyl acetate (2 x 1.0 L) to provide the title compound.

[00211] The compound of Example 1 can be recrystallised using a toluene/ethanol mixture and washed at room temperature with NaHCO₃ aqueous solution.

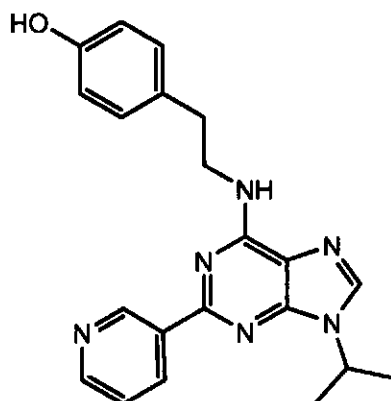
[00212] In another embodiment, the invention provides a compound of Example 1 in crystal form modification A, wherein modification A comprises the following powder X-ray diffraction peaks (angle 2-Theta °): 12.1, 16.9, 18.9, 21.3; and which in an additional embodiment comprises the following powder X-ray diffraction peaks (angle 2-Theta °): 12.1, 15.9, 16.9, 17.3, 18.9, 21.3, 22.1, 23.6, 24.4, 27.3.

[00213] In a yet further embodiment, the invention provides the compound of Example 1 as solid form modification A comprising the following powder X-ray diffraction peaks (angle 2-Theta °): 9.0, 12.1, 13.0, 13.1, 13.6, 14.4, 14.7, 15.1, 15.9, 16.9, 17.3, 17.7, 18.0, 18.9, 19.0, 20.1, 21.3, 22.1, 22.3, 22.6, 22.8, 23.4, 23.6, 24.4, 25.3, 26.3, 26.5, 27.3, 27.8, 28.2, 29.5, 29.7, 30.4, 30.7, 31.0, 31.4, 32.2, 32.8, 33.3, 34.3, 35.5, 36.4, 37.5, 38.4, 39.0, 39.4.

[00214] The powder X-ray diffraction pattern of the compound of Example 1, modification A, is shown in Fig 1 herein. Amorphous material of the compound of Example 1 was produced in situ in a DSC (differential scanning calorimetry) crucible by heating the compound until melting and annealing/cooling. Upon the cooling cycle the glass transition could be observed but upon the reheating cycle is much more characterized at about 70-75°C. The DSC pattern is shown in Fig 13 herein.

Example 15

4-(2-(Pyridin-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethylphenol



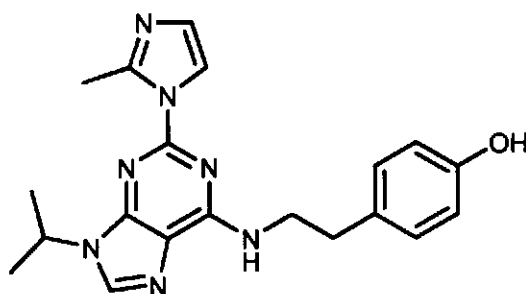
[00215] **Synthesis of 2-Amino-6-chloro-9-isopropyl-9H-purine (b):** Sodium hydride (1.5 g of 60% dispersion in mineral oil, 38 mmol) was added in portions over 10 min to a stirred suspension of 2-amino-6-chloro-9H-purine (5.34 g, 31.5 mmol) in anhydrous DMF (50 mL) at rt. After 45 min, the mixture was cooled in an ice bath, then 2-iodopropane was added. The cooling bath was removed and the stirred mixture was allowed to warm to rt over 16 h. The mixture was cooled in ice, then water was added. The mixture was concentrated, and the residue was treated with hot ethyl acetate. The cooled mixture was filtered, and the filtrate was concentrated. The residue was purified by column chromatography on silica gel, eluting with 0

to 50% EtOAc in hexane to afford the title compound as a solid. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.83(s, 1H), 5.17(s, 2H), 4.71-4.66(m, 1H), 1.57(d, 6H). MS m/z 212.1 ($M + 1$).

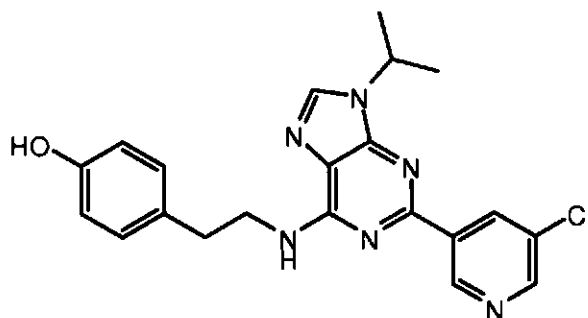
[00216] Synthesis of 6-Chloro-2-iodo-9-isopropyl-9H-purine (c): 6-chloro-9-isopropyl-9H-purin-2-amine (2.68 g, 12.7 mmol) was dissolved in THF (64 mL) at rt. Iodine (1.61 g, 6.25 mmol), CH_2I_2 (10.6 mL) and CuI (1.27 g, 6.66 mmol) were added. The mixture was stirred for 5 min at room temperature. Isopentyl nitrite (5.33 mL) was added. The reaction mixture was refluxed for 45 min, and was then cooled to room temperature. Saturated aqueous sodium bicarbonate solution was added, and the mixture was extracted with EtOAc three times. The combined organic phase was washed with brine, dried with MgSO_4 and concentrated. The residue was purified by column chromatography on silica gel, eluting with 0 to 30% ethyl acetate in hexane to afford the title compound as a solid. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.09(s, 1H), 4.95-4.88(m, 1H), 1.65(d, 6H). MS m/z 323.0 ($M + 1$).

[00217] Synthesis of 6-Chloro-2-(pyridin-3-yl)-9-isopropyl-9H-purine (d): A round-bottom flask was charged with 6-chloro-2-iodo-9-isopropyl-9H-purine (1.2 g, 3.7 mmol), pyridine-3-boronic acid 1,3-propanediol cyclic ester (0.91 g, 5.6 mmol), and tetrakis(triphenylphosphine)palladium(0) (430 mg, 0.37 mmol). To this mixture was added toluene (60 ml), ethanol (6 ml) and aqueous sodium carbonate solution (2M, 15 ml). The flask was sealed and the reaction mixture was stirred at 80 °C for 4 h. Water was added to the cooled mixture, which was extracted with ethyl acetate (50 ml x 3). The organic fractions were combined, dried over sodium sulfate, and concentrated. The residue was purified by column chromatography on silica gel, eluting with 30 to 70% EtOAc in hexane to afford the title compound as a solid. ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 9.60(d, 1H), 8.90-8.87(m, 1H), 8.68(s, 1H), 8.67(d, 1H), 7.63-7.60(m, 1H), 5.12-5.05(m, 1H), 1.74(d, 6H). MS m/z 274.1 ($M + 1$).

[00218] Synthesis of 4-(2-(pyridin-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethylphenol (e): 6-chloro-9-isopropyl-2-(pyridin-3-yl)-9H-purine (300 mg, 1.1 mmol) was suspended in anhydrous 2-propanol (40 mL) in a pressure tube. Tyramine (300 mg, 2.2 mmol) was added. The tube was sealed and heated to 85 °C for 16 hr. The reaction was concentrated and the residue was purified by column chromatography on silica gel, eluting with 0 to 70% EtOAc in hexane to afford the title compound as a solid.

Example 123**4-(2-(9-Isopropyl-2-(2-methyl-1H-imidazol-1-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol**

[00219] A microwave reaction tube was charged with 4-(2-(2-chloro-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol (30 mg, 0.091 mmol), 2-methyl-1H-imidazole (59 mg, 0.73 mmol) and 0.5 ml of NMP. The sealed tube was heated under microwave irradiation at 240 °C for 2 hr. The reaction mixture was purified by reverse-phase HPLC (C₁₈ column, eluting with ACN-H₂O 0.05% TFA) to afford the title compound as an off-white solid.

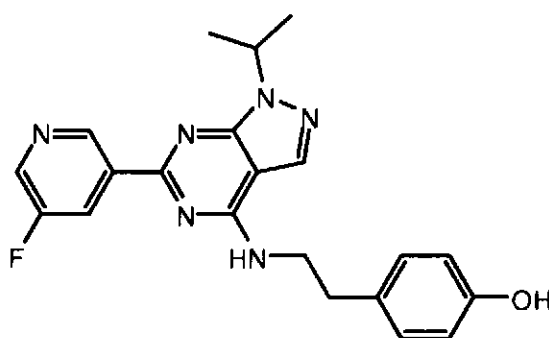
Example 128**4-(2-(2-(5-Chloropyridin-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol**

[00220] **Synthesis of 4-(2-(2-iodo-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol**
(b): A mixture of 6-chloro-2-iodo-9-isopropyl-9H-purine (a) (1.0 g, 3.1 mmol), tyramine (0.64 g, 4.65 mmol), triethylamine (0.63 g, 6.2 mmol) and 2-propanol (30 mL) was heated at 85 °C for 2 hr. The reaction mixture was concentrated and saturated aqueous sodium bicarbonate solution was added. The mixture was extracted with ethyl acetate (50 ml x 3). The combined organic layers were dried over sodium sulfate, filtered, and concentrated. The residue was purified by column chromatography on silica gel (25 to 75% ethyl acetate in hexane eluant) to afford the title compound as a solid. MS *m/z* 424.1 (M + 1).

[00221] **Synthesis of 4-(2-(2-(5-chloropyridin-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol (c):** Following the procedure of Example 15d, 4-(2-(2-iodo-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol (b) was reacted with 5-chloropyridin-3-ylboronic acid. The crude product was purified by reverse-phase HPLC (C₁₈ column, eluting with ACN-H₂O 0.05% TFA) to afford the title compound as an off-white solid.

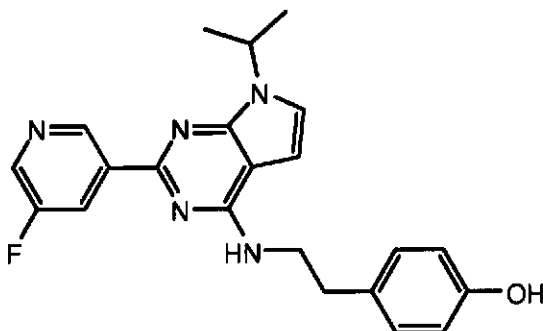
Example 134

4-(2-(6-(5-Fluoropyridin-3-yl)-1-isopropyl-1H-pyrazolo[3,4-d]pyrimidin-4-ylamino)ethyl)phenol



[00222] **Synthesis of 4-(2-(6-chloro-1-isopropyl-1H-pyrazolo[3,4-d]pyrimidin-4-ylamino)ethyl)phenol (b):** Following the procedure of Example 128b, 4,6-dichloro-1-isopropyl-1H-pyrazolo[3,4-d]pyrimidine (US3399196) (a) (0.184 g, 0.795 mmol) was reacted with tyramine. The crude residue was purified by silica gel chromatography (25 to 75% ethyl acetate in hexane eluant) to afford the title compound as a solid. MS *m/z* 332.1 (M + 1).

[00223] **Synthesis of 4-(2-(6-(5-fluoropyridin-3-yl)-1-isopropyl-1H-pyrazolo[3,4-d]pyrimidin-4-ylamino)ethyl)phenol (c):** Following the procedure of Example 15d, 4-(2-(6-chloro-1-isopropyl-1H-pyrazolo[3,4-d]pyrimidin-4-ylamino)ethyl)phenol (b) was reacted with 5-fluoropyridin-3-ylboronic acid. The crude residue was purified by reverse-phase HPLC (C₁₈ column, eluting with ACN-H₂O 0.05% TFA) to afford the title compound as an off-white solid.

Example 141**4-(2-(2-(5-Fluoropyridin-3-yl)-7-isopropyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-4-ylamino)ethyl)phenol****[00224] Synthesis of 2,4-dichloro-7-isopropyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidine (b):**

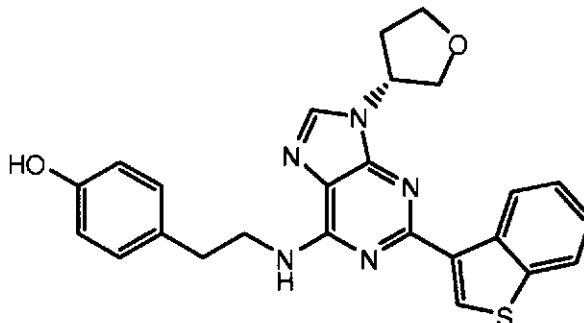
Following the procedure of Example 15b, 2,4-dichloro-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidine (0.5 g, 2.67 mmol) was reacted with 2-iodopropane. The crude residue was purified by silica gel chromatography (15 to 25% ethyl acetate in hexane eluant) to afford the title compound as a solid. MS m/z 230.2 ($M + 1$).

[00225] Synthesis of 4-(2-(2-chloro-7-isopropyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-4-

ylamino)ethyl)phenol (c): Following the procedure of Example 128b, 2,4-dichloro-7-isopropyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidine (b) (0.278 g, 1.21 mmol) was reacted with tyramine. The crude residue was purified by silica gel chromatography (25 to 75% ethyl acetate in hexane eluant) to afford the title compound as a solid. MS m/z 331.1 ($M + 1$).

[00226] Synthesis of 4-(2-(2-(5-fluoropyridin-3-yl)-7-isopropyl-7H-pyrrolo[2,3-

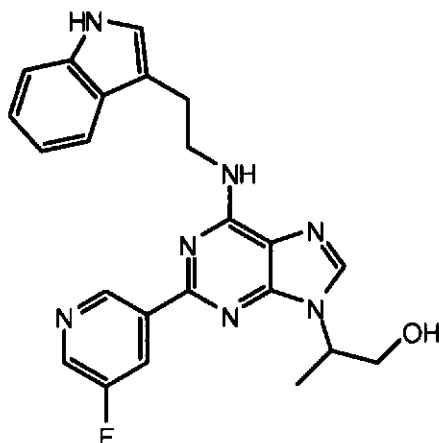
d]pyrimidin-4-ylamino)ethyl)phenol (d): Following the procedure of Example 15d, 4-(2-(2-chloro-7-isopropyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-4-ylamino)ethyl)phenol (20 mg, 0.06 mmol) was reacted with 5-fluoropyridin-3-ylboronic acid. The crude residue was purified by reverse-phase HPLC (C_{18} column, eluting with ACN- H_2O 0.05% TFA) to afford the title compound as an off-white solid.

Example 153**(R)-4-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-(tetrahydrofuran-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol**

[00227] Synthesis of (R)-2,6-dichloro-9-(tetrahydrofuran-3-yl)-9H-purine (b): A solution of 5,7-2,6-dichloro-9H-purine (400 mg, 2.12 mmol), (S)-tetrahydrofuran-3-ol (88 mg, 2.5 mmol) and triphenylphosphine (1.0 g, 3.8 mmol) in anhydrous THF (30 mL) was treated at -78 °C with diisopropyl azodicarboxylate (856 mg, 4.23 mmol). The reaction was allowed to warm to rt and was stirred for 16 hr. Saturated aqueous sodium bicarbonate solution was added and the mixture was extracted with ethyl acetate. The organic layers were combined, dried over sodium sulfate, and concentrated. The residue was purified by silica gel chromatography (10 to 80% ethyl acetate in hexane eluant) to afford a white solid which consisted of the title compound contaminated with triphenylphosphoxide. MS *m/z* 258.0 (*M* + 1).

[00228] Synthesis of (R)-4-(2-(2-chloro-9-(tetrahydrofuran-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol (c): Following the procedure of Example 128b, (R)-2,6-dichloro-9-(tetrahydrofuran-3-yl)-9H-purine (b) was reacted with tyramine. The crude reaction mixture was purified by reverse-phase preparative HPLC. MS *m/z* 360.1 (*M* + 1).

[00229] Synthesis of (R)-4-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-(tetrahydrofuran-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol: Following the procedure of Example 15d, (R)-4-(2-(2-chloro-9-(tetrahydrofuran-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol (c) was reacted with benzo[b]thiophen-3-ylboronic acid (22.3 mg, 0.125 mmol). The crude residue was purified by reverse-phase preparative HPLC to afford the title compound as an off-white solid.

Example 157**2-(6-(2-(1H-indol-3-yl)ethylamino)-2-(5-fluoropyridin-3-yl)-9H-purin-9-yl)propan-1-ol**

[00230] Synthesis of methyl 2-(2,6-dichloro-9H-purin-9-yl)propanoate (b): A mixture of 2,6-dichloro-9H-purine (5.0 g, 26.5 mmol), methyl 2-bromopropanoate (5.3 g, 31.7 mmol) and potassium carbonate (11.0 g, 79.4 mmol) in anhydrous DMF (100 mL) was heated at 100 °C for 15h. Sat. aqueous sodium bicarbonate solution was added and reaction was extracted with ethyl acetate (150 ml X 3). The organic layers were combined, washed with brine, dried over sodium sulfate, and concentrated. The residue was purified by silica gel chromatography (10 to 80% ethyl acetate in hexane eluant) to afford the title compound as a white solid. MS *m/z* 275.0 (*M* + 1).

[00231] Synthesis of methyl 2-(6-(2-(1H-indol-3-yl)ethylamino)-2-chloro-9H-purin-9-yl)propanoate (c): A mixture of methyl 2-(2,6-dichloro-9H-purin-9-yl)propanoate (b) (600 mg, 2.2 mmol), tryptamine (420 mg, 2.6 mmol) and 2-propanol (30 mL) was heated at 85°C in a sealed tube for 16 h. The reaction mixture was cooled to room temperature and concentrated. The residue was purified by silica gel chromatography (10 to 80% ethyl acetate in hexane eluant) to afford the title compound as a white solid. MS *m/z* 360.1 (*M* + 1).

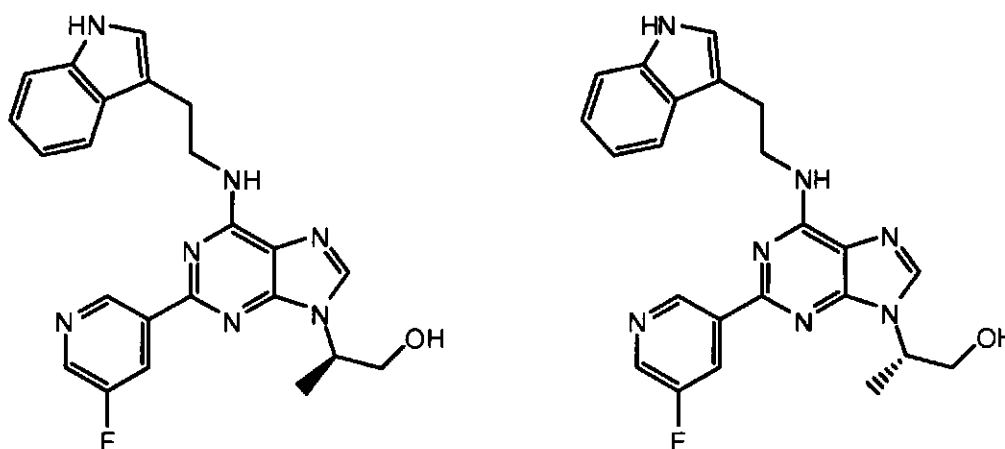
[00232] Synthesis of methyl 2-(6-(2-(1H-indol-3-yl)ethylamino)-2-(5-fluoropyridin-3-yl)-9H-purin-9-yl)propanoate (d): A 150 ml pressure tube was charged with methyl 2-(6-(2-(1H-indol-3-yl)ethylamino)-2-chloro-9H-purin-9-yl)propanoate (c) (300 mg, 0.75 mmol), 5-fluoropyridin-3-ylboronic acid (159 mg, 1.1 mmol), tetrakis(triphenylphosphine)-palladium(0) (87 mg, 0.075 mmol), K₃PO₄ (638 mg, 3.0 mmol), and anhydrous dioxane (15mL). The pressure tube was sparged with nitrogen and was sealed, then the reaction mixture was

heated at 130°C for 6 h with stirring. Water was added to the cooled mixture, and the mixture was extracted with ethyl acetate (50 ml x 3). The combined organic layers were washed with brine, dried over sodium sulfate, and concentrated. The residue was purified by silica gel chromatography (10 to 80% ethyl acetate in hexane eluant) to afford the title compound contaminated with a small amount of triphenylphosphine oxide. MS m/z 460.1 ($M + 1$).

[00233] Synthesis of 2-(6-(2-(1H-indol-3-yl)ethylamino)-2-(5-fluoropyridin-3-yl)-9H-purin-9-yl)propan-1-ol: Lithium aluminum hydride (230 mg, 6.1 mmol) was added in portions to a 0 °C solution of methyl 2-(6-(2-(1H-indol-3-yl)ethylamino)-2-(5-fluoropyridin-3-yl)-9H-purin-9-yl)propanoate (282 mg, 0.61 mmol) in anhydrous THF (15 mL). The stirred reaction mixture was allowed to warm to rt over 2h, then water was added carefully. The mixture was extracted with EtOAc (50 ml x 3). The organic fractions were combined, washed with brine, dried over sodium sulfate, and concentrated. The residue was purified by silica gel column chromatography (0 to 5% solvent B in dichloromethane; solvent B = 2M ammonia in methanol) to afford the partially purified title product. This was further purified by preparative TLC (5% solvent B in dichloromethane) to provide the title compound as a white solid.

Examples 157R & 157S

(R)-2-(6-(2-(1H-indol-3-yl)ethylamino)-2-(5-fluoropyridin-3-yl)-9H-purin-9-yl)propan-1-ol & (S)-2-(6-(2-(1H-indol-3-yl)ethylamino)-2-(5-fluoropyridin-3-yl)-9H-purin-9-yl)propan-1-ol

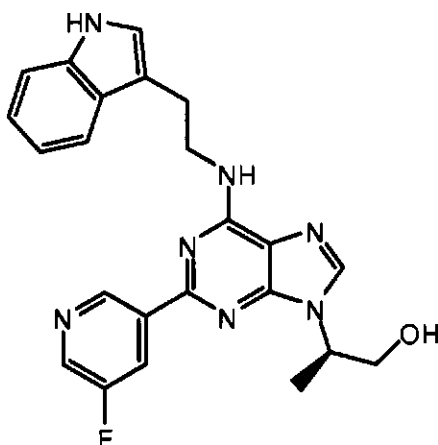


[00234] (R/S)-2-(6-(2-(1H-indol-3-yl)ethylamino)-2-(5-fluoropyridin-3-yl)-9H-purin-9-yl)propan-1-ol was separated into the individual enantiomers using preparative chiral HPLC on a 21x250 mm Lux-Cellulose-2 (Phenomenex) chiral column. A 3mg/ml solution of the racemate in methanol was prepared and loaded onto the column with 0.5 ml solution per

injection. The column was eluted with 85/7.5/7.5 hexane/ethanol/methanol at a flow rate of 20 mL/min for 25 min. Peaks 1 and 2 were eluted at 20 min and 22.5 min, respectively. Analytical chromatography was performed on a 4.6 x 100 mm Lux_Cellulose-2 (Phenomenex) chiral column, eluting with 90/5/5 hexane/ethanol/methanol at 1 mL/min for 20 min. Peaks 1 and 2 were eluted at 17.45 and 18.14 min, respectively.

Example 157R

(R)-2-(6-(2-(1H-indol-3-yl)ethylamino)-2-(5-fluoropyridin-3-yl)-9H-purin-9-yl)propan-1-ol

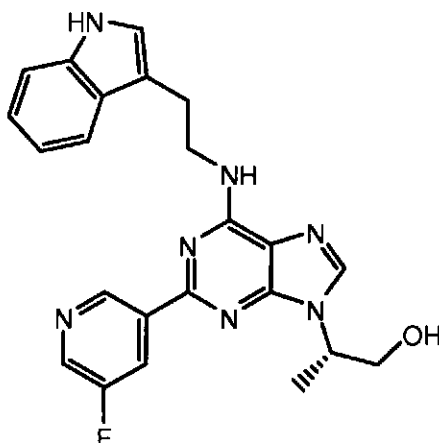


[00235] **Synthesis of (R)-N-(2-(1H-indol-3-yl)ethyl)-9-(1-(benzyloxy)propan-2-yl)-2-(5-fluoropyridin-3-yl)-9H-purin-6-amine (b):** Following, in succession, the procedures of Example 153b (using 2,6-dichloro-9H-purine and (S)-1-(benzyloxy)propan-2-ol as reactants), Example 153c (using tryptamine as reactant), and Example 153d (using 5-fluoropyridin-3-ylboronic acid as reactant), the title compound was obtained.

[00236] **Synthesis of (R)-2-(6-(2-(1H-indol-3-yl)ethylamino)-2-(5-fluoropyridin-3-yl)-9H-purin-9-yl)propan-1-ol (c):** A solution of (R)-N-(2-(1H-indol-3-yl)ethyl)-9-(1-(benzyloxy)propan-2-yl)-2-(5-fluoropyridin-3-yl)-9H-purin-6-amine (b) (0.15 g, 0.29 mmol) in DCM (10 ml) was treated with BCl₃ (1M, 2.9 ml, 2.9 mmol) in DCM (10 ml) at -78 °C for 2 hr. 1N aqueous sodium hydroxide solution was added, and the mixture was extracted with DCM. The combined organic extracts were dried over sodium sulfate, filtered, and concentrated and the residue was purified by silica gel column chromatography (5% MeOH in DCM eluant) to provide the title compound. MS *m/z* 432.2 (M + 1).

Example 157S

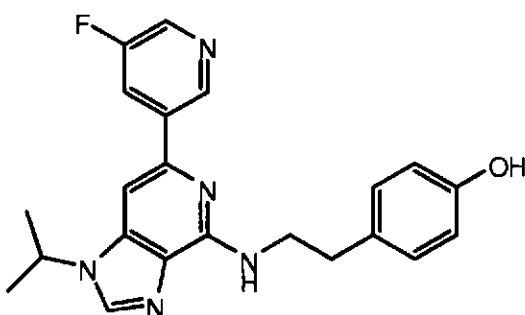
(S)-2-(6-(2-(1H-indol-3-yl)ethylamino)-2-(5-fluoropyridin-3-yl)-9H-purin-9-yl)propan-1-ol



[00237] Following the procedure of Example 157R, but employing (R)-1-(benzyloxy)propan-2-ol in place of (S)-1-(benzyloxy)propan-2-ol, the title compound was prepared. MS m/z 432.2 ($M + 1$).

Example 161

4-(2-(6-(5-Fluoropyridin-3-yl)-1-isopropyl-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-4-ylamino)ethyl)phenol



[00238] **Synthesis of 4,6-dichloro-1-isopropyl-1H-imidazo[4,5-c]pyridine (b):** Following the procedure of Example 15b, 4,6-dichloro-1H-imidazo[4,5-c]pyridine (J. Het. Chem. 1965, 196-201) (0.19 g, 1.0 mmol) was reacted with 2-iodopropane. The residue was purified by silica gel chromatography (25 to 35% ethyl acetate in hexane eluant) to afford the title compound as a solid. MS m/z 230.2 ($M + 1$).

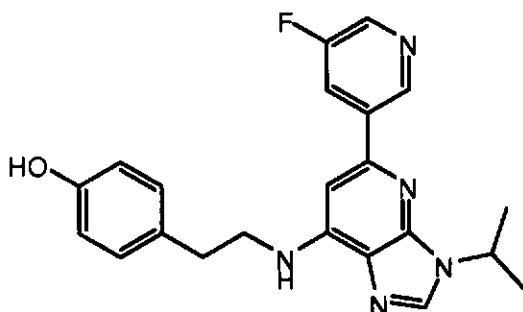
[00239] **Synthesis of 4-(2-(6-chloro-1-isopropyl-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-4-ylamino)ethyl)phenol (c):** A mixture of 4,6-dichloro-1-isopropyl-1H-imidazo[4,5-c]pyridine (b) (40 mg, 0.17 mmol), tyramine (120 mg, 0.86 mmol), and 2-butanol (2 mL) was heated under

microwave irradiation at 140 °C for 8 hr. The mixture was concentrated and the residue was purified by reverse-phase HPLC (C₁₈ column, eluting with ACN-H₂O 0.05% TFA) to afford the title compound as an off-white solid. MS *m/z* 331.1 (M + 1).

[00240] Synthesis of 4-(2-(6-(5-fluoropyridin-3-yl)-1-isopropyl-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-4-ylamino)ethyl)phenol (d): A 5 ml microwave reaction vial was charged with 4-(2-(6-chloro-1-isopropyl-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-4-ylamino)ethyl)phenol (c): (17 mg, 0.051 mmol), 5-fluoropyridin-3-ylboronic acid (72 mg, 0.51 mmol), and tetrakis(triphenylphosphine)palladium(0) (36 mg, 0.031 mmol). To this mixture was added toluene (1 ml), ethanol (0.5 ml) and aqueous sodium carbonate solution (2M, 0.5 ml). The vial was sealed and the reaction mixture was stirred at 140 °C under microwave irradiation for 2 hours. Water was added to the cooled mixture, which was extracted with ethyl acetate (5 ml x 3). The organic fractions were combined, dried over sodium sulfate, and concentrated. The residue was purified by reverse-phase HPLC (C₁₈ column, eluting with ACN-H₂O 0.05% TFA) to afford the title compound as an off-white solid.

Example 177

4-(2-(5-(5-Fluoropyridin-3-yl)-3-isopropyl-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-7-ylamino)ethyl)phenol



[00241] Synthesis of 5,7-dichloro-3-isopropyl-3H-imidazo[4,5-b]pyridine (b): Following the procedure of Example 15b, 5,7-dichloro-3H-imidazo[4,5-b]pyridine (J. Med. Chem., 2007, 50, 828–834) (0.118 g, 0.624 mmol) was reacted with 2-iodopropane. The crude product mixture was purified by silica gel chromatography (25 to 35% ethyl acetate in hexane eluant) to afford a mixture of the title compound (major) and an isomeric product as a solid. MS *m/z* 230.2 (M + 1).

[00242] Synthesis of 4-(2-(5-chloro-3-isopropyl-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-7-ylamino)ethyl)phenol (c): The product mixture containing 5,7-dichloro-3-isopropyl-3H-

49

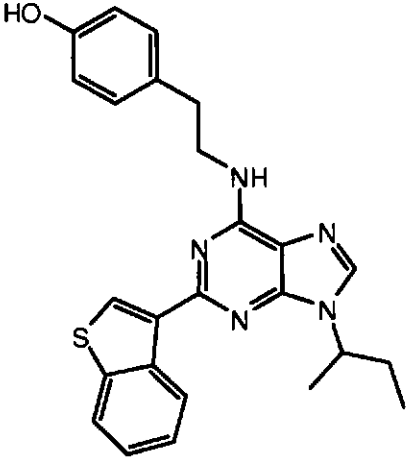
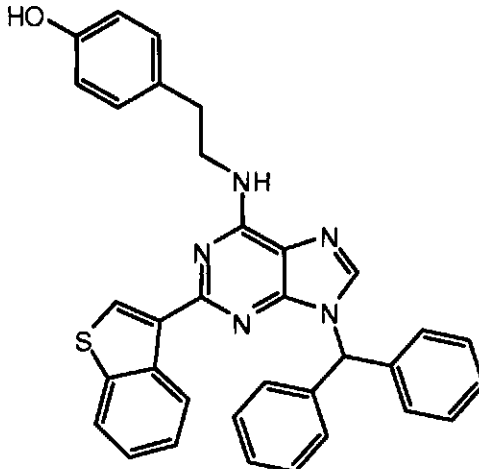
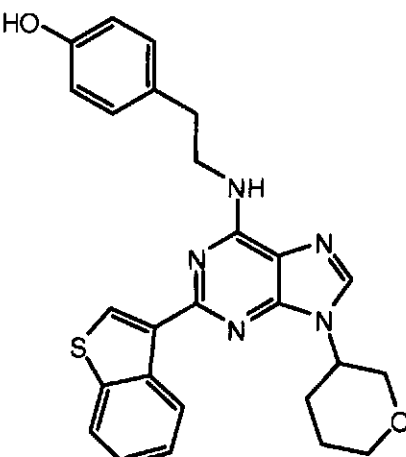
imidazo[4,5-b]pyridine (b) (40 mg, 0.17 mmol), tyramine (120 mg, 0.87 mmol), and 2-propanol (2 mL) was heated in a sealed vial at 140 °C for 72 hr. The mixture was concentrated, and the residue was purified by preparative TLC (1:2 hexanes/ethyl acetate eluant) to afford the title compound as an off-white solid. MS *m/z* 331.1 (M + 1).

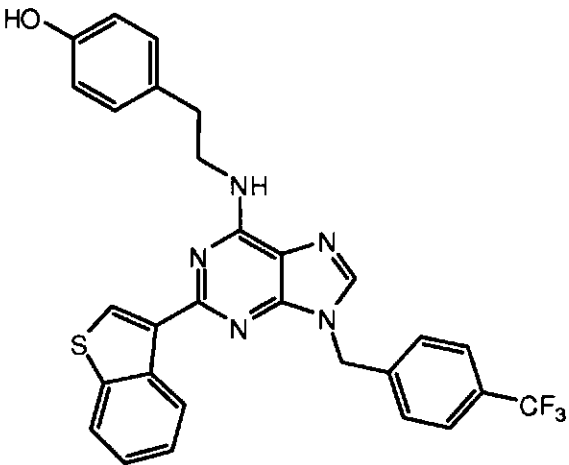
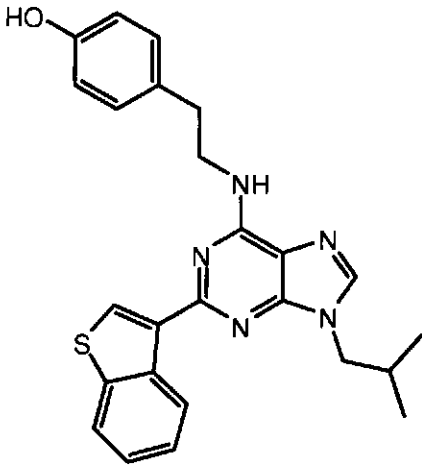
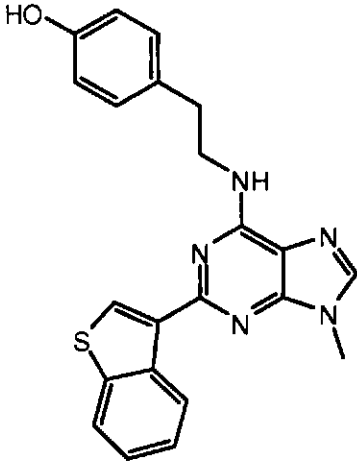
[00243] Synthesis of 4-(2-(5-(5-fluoropyridin-3-yl)-3-isopropyl-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-7-ylamino)ethyl)phenol (d): Following the procedure of Example 161d, 4-(2-(5-chloro-3-isopropyl-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-7-ylamino)ethyl)phenol (c) (15 mg, 0.047 mmol) was reacted with 5-fluoropyridin-3-ylboronic acid. The crude residue was purified preparative TLC (1:1 hexanes/ethyl acetate eluant) to afford the title compound as an off-white solid.

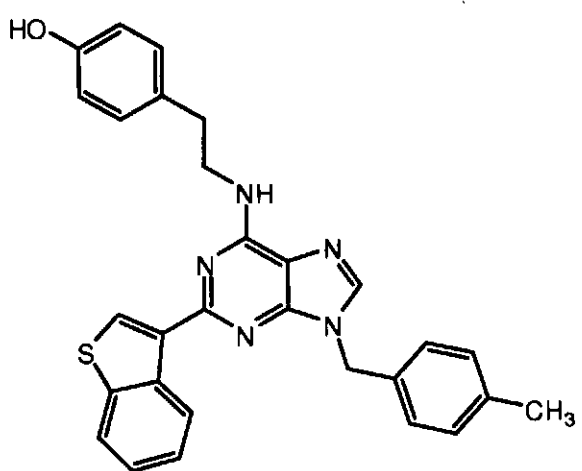
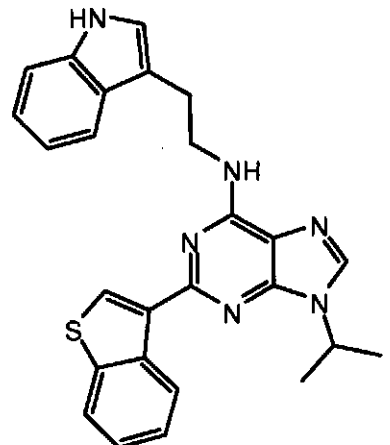
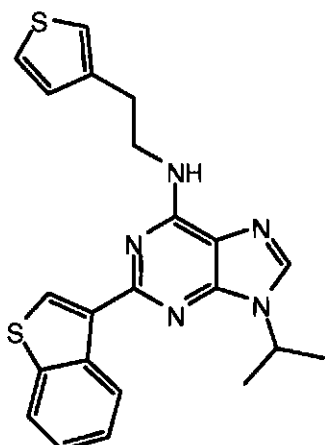
[00244] By repeating the procedures described in the above examples, using appropriate starting materials, the following compounds of Formula I, as identified in Table 1, are obtained.

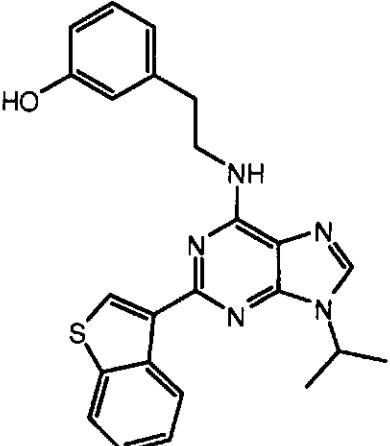
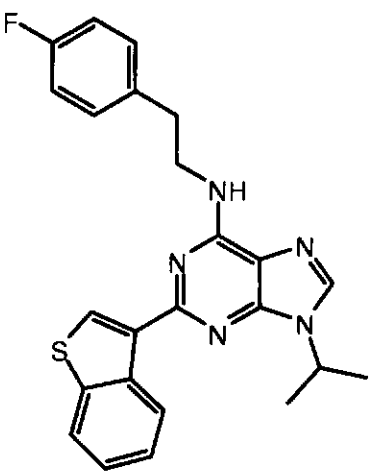
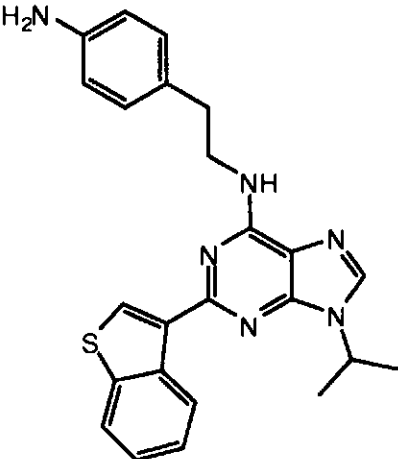
Table 1

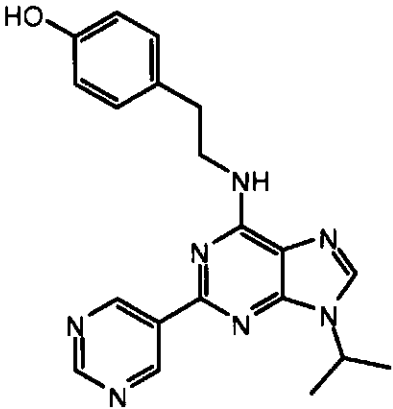
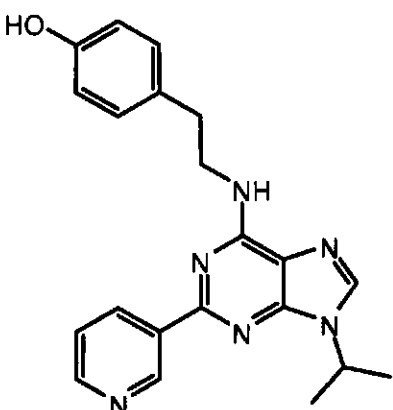
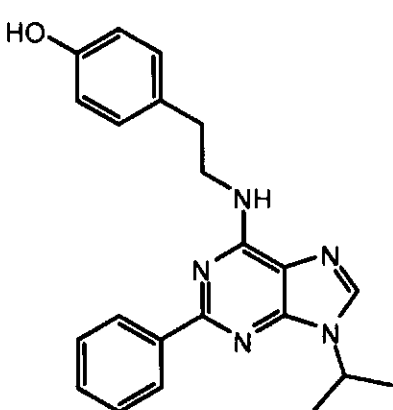
Example Number	Structure	Physical Data ¹ H NMR and/or MS	EC ₅₀ (%CD34+) μM
1		¹ H NMR (500 MHz, CDCl ₃): δ = 9.20 (d, 1H), 8.58 (s, 1H), 8.00-7.80 (m, 2H), 7.55-7.38 (m, 3H), 7.11 (d, 2H), 6.72 (d, 2H), 6.18 (br, 1H), 5.01-4.68 (m, 1H), 4.02 (br, 2H), 3.00 (t, 2H), 1.68 (d, 6H); HRMS (EI) <i>m/z</i> 430.1698 (M+1)	0.12

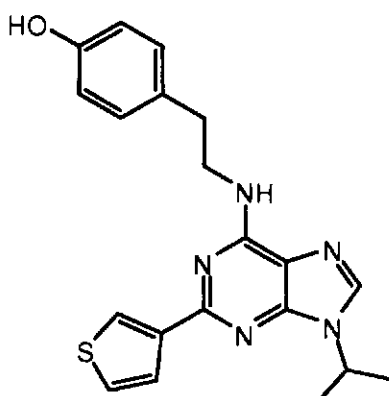
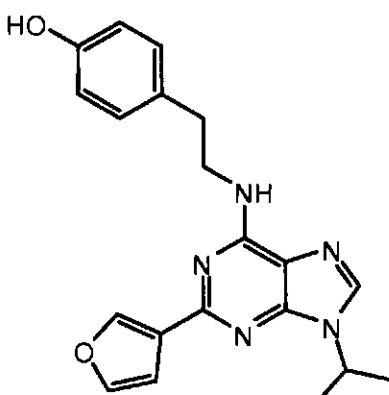
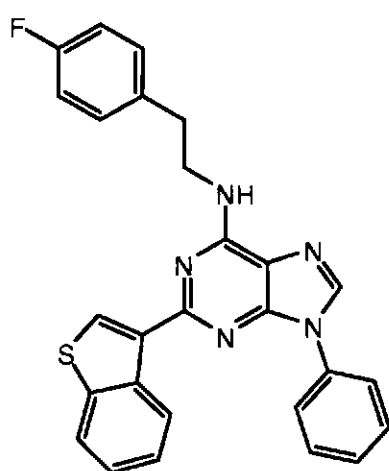
Example Number	Structure	Physical Data ¹ H NMR and/or MS	EC ₅₀ (% CD34+) μM
2		¹ H NMR (500 MHz, CDCl ₃): δ = 9.22 (d, 1H), 8.53 (s, 1H), 7.92 (d, 1H), 7.80 (s, 1H), 7.52-7.33 (m, 3H), 7.13 (d, 2H), 6.74 (d, 2H), 6.08 (br, 1H), 4.80-4.62 (m, 1H), 4.02 (br, 2H), 3.01 (t, 2H), 2.20-1.90 (m, 2H), 1.77 (d, 3H), 0.92 (t, 3H); HRMS (EI) <i>m/z</i> 444.1857 (M+1)	0.03
3		HRMS (EI) <i>m/z</i> 554.2005 (M+1)	0.15
4		HRMS (EI) <i>m/z</i> 472.1807 (M+1)	1.49

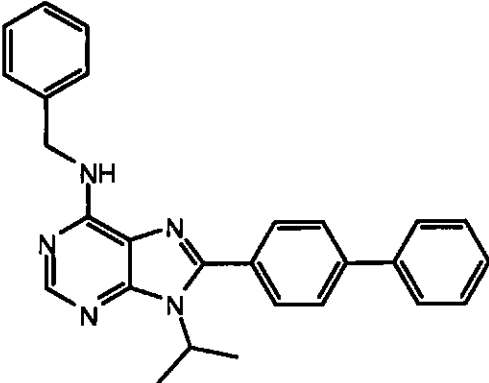
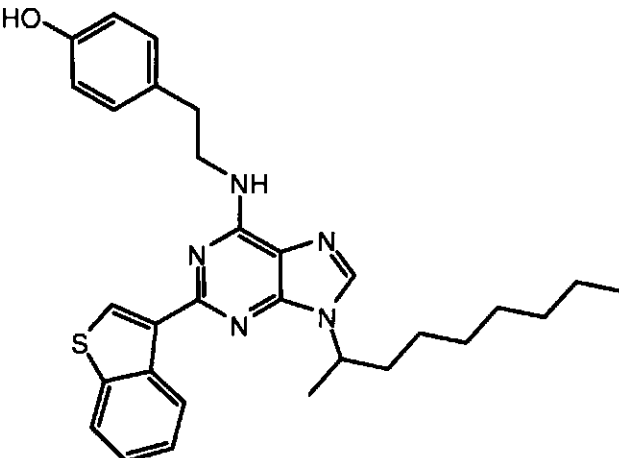
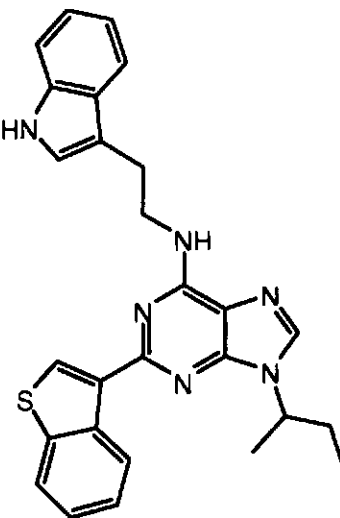
Example Number	Structure	Physical Data ¹ H NMR and/or MS	EC ₅₀ (%CD34+) μM
5		HRMS (EI) <i>m/z</i> 546.1571 (M+1)	2.08
6		HRMS (EI) <i>m/z</i> 444.1857 (M+1)	2.53
7		HRMS (EI) <i>m/z</i> 402.1385 (M+1)	7.2

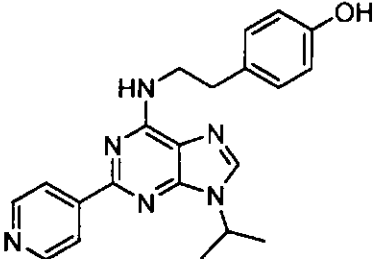
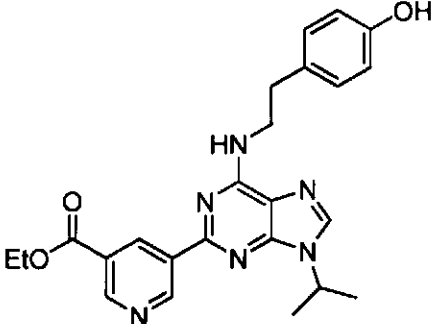
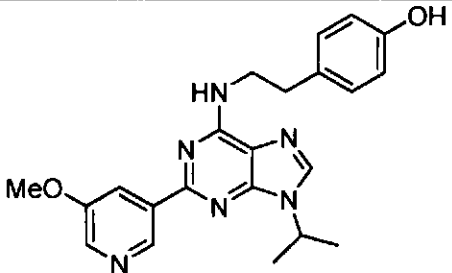
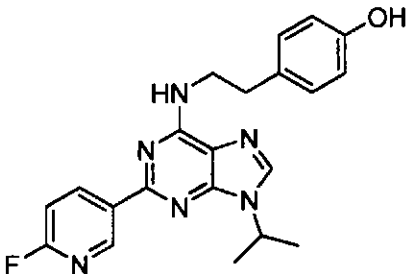
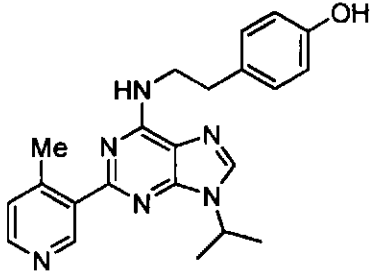
Example Number	Structure	Physical Data ¹ H NMR and/or MS	EC ₅₀ (% CD34+) μM
8		HRMS (EI) <i>m/z</i> 492.1856 (M+1)	6.03
9		¹ H NMR (500 MHz, CDCl ₃): δ = 9.21 (d, 1H), 8.48 (s, 1H), 8.02 (br, 1H), 7.89 (d, 1H), 7.79 (s, 1H), 7.70 (d, 1H), 7.50-7.07 (m, 6H), 5.82 (br, 1H), 5.00-4.88 (m, 1H), 4.13 (br, 2H), 3.22 (t, 2H), 1.69 (d, 6H); HRMS (EI) <i>m/z</i> 453.1857 (M+1)	0.02
10		HRMS (EI) <i>m/z</i> 420.1315 (M+1)	1.38

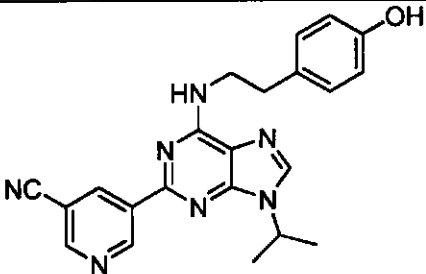
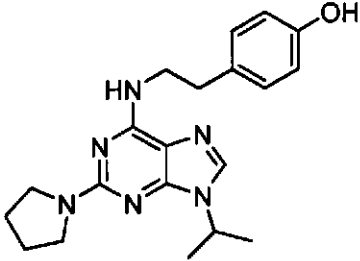
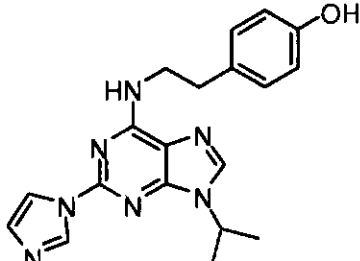
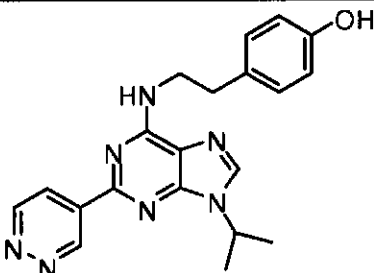
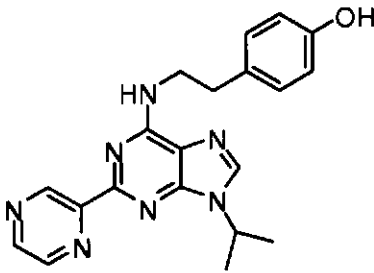
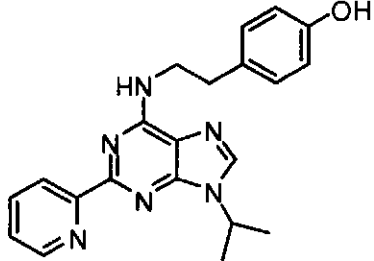
Example Number	Structure	Physical Data ¹ H NMR and/or MS	EC ₅₀ (%CD34+) μM
11		HRMS (EI) <i>m/z</i> 430.1697 (M+1)	1.45
12		HRMS (EI) <i>m/z</i> 432.1655 (M+1)	1.76
13		HRMS (EI) <i>m/z</i> 429.1853 (M+1)	5.75

Example Number	Structure	Physical Data ¹ H NMR and/or MS	EC ₅₀ (% CD34+) μM
14		HRMS (EI) <i>m/z</i> 376.1881 (M+1)	0.17
15		¹ H NMR (400 MHz, CD ₃ OD) δ 9.57 (d, 1H), 8.85-8.83 (m, 1H), 8.59 (q, 1H), 8.16 (s, 1H), 7.57 (q, 1H), 7.13 (d, 2H), 6.72 (d, 2H), 4.98-4.91 (m, 1H), 3.91 (bs, 2H), 2.98 (t, 2H), 1.68 (d, 6H); HRMS (EI) <i>m/z</i> 375.1928 (M+1)	0.19
16		HRMS (EI) <i>m/z</i> 374.1976 (M+1)	0.46

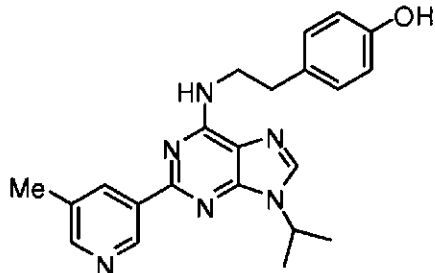
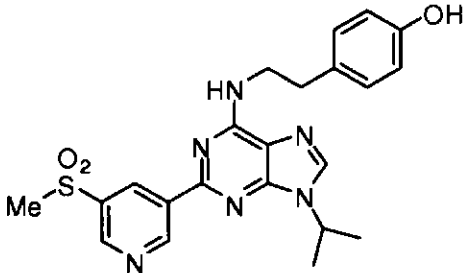
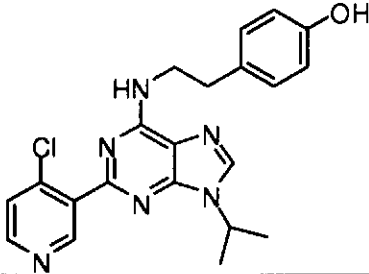
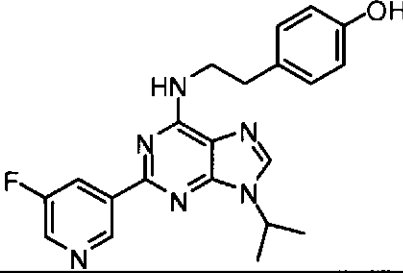
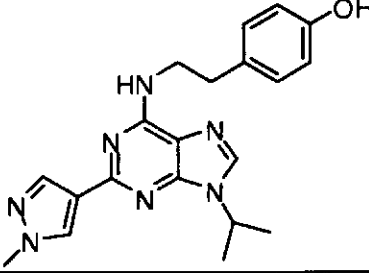
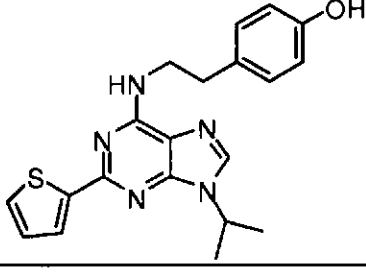
Example Number	Structure	Physical Data ¹ H NMR and/or MS	EC ₅₀ (%CD34+) μM
17		HRMS (EI) <i>m/z</i> 380.1544 (M+1)	0.97
18		HRMS (EI) <i>m/z</i> 364.1769 (M+1)	3.9
19		HRMS (EI) <i>m/z</i> 466.1493 (M+1)	1.1

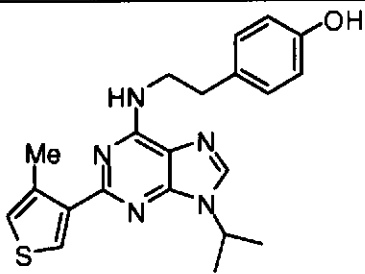
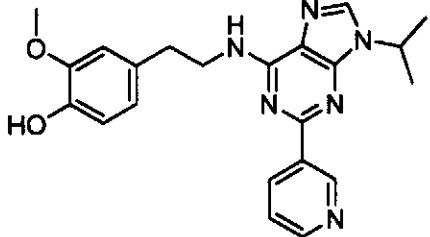
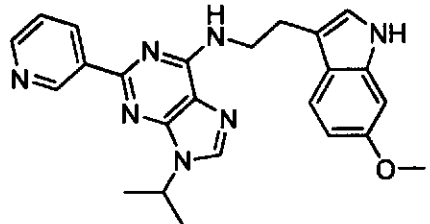
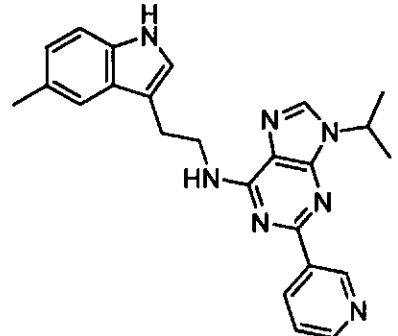
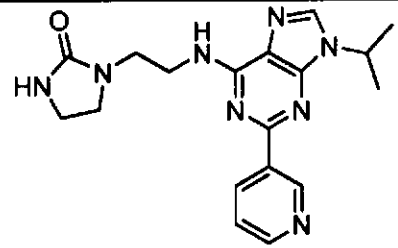
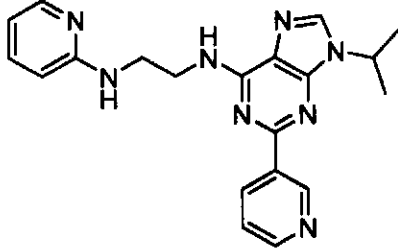
Example Number	Structure	Physical Data ¹ H NMR and/or MS	EC ₅₀ (%CD34+) μM
20		HRMS (EI) <i>m/z</i> 420.2184 (M+1)	7.8
21		HRMS (EI) <i>m/z</i> 514.2638 (M+1)	0.13
23		HRMS (EI) <i>m/z</i> 467.2013 (M+1)	0.019

Example Number	Structure	Physical Data ¹ H NMR and/or MS	EC ₅₀ (%CD34+) μM
31		MS <i>m/z</i> 375.2 (M + 1)	0.66
32		MS <i>m/z</i> 447.2 (M + 1)	5.6
33		MS <i>m/z</i> 405.2 (M + 1)	0.27
34		MS <i>m/z</i> 393.2 (M + 1)	0.16
35		MS <i>m/z</i> 389.2 (M + 1)	0.34

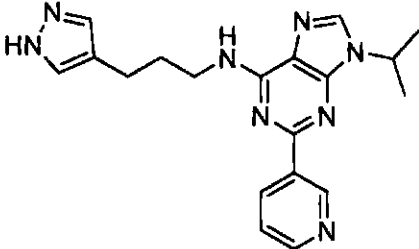
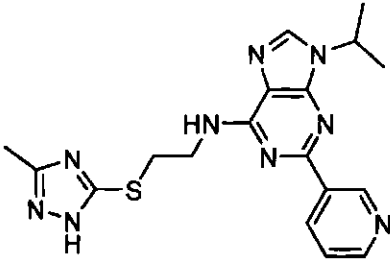
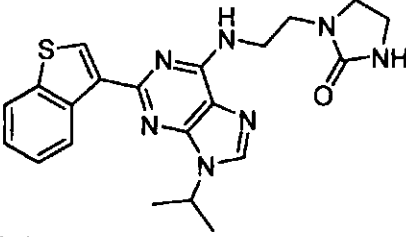
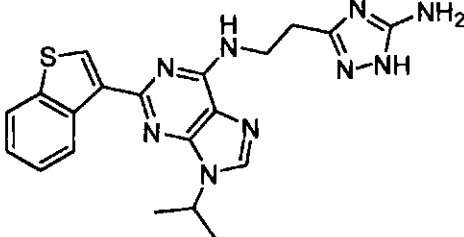
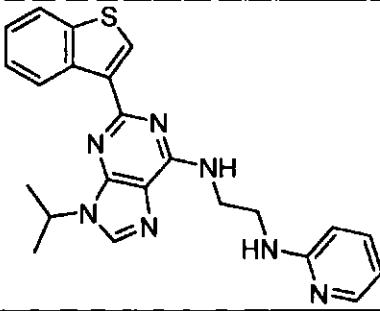
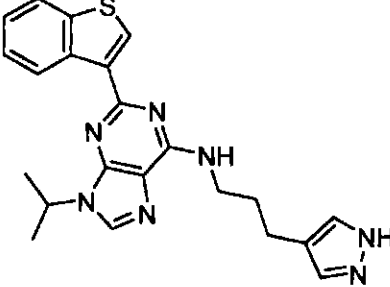
Example Number	Structure	Physical Data ¹ H NMR and/or MS	EC ₅₀ (%CD34+) μM
37		MS <i>m/z</i> 400.2 (M + 1)	0.024
38		MS <i>m/z</i> 367.2 (M + 1)	1.6
40		MS <i>m/z</i> 364.2 (M + 1)	0.26
42		MS <i>m/z</i> 376.2 (M + 1)	0.64
43		MS <i>m/z</i> 376.2 (M + 1)	2.4
44		MS <i>m/z</i> 375.2 (M + 1)	1.7

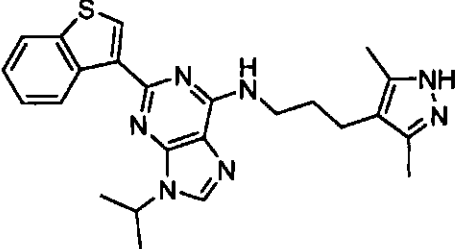
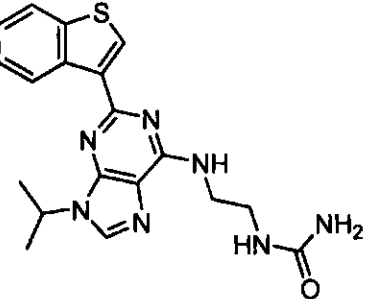
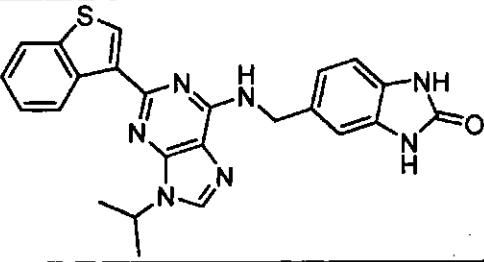
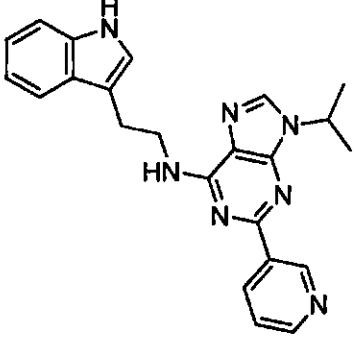
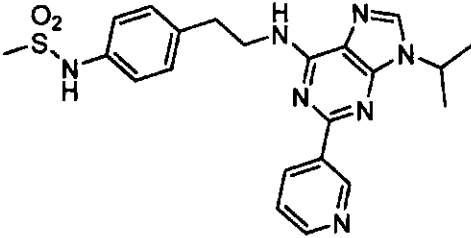
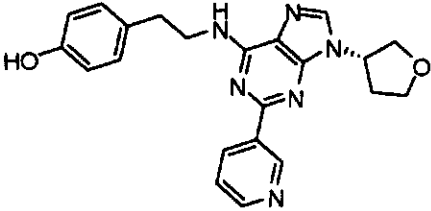
59

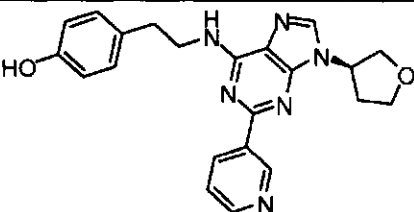
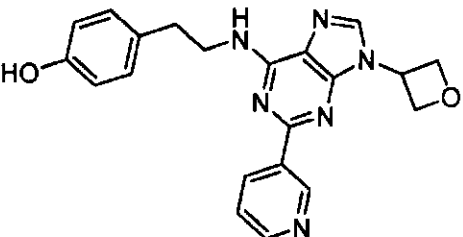
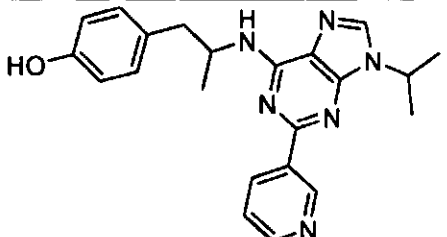
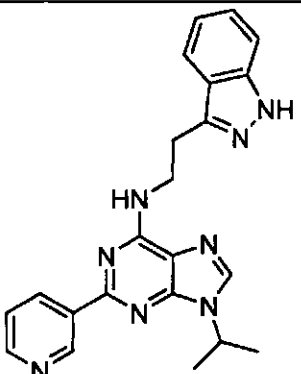
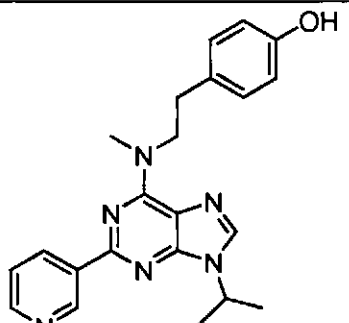
Example Number	Structure	Physical Data ¹ H NMR and/or MS	EC ₅₀ (%CD34+) μM
45		MS <i>m/z</i> 389.2 (M + 1)	0.063
46		MS <i>m/z</i> 453.2 (M + 1)	0.65
48		MS <i>m/z</i> 409.2 (M + 1)	0.51
50		MS <i>m/z</i> 393.2 (M + 1)	0.034
52		MS <i>m/z</i> 378.2 (M + 1)	
55		MS <i>m/z</i> 380.2 (M + 1)	1.3

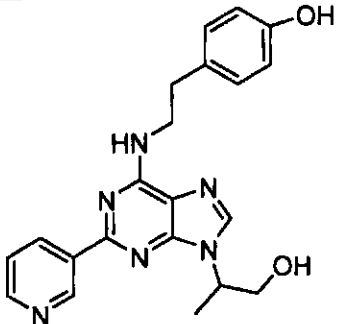
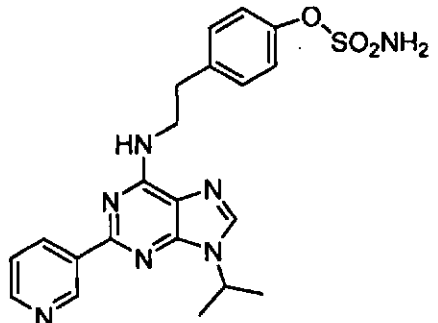
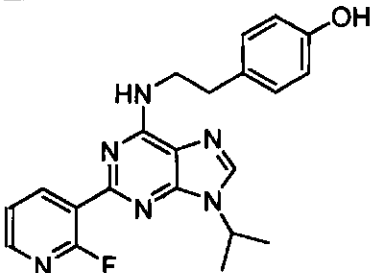
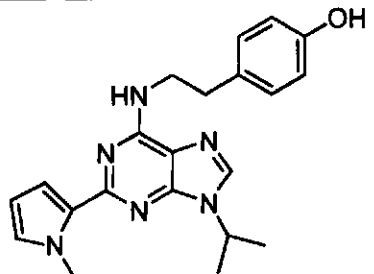
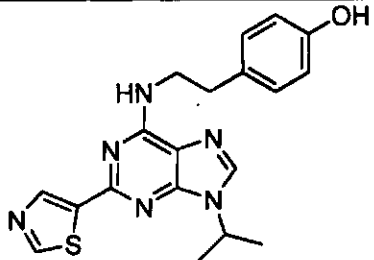
Example Number	Structure	Physical Data ¹ H NMR and/or MS	EC ₅₀ (%CD34+) μM
58		MS <i>m/z</i> 394.2 (M + 1)	0.24
60		MS <i>m/z</i> 405.1 (M + 1)	3.2
61		MS <i>m/z</i> 428.1 (M + 1)	0.13
62		MS <i>m/z</i> 412.1 (M + 1)	0.72
70		MS <i>m/z</i> 367.2 (M + 1)	2.7
72		MS <i>m/z</i> 375.2 (M + 1)	6.3

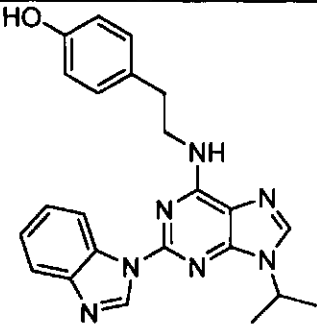
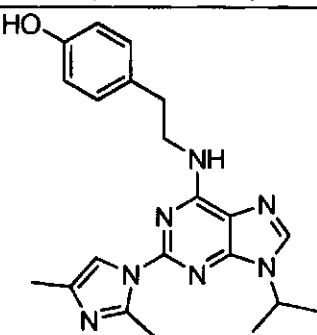
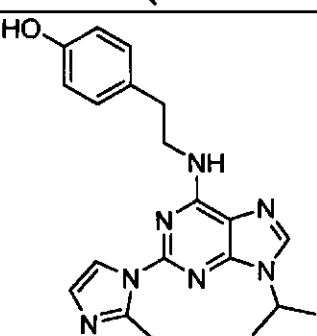
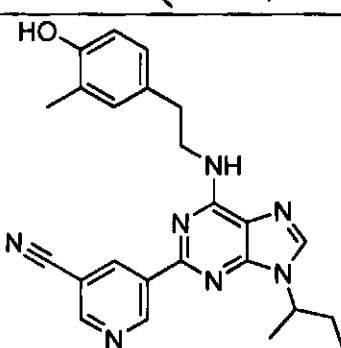
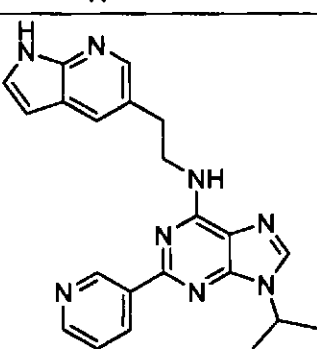
55

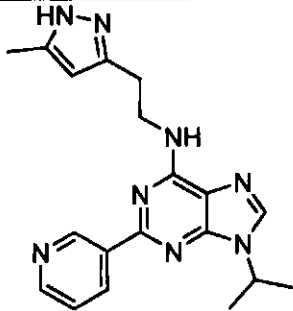
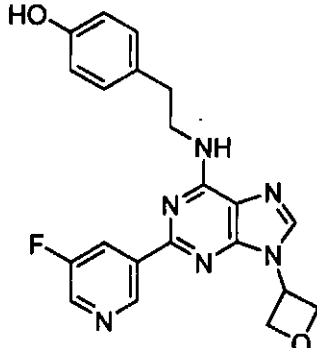
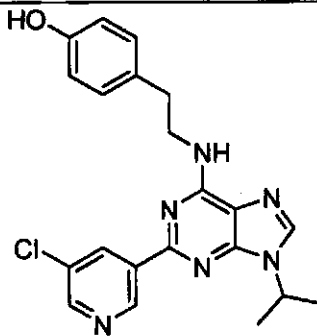
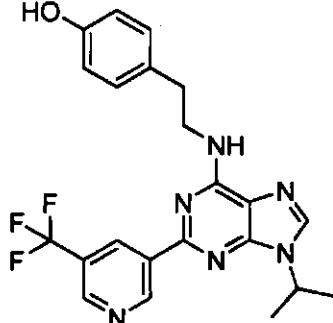
Example Number	Structure	Physical Data ¹ H NMR and/or MS	EC ₅₀ (%CD34+) μM
73		MS <i>m/z</i> 363.2 (M + 1)	8.2
76		MS <i>m/z</i> 396.2 (M + 1)	6.0
81		MS <i>m/z</i> 422.1 (M + 1)	2.7
82		MS <i>m/z</i> 420.1 (M + 1)	7.9
83		MS <i>m/z</i> 430.1 (M + 1)	7.1
84		MS <i>m/z</i> 418.1 (M + 1)	5.4

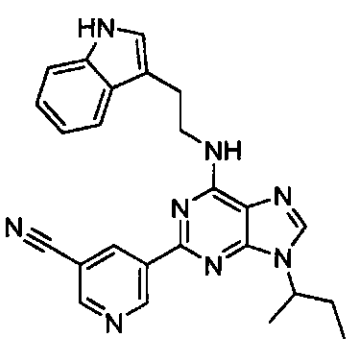
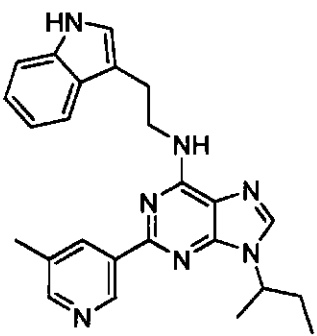
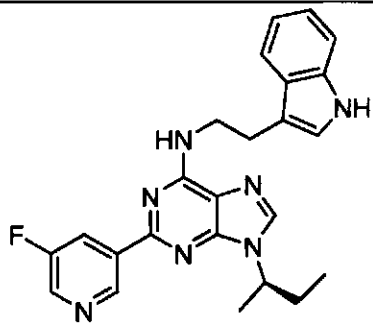
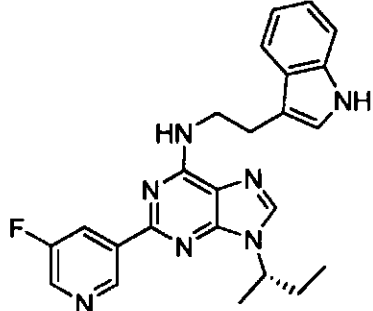
Example Number	Structure	Physical Data ¹ H NMR and/or MS	EC ₅₀ (%CD34+) μM
88		MS <i>m/z</i> 446.10 (M + 1)	2.6
89		MS <i>m/z</i> 396.10 (M + 1)	1.4
90		MS <i>m/z</i> 456.2 (M + 1)	3.3
91		MS <i>m/z</i> 398.1 (M + 1)	0.029
92		MS <i>m/z</i> 452.2 (M + 1)	7.1
93S		MS <i>m/z</i> 403.1 (M + 1)	1.1

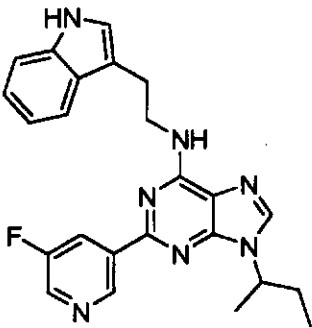
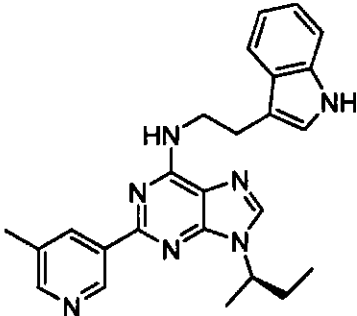
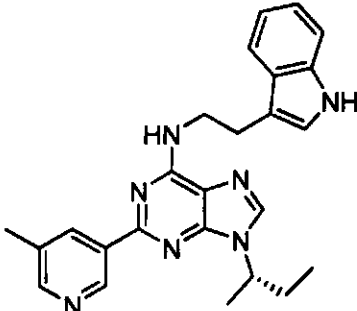
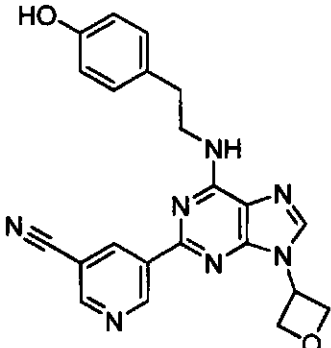
Example Number	Structure	Physical Data ¹ H NMR and/or MS	EC ₅₀ (%CD34+) μM
93R		MS <i>m/z</i> 403.1 (M + 1)	0.52
94		MS <i>m/z</i> 389.1 (M + 1)	0.97
95		MS <i>m/z</i> 389.1 (M + 1)	2.3
98		MS <i>m/z</i> 399.2 (M + 1)	8.2
99		MS <i>m/z</i> 389.2 (M + 1)	7.5

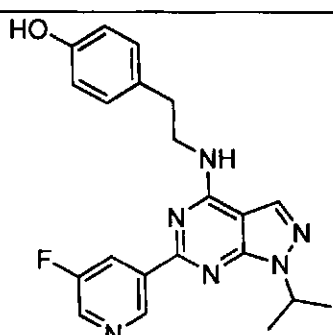
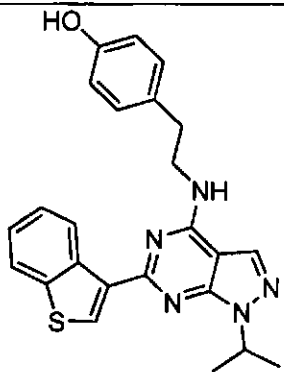
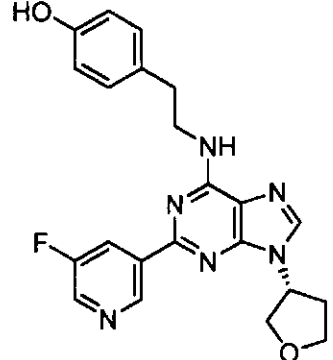
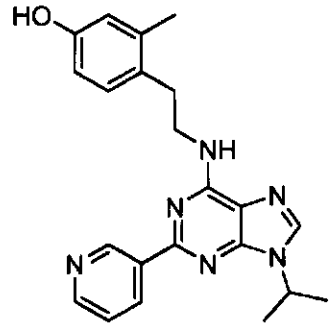
Example Number	Structure	Physical Data ¹ H NMR and/or MS	EC ₅₀ (%CD34+) μM
113		MS <i>m/z</i> 391.2 (M + 1)	0.54
114		MS <i>m/z</i> 454.1 (M + 1)	1.1
118		MS <i>m/z</i> 393.2 (M + 1)	0.45
119		MS <i>m/z</i> 377.2 (M + 1)	1.4
120		MS <i>m/z</i> 381.2 (M + 1)	1.4

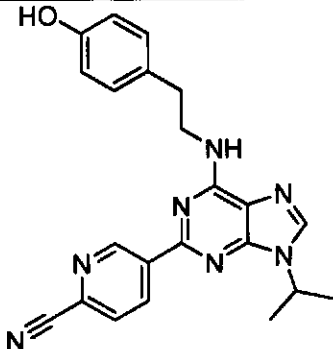
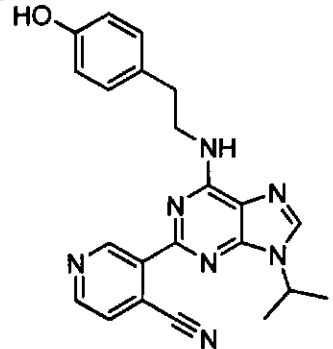
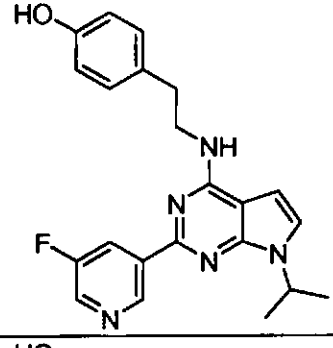
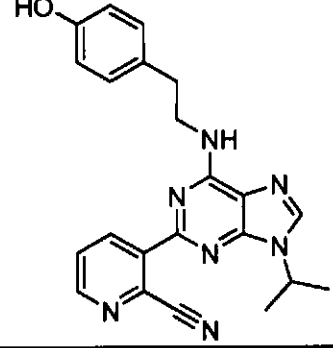
Example Number	Structure	Physical Data ¹ H NMR and/or MS	EC ₅₀ (%CD34+) μM
121		MS <i>m/z</i> 414.2 (M + 1)	0.086
122		MS <i>m/z</i> 414.2 (M + 1)	0.42
123		¹ H NMR (400 MHz, DMSO): δ = 9.21 (br, 1H), 8.57 (t, 1H), 8.36 (s, 1H), 8.23 (d, 1H), 7.70 (d, 1H), 7.04 (d, 2H), 6.66 (d, 2H), 4.84-4.72 (m, 1H), 3.67 (q, 2H), 2.99 (s, 3H), 2.83 (t, 2H), 1.56 (d, 6H); MS <i>m/z</i> 378.2 (M + 1)	0.066
124		MS <i>m/z</i> 428.2 (M + 1)	0.003
125		MS <i>m/z</i> 399.2 (M + 1)	

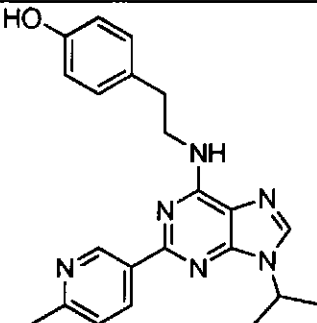
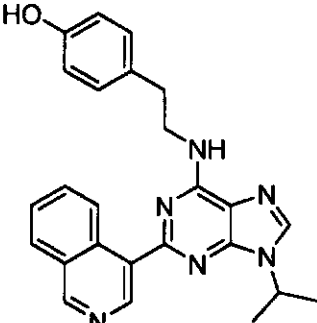
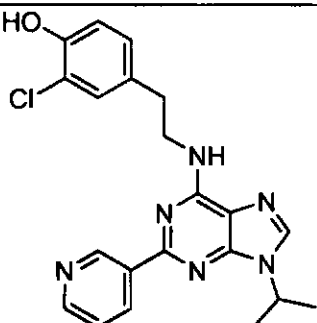
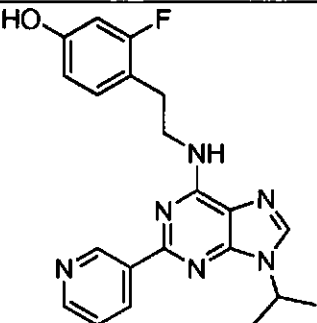
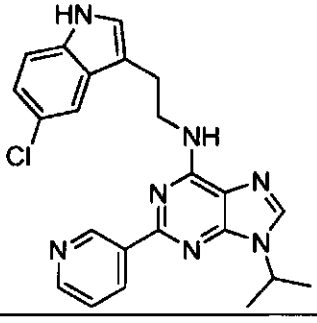
Example Number	Structure	Physical Data ¹ H NMR and/or MS	EC ₅₀ (%CD34+) μM
126		MS <i>m/z</i> 363.2 (M + 1)	5.0
127		MS <i>m/z</i> 407.3 (M + 1)	0.47
128		¹ H NMR (400 MHz, DMSO): δ = 9.47 (s, 1H), 8.71 (s, 1H), 8.67 (s, 1H), 8.32 (s, 1H), 8.04 (t, 1H), 7.10 (d, 2H), 6.69 (d, 2H), 4.91-4.81 (m, 1H), 3.80-3.70 (m, 2H), 2.86 (t, 2H), 1.58 (d, 6H); MS <i>m/z</i> 409.2 (M + 1)	0.019
129		MS <i>m/z</i> 443.2 (M + 1)	0.12

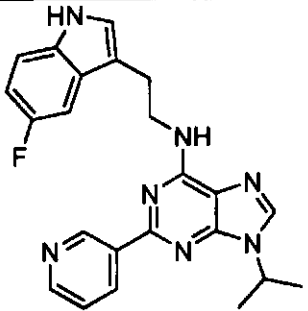
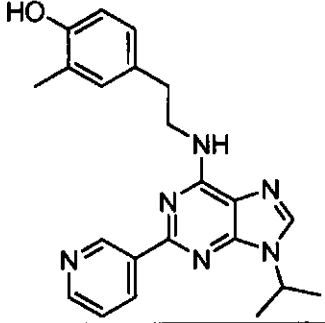
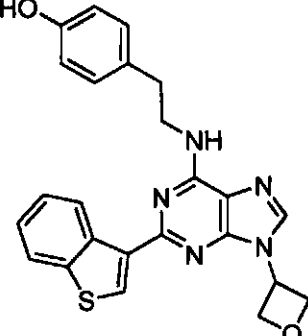
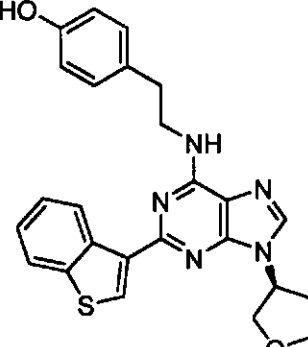
Example Number	Structure	Physical Data ¹ H NMR and/or MS	EC ₅₀ (%CD34+) μM
130		¹ H NMR (400 MHz, DMSO): δ = 10.82 (s, 1H), 9.74 (s, 1H), 9.10 (s, 1H), 8.99 (s, 1H), 8.32 (s, 1H), 8.13 (t, 1H), 7.65 (d, 1H), 7.32 (d, 1H), 7.22 (s, 1H), 7.06 (t, 1H), 6.99 (t, 1H), 4.72-4.60 (m, 1H), 3.96-3.85 (m, 2H), 3.08 (t, 2H), 2.08-1.88 (m, 2H), 1.58 (d, 3H), 0.77 (t, 3H); MS <i>m/z</i> 437.2 (M + 1)	0.001
131		¹ H NMR (400 MHz, DMSO): δ = 10.83 (s, 1H), 9.40 (s, 1H), 8.97 (s, 1H), 8.76 (s, 1H), 8.35 (s, 1H), 8.18 (t, 1H), 7.62 (d, 1H), 7.33 (d, 1H), 7.23 (s, 1H), 7.06 (t, 1H), 6.97 (t, 1H), 4.72-4.60 (m, 1H), 3.96-3.82 (m, 2H), 3.10 (t, 2H), 2.53 (s, 3H), 2.09-1.89 (m, 2H), 1.58 (d, 3H), 0.77 (t, 3H); MS <i>m/z</i> 426.2 (M + 1)	0.004
131R		MS <i>m/z</i> 430.2 (M + 1)	0.001
131S		MS <i>m/z</i> 430.2 (M + 1)	0.002

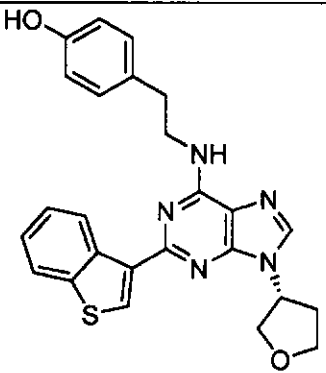
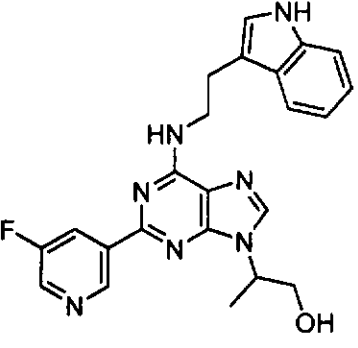
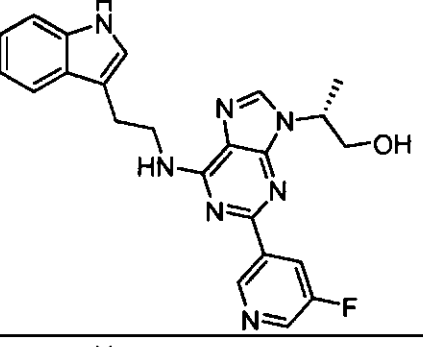
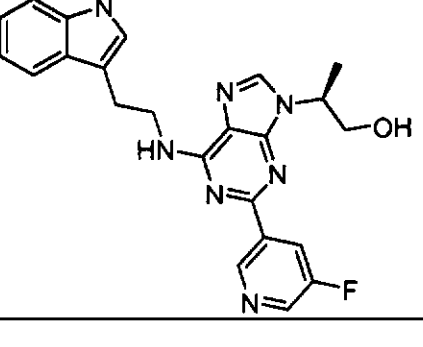
Example Number	Structure	Physical Data ¹ H NMR and/or MS	EC ₅₀ (% CD34+) μM
132		¹ H NMR (400 MHz, DMSO): δ = 10.83 (s, 1H), 9.42 (s, 1H), 8.66 (s, 1H), 8.41 (d, 1H), 8.31 (s, 1H), 8.09 (t, 1H), 7.64 (d, 1H), 7.34 (d, 1H), 7.22 (s, 1H), 7.07 (t, 1H), 6.97 (t, 1H), 4.68-4.60 (m, 1H), 3.92-3.84 (m, 2H), 3.08 (t, 2H), 2.08-1.90 (m, 2H), 1.58 (d, 3H), 0.77 (t, 3H); MS <i>m/z</i> 430.2 (M + 1)	0.003
132R		MS <i>m/z</i> 426.2 (M + 1)	0.003
132S		MS <i>m/z</i> 426.2 (M + 1)	0.003
133		MS <i>m/z</i> 414.2 (M + 1)	0.18

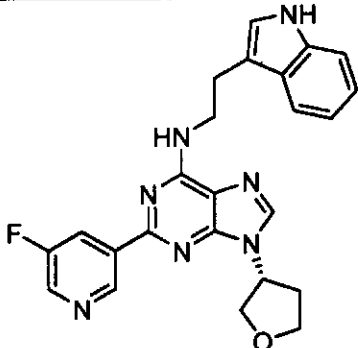
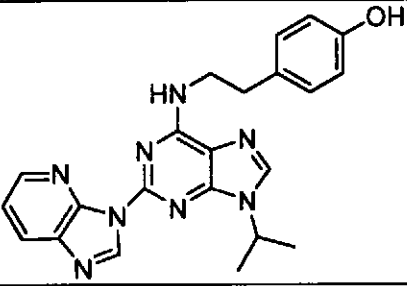
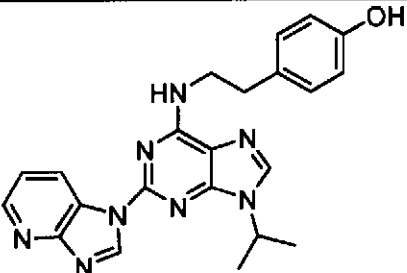
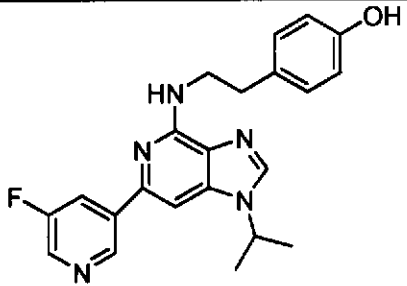
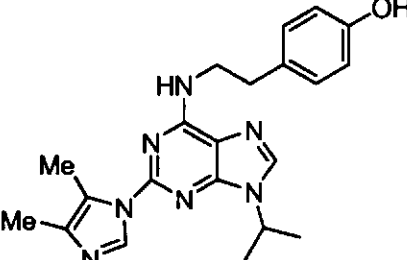
Example Number	Structure	Physical Data ¹ H NMR and/or MS	EC ₅₀ (%CD34+) μM
134		¹ H NMR (400 MHz, DMSO): δ = 9.44 (s, 1H), 9.21 (s, 1H), 8.69 (d, 1H), 8.56 (t, 1H), 8.47 (d, 1H), 8.14 (s, 1H), 7.09 (d, 2H), 6.69 (d, 2H), 5.17-5.09 (m, 1H), 3.80-3.75 (m, 2H), 2.87 (t, 2H), 1.48 (d, 6H); MS <i>m/z</i> 393.2 (M + 1)	0.20
135		MS <i>m/z</i> 430.2 (M + 1)	0.38
137		MS <i>m/z</i> 421.1 (M + 1)	
138		MS <i>m/z</i> 389.2 (M + 1)	0.40

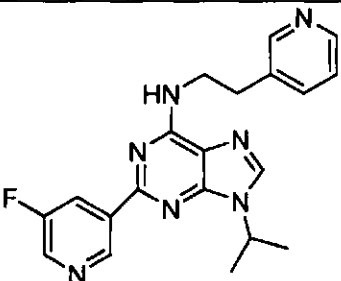
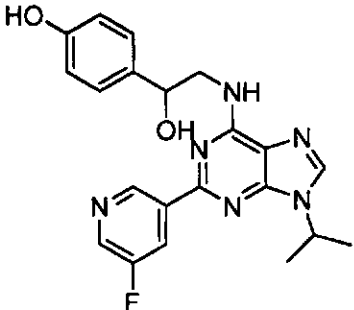
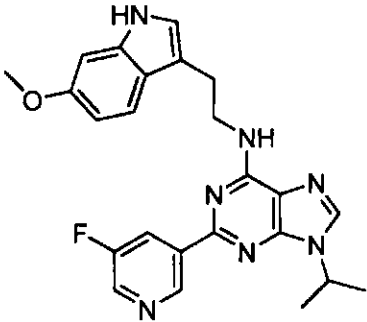
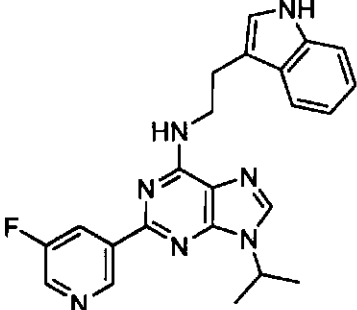
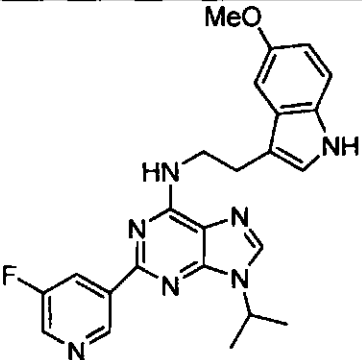
Example Number	Structure	Physical Data ¹ H NMR and/or MS	EC ₅₀ (%CD34+) μM
139		MS <i>m/z</i> 400.2 (M + 1)	1.3
140		MS <i>m/z</i> 400.2 (M + 1)	0.091
141		¹ H NMR (400 MHz, DMSO): δ = 9.42 (s, 1H), 8.63 (d, 1H), 8.42 (d, 1H), 7.79 (t, 1H), 7.35 (d, 1H), 7.09 (d, 2H), 6.70 (d, 2H), 6.61 (d, 1H), 5.08-5.00 (m, 1H), 3.76-3.70 (m, 2H), 2.87 (t, 2H), 1.47 (d, 6H); MS <i>m/z</i> 392.2 (M + 1)	0.16
143		MS <i>m/z</i> 400.2 (M + 1)	4.3

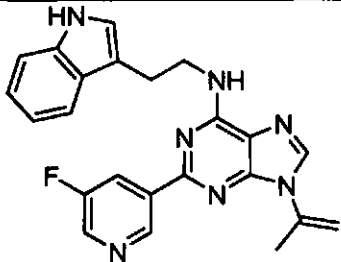
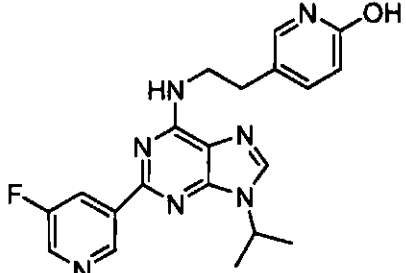
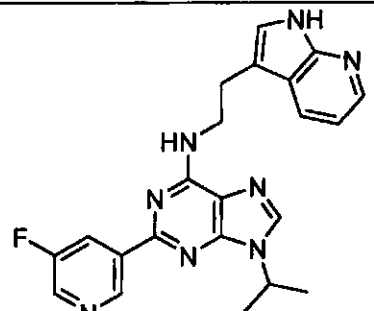
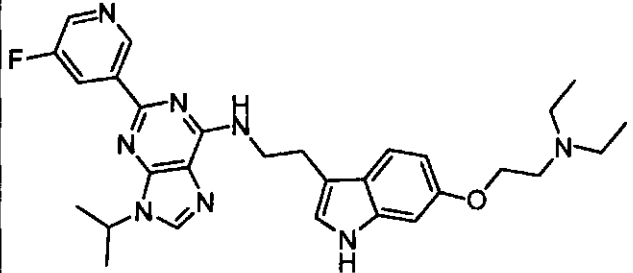
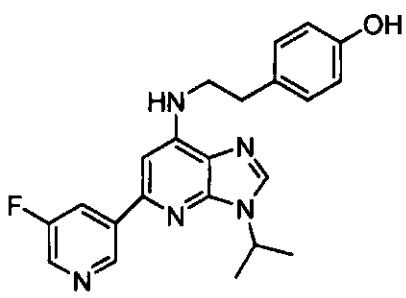
Example Number	Structure	Physical Data ¹ H NMR and/or MS	EC ₅₀ (%CD34+) μM
144		MS <i>m/z</i> 389.2 (M + 1)	0.16
145		MS <i>m/z</i> 425.2 (M + 1)	5.4
146		MS <i>m/z</i> 409.1 (M + 1)	0.24
147		MS <i>m/z</i> 393.2 (M + 1)	0.092
148		MS <i>m/z</i> 432.2 (M + 1)	0.75

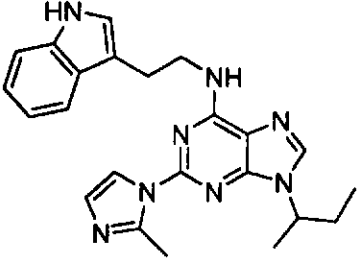
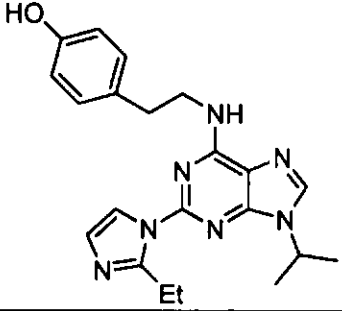
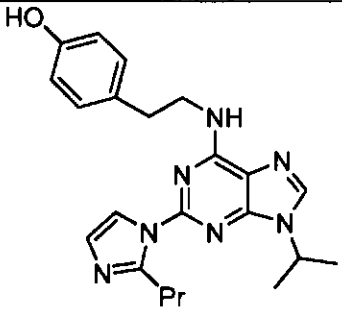
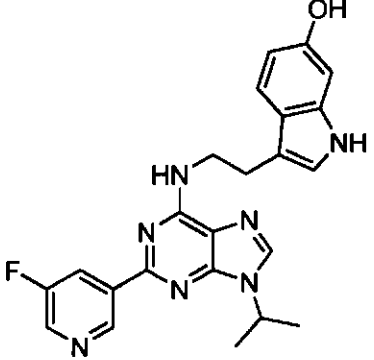
Example Number	Structure	Physical Data ¹ H NMR and/or MS	EC ₅₀ (%CD34+) μM
149		MS <i>m/z</i> 416.2 (M + 1)	0.52
150		MS <i>m/z</i> 389.2 (M + 1)	0.057
151		MS <i>m/z</i> 444.1 (M + 1)	0.17
152		MS <i>m/z</i> 458.2 (M + 1)	0.35

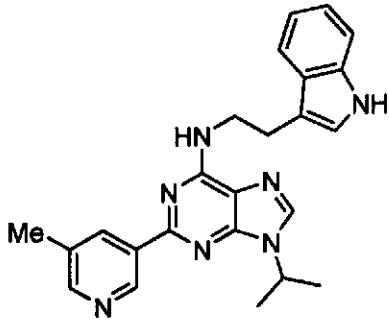
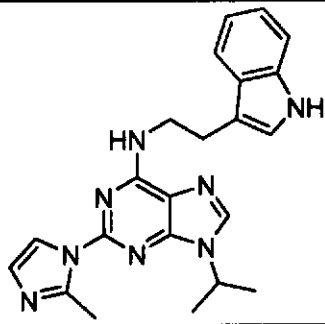
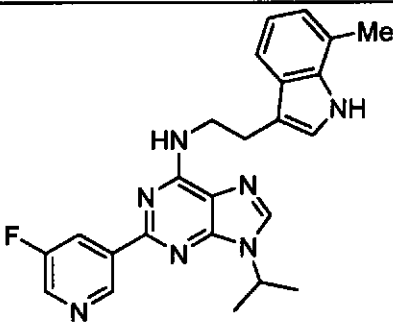
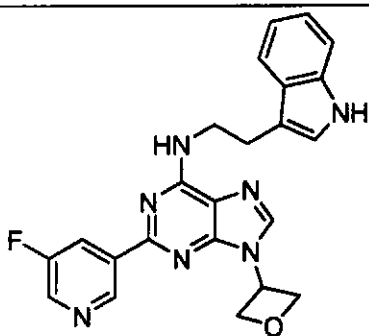
Example Number	Structure	Physical Data ¹ H NMR and/or MS	EC ₅₀ (%CD34+) μM
153		¹ H NMR (400 MHz, CD ₃ OD): δ = 9.14 (s, 1H), 8.55 (s, 1H), 8.33 (s, 1H), 7.96 (d, 1H), 7.44 (t, 1H), 7.15 (d, 2H), 6.73 (d, 2H), 5.46-5.43 (m, 1H), 4.27-3.94 (m, 6H), 2.98 (t, 2H), 2.73-2.64 (m, 1H), 2.46-2.39 (m, 1H); MS <i>m/z</i> 458.2 (M + 1)	0.22
157		¹ H NMR (400 MHz, CD ₃ OD): δ = 9.40 (s, 1H), 8.53-8.48 (m, 2H), 8.23 (s, 1H), 7.65 (d, 1H), 7.31 (d, 1H), 7.11 (s, 1H), 7.08-7.04 (m, 1H), 7.01-6.97 (m, 1H), 4.08-4.03 (m, 3H), 3.94 (dd, 1H), 3.35-3.30 (m, 1H), 3.19 (t, 2H), 1.68 (d, 3H); MS <i>m/z</i> 432.2 (M + 1)	0.005
157R		MS <i>m/z</i> 432.2 (M + 1).	0.008
157S		MS <i>m/z</i> 432.2 (M + 1)	0.003

Example Number	Structure	Physical Data ¹ H NMR and/or MS	EC ₅₀ (%CD34+) μM
158		MS <i>m/z</i> 444.2 (M + 1)	0.012
159		MS <i>m/z</i> 415.2 (M + 1)	0.59
160		MS <i>m/z</i> 415.2 (M + 1)	1.9
161		¹ H NMR (400 MHz, DMSO): δ = 9.11 (s, 1H), 8.64 (s, 1H), 8.51 (s, 1H), 8.30 (d, 1H), 7.74 (s, 1H), 7.09 (d, 2H), 6.69 (d, 2H), 4.88-4.76 (m, 1H), 3.88-3.78 (m, 2H), 2.88 (t, 2H), 1.56 (d, 6H); MS <i>m/z</i> 392.2 (M + 1)	0.17
162		MS <i>m/z</i> 392.2 (M + 1)	0.14

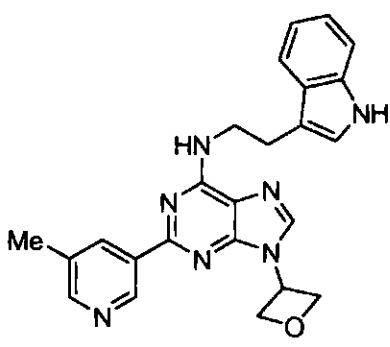
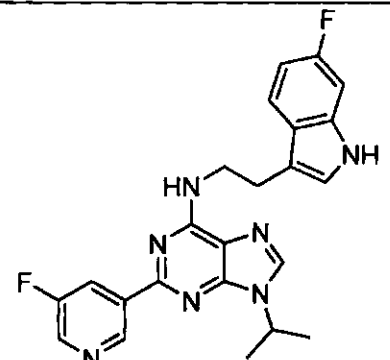
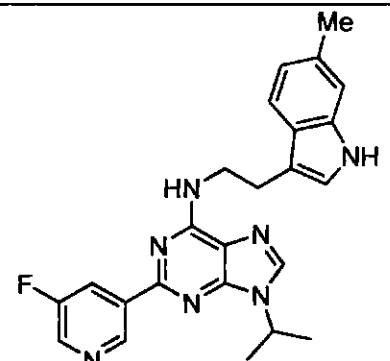
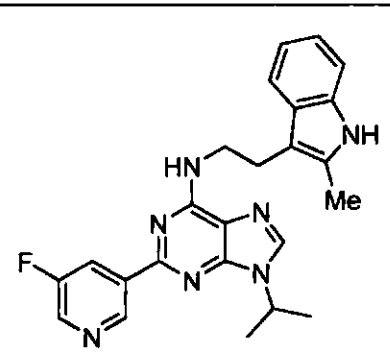
Example Number	Structure	Physical Data ¹ H NMR and/or MS	EC ₅₀ (%CD34+) μM
166		MS <i>m/z</i> 378.1 (M + 1)	7.5
167		MS <i>m/z</i> 409.2 (M + 1)	0.29
169		MS <i>m/z</i> 446.2 (M + 1)	0.044
170		MS <i>m/z</i> 416.2 (M + 1)	0.006
172		MS <i>m/z</i> 446.2 (M + 1)	0.42

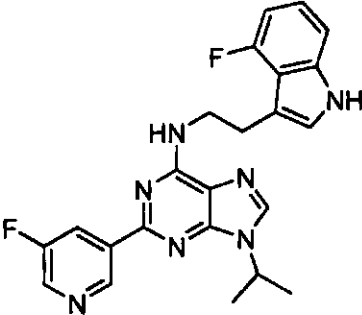
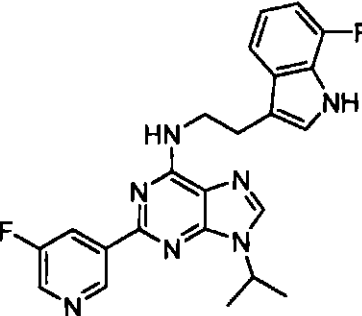
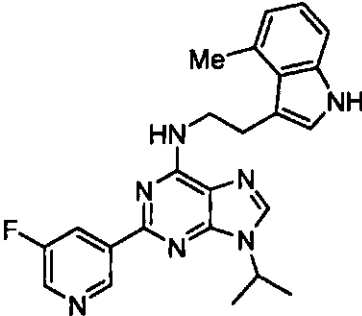
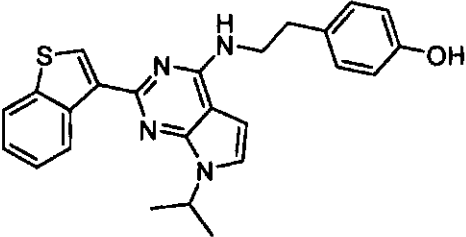
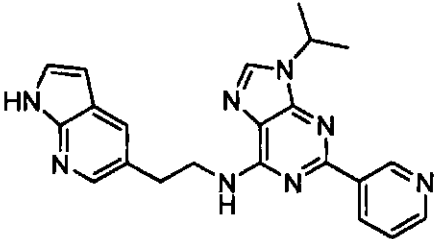
Example Number	Structure	Physical Data ¹ H NMR and/or MS	EC ₅₀ (%CD34+) μM
173		MS <i>m/z</i> 414.1 (M + 1)	0.012
174		MS <i>m/z</i> 394.2 (M + 1)	2.2
175		MS <i>m/z</i> 417.2 (M + 1)	0.42
176		MS <i>m/z</i> 531.3 (M + 1)	1.1
177		¹ H NMR (400 MHz, DMSO): δ = 9.18 (s, 1H), 9.15 (s, 1H), 8.57 (d, 1H), 8.29 (d, 1H), 8.26 (s, 1H), 7.11 (d, 2H), 7.01 (s, 1H), 6.79 (t, 1H), 6.95 (d, 2H), 4.92-4.84 (m, 1H), 3.72-3.62 (m, 2H), 2.83 (t, 2H), 1.56 (d, 6H); MS <i>m/z</i> 392.2 (M + 1)	0.14

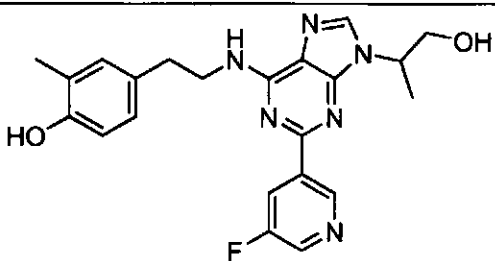
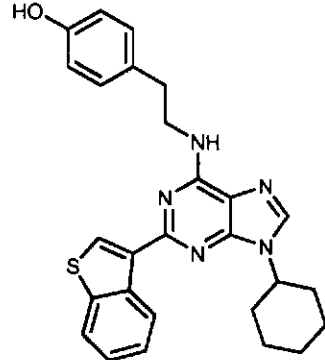
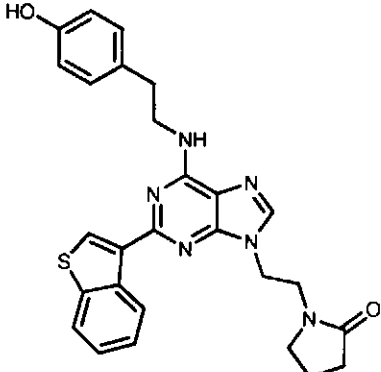
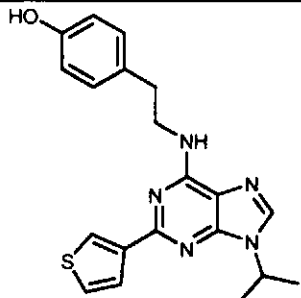
Example Number	Structure	Physical Data ¹ H NMR and/or MS	EC ₅₀ (%CD34+) μM
178		¹ H NMR (400 MHz, DMSO): δ = 10.83 (s, 1H), 8.67 (t, 1H), 8.37 (s, 1H), 8.15 (d, 1H), 7.71 (d, 1H), 7.57 (d, 1H), 7.33 (d, 1H), 7.20 (s, 1H), 7.06 (t, 1H), 6.96 (t, 1H), 4.60-4.48 (m, 1H), 3.86-3.76 (m, 2H), 3.06 (t, 2H), 2.96 (s, 3H), 2.05-1.85 (m, 2H), 1.56 (d, 3H), 0.76 (t, 3H); MS <i>m/z</i> 415.2 (M + 1)	0.003
180		MS <i>m/z</i> 392.2 (M + 1)	0.13
181		MS <i>m/z</i> 406.2 (M + 1)	2.5
182		MS <i>m/z</i> 432.2 (M + 1)	5.1

Example Number	Structure	Physical Data ¹ H NMR and/or MS	EC ₅₀ (% CD34+) μM
183		¹ H NMR (400 MHz, DMSO): δ = 10.84 (s, 1H), 9.37 (s, 1H), 8.52 (s, 1H), 8.50 (s, 1H), 8.29 (s, 1H), 8.01 (t, 1H), 7.66 (d, 1H), 7.34 (d, 1H), 7.23 (m, 1H), 7.07 (t, 1H), 6.98 (t, 1H), 4.89-4.83 (m, 1H), 3.95-3.85 (m, 2H), 3.09 (t, 2H), 2.41 (s, 3H), 1.58 (d, 6H); MS m/z 412.2 (M + 1)	0.01
184		MS m/z 401.2 (M + 1)	0.008
185		MS m/z 430.2 (M + 1)	0.024
186		MS m/z 430.2 (M + 1)	0.007

69

Example Number	Structure	Physical Data ¹ H NMR and/or MS	EC ₅₀ (%CD34+) μM
187		¹ H NMR (400 MHz, DMSO): δ = 10.84 (s, 1H), 9.38 (s, 1H), 8.49 (m, 1H), 8.47 (s, 1H), 8.10 (t, 1H), 7.67 (d, 1H), 7.35 (d, 1H), 7.22 (m, 1H), 7.07 (t, 1H), 6.98 (t, 1H), 5.85-5.78 (m, 1H), 5.17 (t, 2H), 5.03 (t, 2H), 3.84-3.84 (m, 2H), 3.09 (t, 2H), 2.40 (s, 3H); MS <i>m/z</i> 426.2 (M + 1)	0.034
188		MS <i>m/z</i> 434.2 (M + 1)	0.005
189		¹ H NMR (400 MHz, DMSO): δ = 10.65 (s, 1H), 9.42 (s, 1H), 8.68 (m, 1H), 8.41 (d, 1H), 8.34 (s, 1H), 8.08 (t, 1H), 7.53 (d, 1H), 7.12 (m, 2H), 6.81 (d, 1H), 4.90-4.81 (m, 1H), 3.93-3.80 (m, 2H), 3.05 (t, 2H), 2.38 (s, 3H), 1.58 (d, 6H); MS <i>m/z</i> 432.0 (M + 1)	0.026
190		¹ H NMR (400 MHz, DMSO): δ = 10.71 (s, 1H), 9.42 (s, 1H), 8.67 (d, 1H), 8.38 (dd, 1H), 8.32 (s, 1H), 8.05 (t, 1H), 7.55 (d, 1H), 7.21 (d, 1H), 6.98 (t, 1H), 6.93 (t, 1H), 4.92-4.83 (m, 1H), 3.78-3.71 (m, 2H), 2.99 (t, 2H), 2.33 (s, 3H), 1.59 (d, 6H); MS <i>m/z</i> 430.2 (M + 1)	0.005

Example Number	Structure	Physical Data ¹ H NMR and/or MS	EC ₅₀ (%CD34+) μM
195		HPLC-MS calculated MS <i>m/z</i> 434.2 (M + 1)	0.003
196		MS <i>m/z</i> 434.2 (M + 1)	0.002
197		¹ H NMR (400 MHz, DMSO): δ = 10.79 (s, 1H), 9.37 (s, 1H), 8.64 (d, 1H), 8.39 (d, 1H), 8.31 (s, 1H), 8.06 (t, 1H), 7.15 (s, 1H), 7.13 (d, 1H), 6.90 (t, 1H), 6.69 (d, 1H), 4.90-4.83 (m, 1H), 3.83-3.87 (m, 2H), 3.24 (t, 2H), 2.65 (s, 3H), 1.57 (d, 6H); MS <i>m/z</i> 430.2 (M + 1)	0.011
198		MS <i>m/z</i> 429.1 (M + 1)	1.1
199		MS <i>m/z</i> 399.2 (M + 1)	1.6

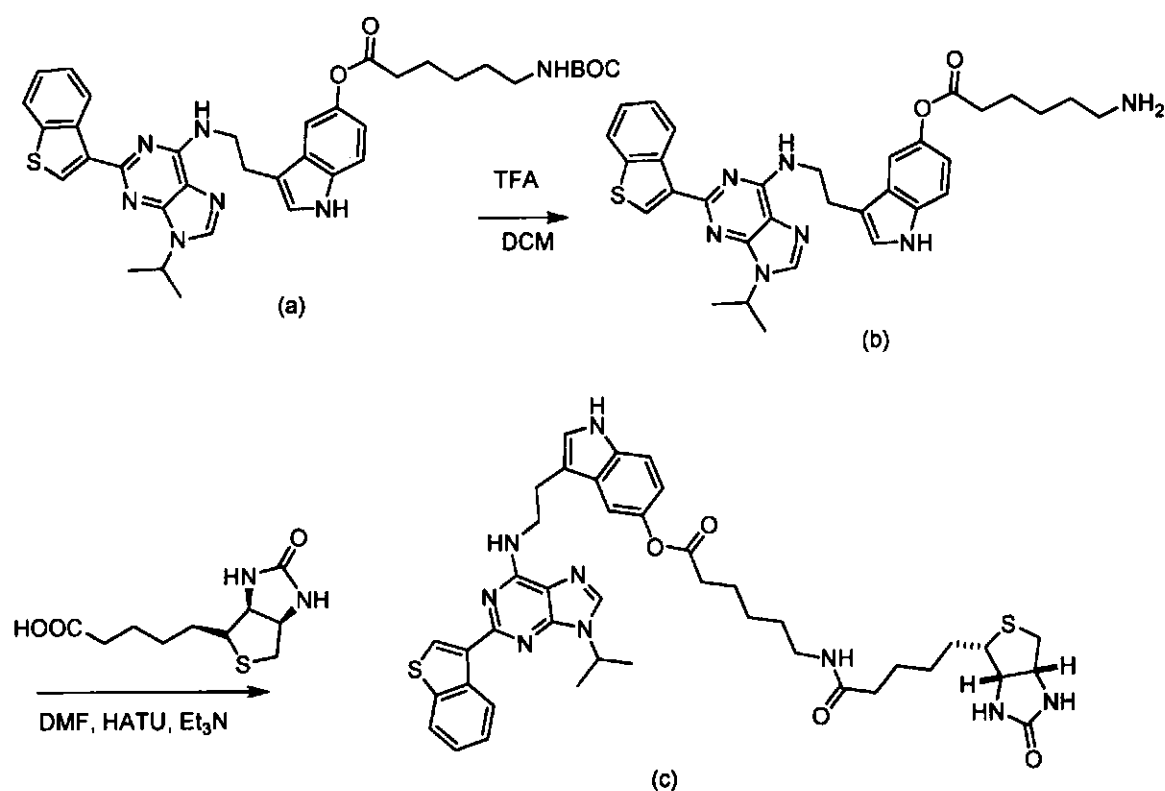
Example Number	Structure	Physical Data ¹ H NMR and/or MS	EC ₅₀ (%CD34+) μM
200		MS <i>m/z</i> 423.2 (M + 1)	0.001
201			
202			
203			

[00245] Affinity probe compounds related to the compounds of the invention can also be prepared, as described in the following examples.

Example 210

3-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)-1H-indol-5-yl 6-(5-

((3a*S*,4*S*,6a*R*)-2-oxohexahydro-1*H*-thieno[3,4-*d*]imidazol-4-yl)pentanamido)hexanoate



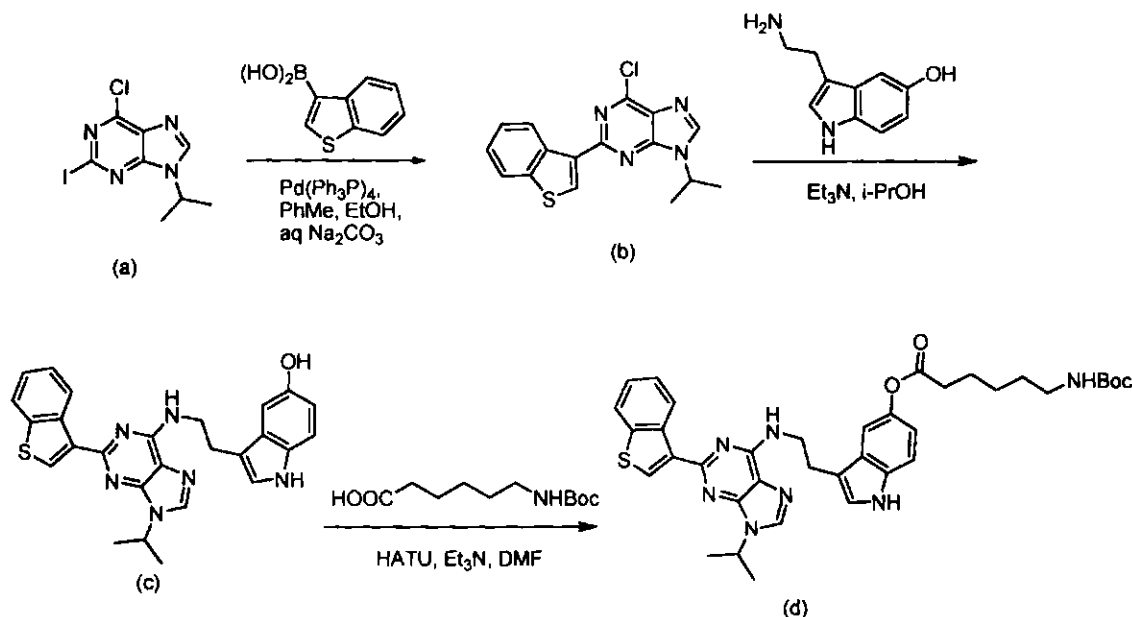
[00246] Synthesis of 3-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)-1H-indol-5-yl 6-aminohexanoate (e): To a solution of 3-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)-1H-indol-5-yl 6-(tert-butoxycarbonylamino)hexanoate (a) (80 mg, 0.117 mmol) in DCM (20 ml) was added TFA (5 ml). The reaction was stirred at rt for 3 hr. It was concentrated. Aqueous sodium carbonate solution was added and the mixture was extracted with DCM. The organic fractions were combined, dried over sodium sulfate, and concentrated to afford the product as an oil. MS *m/z* 582.2 (*M* + 1).

[00247] Synthesis of 3-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)-1H-indol-5-yl 6-(5-((3aS,4S,6aR)-2-oxohexahydro-1H-thieno[3,4-d]imidazol-4-yl)pentanamido)hexanoate: To a solution of (+)-biotin (35 mg, 0.14 mmol) and Et₃N (36 mg, 0.35 mmol) in DMF (1 ml) was added HATU (90 mg, 0.24 mmol). The mixture was stirred for 10 min, and then was added to a solution of 3-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-

isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)-1H-indol-5-yl 6-aminohexanoate (b) (68 mg, 0.12 mmol) in DMF (1 ml). The reaction mixture was stirred for 16 hr at rt and then was concentrated. The residue was purified by reverse-phase HPLC (C₁₈ column, eluting with MeOH-H₂O 0.05% TFA) to afford the title compound as an off-white solid. Example 210 showed an EC₅₀ value in the %CD34+ assay of 2.1 μM.

Example 211

3-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)-1H-indol-5-yl 6-(tert-butoxycarbonylamino)hexanoate



[00248] Synthesis of 2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-6-chloro-9-isopropyl-9H-purine

(b): Following the procedure of Example 15d, 6-chloro-2-iodo-9-isopropyl-9H-purine (3.31 g, 0.0103 mol) was reacted with benzo[b]thiophen-3-ylboronic acid. The crude product was purified by silica gel chromatography (20 to 50% ethyl acetate in hexane) to afford the title compound as a solid. MS *m/z* 329.0 (M + 1). ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 9.15 (d, 1H), 8.85 (s, 2H), 8.17 (d, 1H), 7.62 (t, 1H), 7.53 (t, 1H), 5.06 (m, 1H), 1.71 (d, 6H).

[00249] Synthesis of 3-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)-1H-indol-5-ol (c):

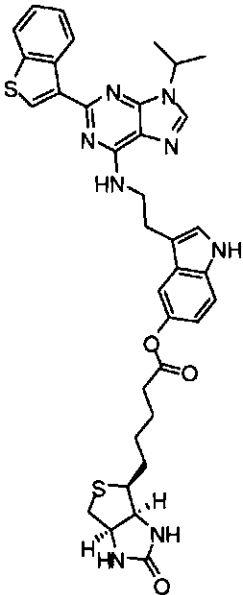
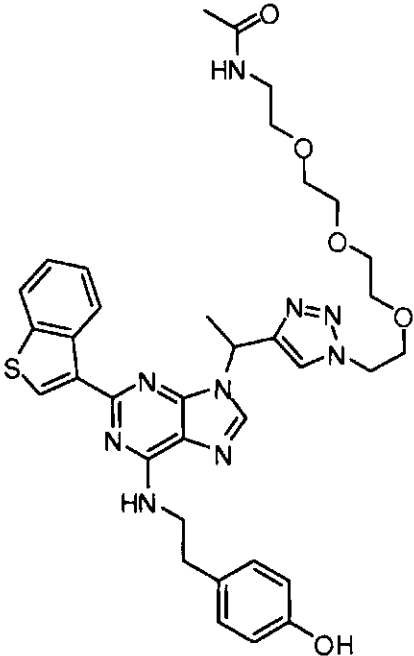
Following the procedure of Example 15e, 2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-6-chloro-9-isopropyl-9H-purine (b) (80 mg, 0.243 mmol) was reacted with serotonin. The reaction mixture was concentrated, then aqueous sodium bicarbonate solution was added. The mixture was extracted with ethyl acetate. The organic fractions were combined, dried over sodium sulfate, and concentrated. The residue was purified by silica gel

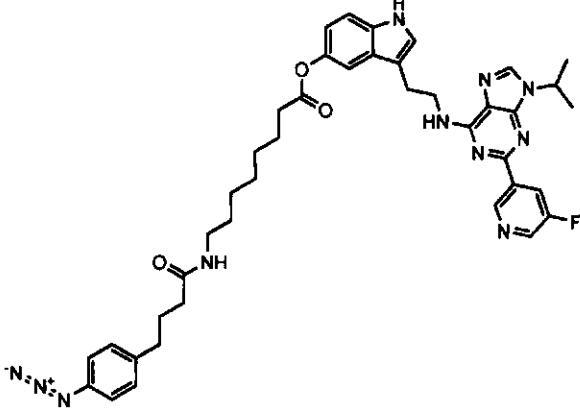
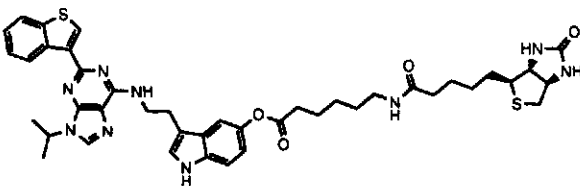
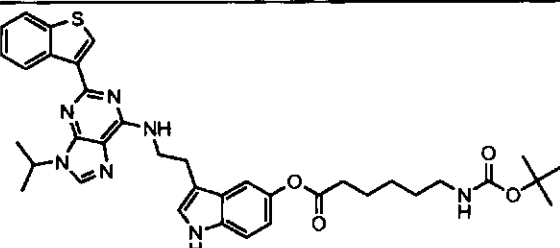
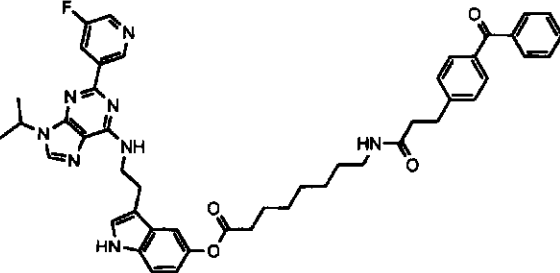
chromatography (0 to 5% MeOH in DCM eluant) to afford the title compound as an off-white solid. MS m/z 469.2 ($M + 1$).

[00250] Synthesis of 3-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)-1H-indol-5-yl 6-(tert-butoxycarbonylamino)hexanoate (d): To a solution of 3-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)-1H-indol-5-ol (55.5 mg, 0.119 mmol) and 6-(tert-butoxycarbonylamino)hexanoic acid (30 mg, 0.113 mmol) in DMF (3 ml) was added Et₃N (24 mg, 0.237 mmol) and HATU (90 mg, 0.237 mmol). The mixture was stirred at rt for 16 hr, and then was concentrated. Water was added and the reaction mixture was extracted with ethyl acetate. The organic fractions were combined, dried over sodium sulfate, and concentrated. The residue was purified by silica gel chromatography (0 to 5% MeOH in DCM eluant) to afford the title compound as an off-white solid.

[00251] By repeating the procedures described in the above examples, using appropriate starting materials, the following affinity probes, as identified in Table 2, are obtained:

Table 2

Example Number	Structure	Physical Data ¹ H NMR and/or MS
26		HRMS (EI) <i>m/z</i> 695.2585 (<i>M</i> + 1)
29		HRMS (EI) <i>m/z</i> 700.3027 (<i>M</i> + 1)

209		MS <i>m/z</i> 760.4 (M + 1)
210		¹ H NMR (400 MHz, DMSO): δ = 10.95 (s, 1H), 9.17 (d, 1H), 8.54 (s, 1H), 8.34 (s, 1H), 8.06 (d, 1H), 7.94 (bs, 1H), 7.77 (t, 1H), 7.39-7.48 (m, 2H), 7.28- 7.34 (m, 3H), 6.79 (dd, 1H), 6.42 (bs, 1H), 4.85-4.93 (m, 1H), 4.24-4.28 (m, 1H), 4.07- 4.10 (m, 1H), 3.88-3.92 (m, 2H), 3.01-3.11 (m, 5H), 2.77 (dd, 1H), 2.53-2.57 (m, 1H), 2.00 (t, 2H), 1.63 (d, 6H), 1.23- 1.60 (m, 12H); MS <i>m/z</i> 808.3 (M + 1)
211		MS <i>m/z</i> 682.2 (M + 1).
212		MS <i>m/z</i> 809.4 (M + 1)

sorting (MACS, Direct CD34 Progenitor Cell Isolation Kit, Miltenyi Biotec, Bergisch Gladbach, Germany) and cryopreserved. CD34⁺ cell purity, checked by flow Cytometry, is higher than 90%. After thawing, the cell viability tested by trypan blue exclusion is higher than 70%. The thawed cells are centrifuged and resuspended with StemSpan medium before being aliquoted for immediate culture. Cells are plated at 10⁴ cells/mL in a 384 well plate (Greiner Bio-One, Monroe, North Carolina) with 50 µL of medium per well for 7 days. Every 7 days the cells are transferred to larger well plates and fresh medium is added to keep the cell density between 10⁴ and 5 × 10⁵ cells/mL. Cells were cultured at 37°C in 5% CO₂. For transplantation, cells were cultured in 75 cm² flasks before the cells were transplanted into mice. At a concentration of 1 micromolar, 4-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol (compound 1, table 1; example 1), 4-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-sec-butyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol (compound 2, table 1), and N-(2-(1H-indol-3-yl)ethyl)-2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-amine (compound 9, table 1) each gives rise to a greater than 10-fold increase in the number of CD34⁺CD45RA⁺ cells derived from 1000 mPB CD34⁺ HSCs after 21 days compared to vehicle. Compounds of the invention were assayed in a dose response format (1nM to 10µM) to determine the effective concentration that produced the desired effect in 50% of the cells (EC₅₀). Compounds of the invention increased the total number and/or percent of CD34⁺ cells with an EC₅₀ of less than 10 µM. The results are shown in Table 1 and examples, *supra*.

[00256] Colony-Forming Units in Culture (CFU-C) Assay: Mononuclear cells at 1000 per mL for cord blood 5 week and mPB 3 week culture and 100 cells per mL for CB 3 week and mPB 1 week culture were added to MethoCult SF H4436, serum-free methylcellulose medium containing methylcellulose in Iscove's MDM, bovine serum albumin, 2-mercaptoethanol, L-glutamine, human transferrin (iron saturated), recombinant human insulin, and recombinant human cytokines: stem cell factor, GM-CSF, IL-3, IL-6, G-CSF, and erythropoietin (StemCell Technologies). The MethoCult is supplemented with the following human recombinant cytokines: thrombopoietin, and Flt-3 ligand (R&D Systems), each at a final concentration of 50 ng/mL. After stirring, the mixture is divided into three 35-mm dishes. The dishes are incubated for 14 days at 37°C in a humidified atmosphere of 5% CO₂ in air. At the end of the incubation period, myeloid and erythroid colonies are counted under an inverted microscope at 40X

magnification. CFU-C content of the expansion culture is calculated as follows: number of scored colonies per three dishes $\times$ total mononuclear cell number/input cell number. Up to one week, total mononuclear cells are determined by multiplying the number of cells per milliliter by the culture volume. From week 1 and on, the number of passages is also taken into account. Cultures treated with 4-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol (compound 1, table 1; example 1) at a concentration of 1 micromolar, generated a greater than 10-fold increase in the number of colony forming cells after 21 days of culture of mPB CD34+ cells compared to vehicle. Using 1×10^3 CB CD34+ cells treated with 4-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol (compound 1, table 1; example 1) at a concentration of 1 micromolar taken from the 5 week culture showed a >10 -fold increase in colony forming units compared to control. Cells treated with a 4-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol (compound 1, table 1; example 1) generated more mixed colonies associated with a >10 -fold increase in erythrocyte colonies, a >10 -fold increase in granulocyte/macrophage colonies, and a >10 -fold increase in macrophage colonies. Cells treated with 4-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol (compound 1, table 1; example 1) also give rise mixed granulocyte/erythrocyte/monocyte/macrophage colonies, which are not observed in colonies derived from untreated cultures.

[00257] Cobblestone area-forming cell (CAFC) assays: The FBMD-1 stromal cells are maintained in 25-cm² flasks and are trypsinized after 1/3 confluence. Since this non-transformed line ages, and therefore gradually loses its potential to support CAFC growth at late stages, all feeders are used below passage 20. For supporting CAFC growth in 96-well plates, 1×10^3 stromal cells are seeded per well. The cultures are maintained in Iscove's medium supplemented with 10% fetal calf serum (FCS), 2.5% horse serum (HS), 1% L-glutamine, 1% penicillin-streptomycin, and 1×10^{-5} M hydrocortisone at 37°C in a humidified atmosphere of 5% CO₂ in air. After stromal layers reach confluency, they are inoculated with CD34⁺ HSCs that have been cultured for 5 days with vehicle or a compound of the invention. MNCs are added at 8 serial 1:3 dilutions (starting at 25,000 cells/well), with 10 wells for each cell dose. The dilutions with wells with at least one phase-dark hematopoietic clone (cobblestone area) of at least five cells beneath the stromal layer are determined at week 4. At a test concentration of 1 micromolar, 4-

(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol (compound 1, table 1; example 1), stimulates a greater than 2-fold increase in the number of cobblestone area forming cells derived from mPB CD34⁺ HSCs after 5 days of culture, compared with control cultures that are treated with DMSO alone.

[00258] Surface Antigen Analysis: The cells are washed with staining media (Hanks balanced salt solution containing FBS (2%) and EDTA (2mM)) and stained (at 4°C for 30 minutes) with indicated primary conjugated antibodies. The cells are washed in the previously described buffer and analyzed using a BD LSR II flow cytometer (Becton Dickinson, San Jose, CA). The cells are passed at a rate of up to 1000 cells/second using 488-nm argon and 633-nm HeNe laser beams as the light source for excitation. Emission of 10⁴ cells is measured using logarithmic amplification and analyzed using FlowJo software (TreeStar Inc. Ashland, OR). Cells stained with primary conjugated isotype control antibodies are used to determine background fluorescence.

[00259] Determination of CD34⁺ cell subsets: The percentages of CD34⁺ cell subsets are determined from aliquots of the cell culture. Cells were stained with APC anti-Thy1.1, PerCP anti-CD34, PECy7 anti CD45RA, FITC anti CD38, and PE anti-CD133 for determination of CD34⁺Thy1.1⁺, CD34⁺CD45RA⁺, CD34⁺CD38⁺, CD133⁺CD38⁺ and CD34⁺CD133⁺ cells. Antibodies to CD34, CD38, Thy1.1 and CD45RA were purchased from Becton Dickinson and antibodies to CD133 were purchased Miltenyi Biotec. FACS analysis results of these subsets are given as percentage of the total population. The absolute number of each population of cells in the culture is calculated from the total number of cells multiplied by the percentage of each population. Starting with CB CD34⁺ cell, after five weeks the total cell number in the cultures increased on average greater than 2-fold in the 4-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol (compound 1, table 1; example 1) 1 micromolar treated cells compared to control cultures. More importantly, >50% of 4-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol (compound 1, table 1; example 1) cultured cells were CD34⁺ compared to < 10% of vehicle cultured cells resulting in a greater than 10-fold expansion of CD34⁺ cells compared to control and a greater than 10,000-fold expansion compared to input cells. In addition, the presence of 1 micromolar 4-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-

yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol (compound 1, table 1; example 1) increased both the percentage and total numbers of the CD34⁺ subpopulations, CD34⁺CD45RA⁺, CD34⁺CD38⁺, CD133⁺CD38⁺, and CD34⁺CD133⁺ resulting in a net expansion of greater than 30-fold for each subset.

[00260] Transplantation of human CD34⁺ cells into NOD.CB17-Prkdc^{scid} mice (NOD/SCID): To assess the *in vivo* repopulating capacity of CD34⁺ cells and their cultured progeny, uncultured CD34⁺ or the progenies of cultured CD34⁺ cells after 4 days (mPB) or 21 days (CB) with vehicle or a test compound were injected intravenously via the retro-orbital route into sub-lethally irradiated (3.0 Gy) 8- to 10-week-old NOD/SCID (for mPB HSC experiments) or NOD/SCIDgc^{-/-} (for CB HSC experiments) mice. To monitor engraftment blood was drawn weekly via the retro-orbital and treated with erythrocyte lysis solution (Qiagen, Valencia, CA) to remove red blood cells, washed with staining media, and analyzed by flow Cytometry. Engraftment was measured by detection of anti-human CD45⁺ cells in the blood. The mice are sacrificed at 10 weeks post-transplantation; BM is collected from both femurs and tibiae. BM cells are washed in staining media and stained with anti-human antibodies. Following incubation, the suspension is treated with erythrocyte lysis solution (Qiagen, Valencia, CA) to remove red blood cells, washed with staining media, and analyzed by flow Cytometry, as described earlier. Both mPB and CB derived HSCs cultured with 4-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol (compound 1, table 1; example 1) at a concentration of 1 micromolar give rise to a statistically significant increase in the percentage of human cells 10 weeks after engraftment.

Target identification

[00261] To identify the mechanism whereby a compound of the invention expands HSCs in an undifferentiated state, a genome-wide transcriptional profiling of mPB-derived CD34⁺ cells treated for 24 hours with example 1 and a less active analog (~20-fold) of example 1 (2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-N-(3-(3,5-dimethyl-1H-pyrazol-4-yl)propyl)-9-isopropyl-9H-purin-6-amine). Of the >50,000 probe sets analyzed, only 5 genes were up-regulated greater than 3-fold upon treatment with Example 1 and most were also induced to some degree by the inactive analog. In addition, 5 genes were down-regulated by >70% upon treatment with 1 μM of Example 1. All were down-regulated in a dose dependent fashion and none were significantly

affected by the inactive analog. The two genes that were the most highly repressed by treatment with Example 1 (cytochrome P450 1B1 [CYP1B1] and the aryl hydrocarbon receptor repressor [AHRR]) are transcriptionally regulated by the aryl hydrocarbon receptor (AHR). Therefore, compounds of the invention could be acting as an antagonist of AHR signaling.

[00262] Further, the ability of Example 1 to block 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD, dioxin)-mediated CYP1B1 mRNA expression by qPCR in mPB-derived CD34⁺ cells was determined. Treatment with TCDD (3nM) caused a 4.5-fold increase in the level of CYP1B1 mRNA compared with the vehicle control (0.01% toluene). This increase was inhibited by Example 1 in a dose-dependent manner indicating that compounds of the invention can antagonize AHR signaling. To determine the effects of Example 1 in AHR transcription the ability of Example 1 to inhibit a dioxin-induced AHR dependent luciferase reporter gene assay was tested. Inclusion of Example 1 (1μM) completely abolished dioxin-induced AHR dependent transcription when used on cells expressing human AHR. Titration of Example 1 revealed an EC₅₀ of 127nM, demonstrating that Example 1 is a potent AHR antagonist. Interestingly, Example 1 only weakly inhibited dioxin induced transcription in murine cells and had no activity on rat cells, suggesting that Example 1 preferentially inhibits human AHR. This correlates with a lack of activity of Example 1 on murine HSC, and can explain the species selectivity of Example 1. Finally, Example 1 had only weak agonist activity on murine or rat cells, and failed to induce AHR dependent transcription in human cells.

[00263] To further explore the role of AHR signaling in HSCs two other AHR antagonists (alpha-naphthoflavone and CH-223191) were tested. Both compounds lead to dose dependent increases in the number of CD34⁺ cells when cultured with mPB-derived CD34⁺ cell for 7 days: inclusion of 1 μM CH223191 afforded a 2.2-fold expansion of CD34⁺ cells; 0.75 μM α-naphthoflavone afforded a 1.9-fold expansion of CD34⁺ cells while 0.75 μM Example 1 afforded a 3.4-fold expansion of total CD34⁺ cells. To show a direct role for the AHR in Example 1 induced HSC expansion, human CB-derived CD34⁺ HSCs were treated with lentiviral particles containing a shRNA-targeting AHR that co-expressed GFP or control virus. Forty-eight hours following transduction, CD34⁺GFP⁺ cells were purified by cell sorting and the levels of AHR were determined by qPCR. Both AHR targeting shRNAs led to decreases in AHR expression following transduction (81% with sh111 and 51% with

sh242). These decreases were not seen in cells lacking GFP or in cells transduced with control virus. CB-derived CD34⁺ cells with decreased AHR expression displayed a phenotype similar to Example 1 treated cells with sustained expression of CD34⁺. These data show that inhibition of AHR activity by a compound of the invention is sufficient to promote ex-vivo expansion of HSC.

Method of expanding HSCs from human neonatal umbilical cord blood

[00264] The culture medium used is StemSpan SFEM (StemCell Technologies, Cat. #09650) supplemented with the following recombinant human cytokines: TPO, IL6, Flt3 ligand, and SCF each at a final concentration of 50 ng/mL. The culture media is prepared fresh the day of use.

[00265] Compound dilution into media: a 10,000x concentrate of a compound of the invention is used for the dilutions. The addition of compound into the culture media occurs in two steps. The first step is a 1:100 dilution (10 μ L of 10,000x concentrate into 990 μ L of complete culture media (containing cytokines) in a 1.5 mL eppendorf tube [USA Scientific, Cat #1615-5500]) to generate a 100x solution of compound in the culture media. The second step is a 1:100 dilution into the culture media that will be used to initiate the cell culture. The volume of the culture is variable depending on the input number of cord blood (CB) CD34⁺ cells. For example, 1x10⁶ CB CD34⁺ cells are seeded into 20 mL of media (5x10⁴ cells/mL). In this case, 200 μ L of the 100x Example 1 solution is added to the 20 mL of media in a 50 mL conical tube (Becton Dickinson, Cat #352098) to reach the final concentration (see Table 3).

[00266] Cell culture initiation: purified human CB CD34⁺ cells are used for the *ex vivo* expansion experiments. After thawing, the cell viability, tested by trypan blue exclusion, is higher than 50%. The thawed cells are diluted 5-fold with culture media (no cytokines or compounds of the invention such as Example 1) and centrifuged at 300g at 25°C for 8 minutes. After aspirating the supernatant, the pellet is resuspended with the appropriate volume of culture medium (5 x 10⁴ cells/mL, Table 3) before being injected (22 gauge needle, Air-Tite products; 20 mL syringe, BD cat # 309661) into AFC bags (Table 5) for immediate culture. Cells are cultured at 37 °C in 5% CO₂.

[00267] Addition of media to the cell culture: for media volumes up to 80 mL the procedure above (compound dilution into media) is used. For media volumes larger than 80 mL

the first 1:100 dilution is carried out in 10 mL conical tubes (Corning, Cat #430052, Table 4). The second step is a 1:100 dilution into the culture media, in sterile containers, (BD Falcon, Cat #354015) that is added to the AFC bag (22 gauge needle, Air-Tite products; 60 mL syringe, BD cat # 309653).

Table 3. Example 1 dilutions for starting cord blood derived CD34+ cell expansion

Number of cord blood derived CD34+ cells (x 10 ⁶)	Starting culture volume (mL)	volume of 100x Example 1 (μL) needed	volume of 100x Example 1 to prepare (mL)	volume of 10,000x Example 1 needed (μL)
0.25	5	50	1	10
0.50	10	100	1	10
0.75	15	150	1	10
1.00	20	200	1	10
1.25	25	250	1	10
1.50	30	300	1	10
1.75	35	350	1	10
2.00	40	400	1	10
2.50	50	500	1	10
3.00	60	600	1	10
4.00	80	800	1	10

Table 4. Example 1 dilutions for adding media to the cord blood derived CD34+ cell expansion

Volume of media to add (mL)	volume of 100x Example 1 (μL) needed	volume of 100x Example 1 to prepare (mL)	volume of 10,000x Example 1 needed (μL)
10.00	100	1	10
20.00	200	1	10
30.00	300	1	10
40.00	400	1	10
50.00	500	1	10
60.00	600	1	10
70.00	700	1	10
80.00	800	1	10
100.00	1,000	5	50
120.00	1,200	5	50
160.00	1,600	5	50
250.00	2,500	5	50
500.00	5,000	10	100
750.00	7,500	10	100
1,000.00	10,000	10	100

Table 5. Volume restrictions for American Fluoroseal Corporation bags.

AFC bag catalog number	Volume for optimal expansion (mL)	Maximum volume of the bag (mL)
1PF-0007	7	7
2PF-0032	32	32
2PF-0072	71	130
2PF-0118	118	245
2PF-0197	179	580
2PF-0225	225	665
2PF-0270	270	960
2PF-750C	750	

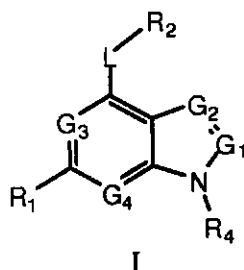
[00268] The same protocol can be used starting from mobilized peripheral blood cells from a patient for autologous graft transplantation.

[00269] A composition comprising a population of cells with expanded HSCs appropriate for intravenous administration as an infusion can also be prepared. To prepare cells for infusion, cultured cells are pelleted by centrifugation for 10 minutes at 300g and resuspended in infusion buffer consisting of 5% HSA (Baxter) at a concentration of between 10^6 to 10^8 cells /ml.

[00270] It is understood that the examples and embodiments described herein are for illustrative purposes only and that various modifications or changes in light thereof will be suggested to persons skilled in the art and are to be included within the spirit and purview of this application and scope of the appended claims. All publications, patents, and patent applications cited herein are hereby incorporated by reference for all purposes.

WE CLAIM:

1. A compound of Formula I:



in which:

G₁ is selected from N and CR₃;

G₂, G₃ and G₄ are independently selected from CH and N; with the proviso that at least 1 of G₃ and G₄ is N; with the proviso that G₁ and G₂ are not both N;

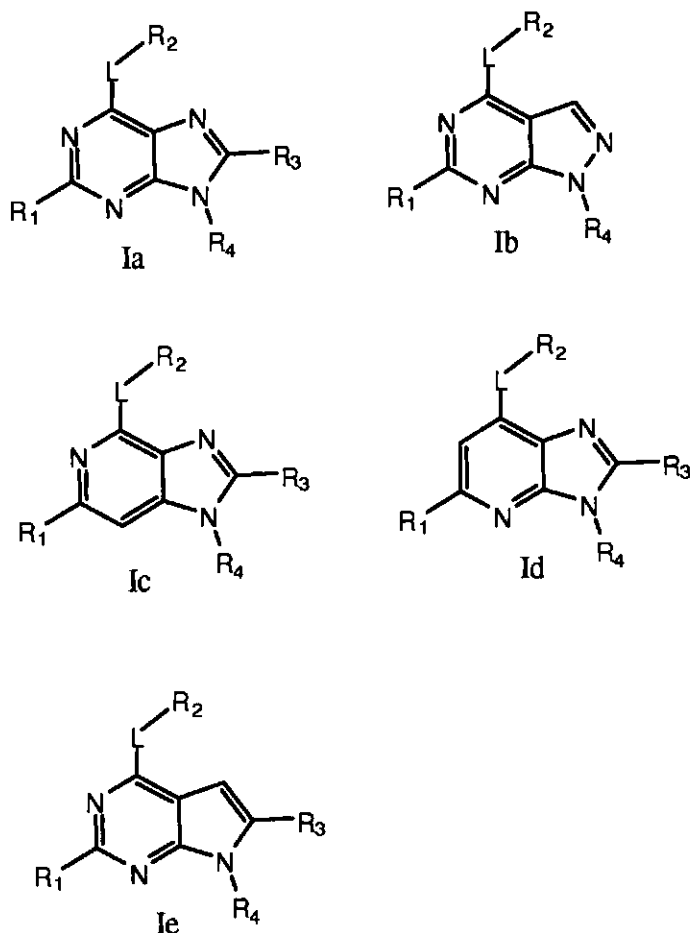
L is selected from -NR_{5a}(CH₂)₀₋₃-, -NR_{5a}CH(C(O)OCH₃)CH₂-, -NR_{5a}(CH₂)₂NR_{5b}-, -NR_{5a}(CH₂)₂S-, -NR_{5a}CH₂CH(CH₃)CH₂-, -NR_{5a}CH₂CH(OH)- and -NR_{5a}CH(CH₃)CH₂-; wherein R_{5a} and R_{5b} are independently selected from hydrogen and C₁₋₄alkyl;

R₁ is selected from hydrogen, phenyl, thiophenyl, furanyl, 1H-benzoimidazolyl, isoquinolinyl, 1H-imidazopyridinyl, benzothiophenyl, pyrimidinyl, 1H-pyrazolyl, pyridinyl, 1H-imidazolyl, pyrrolidinyl, pyrazinyl, pyridazinyl, 1H-pyrrolyl and thiazolyl; wherein said phenyl, thiophenyl, furanyl, 1H-benzoimidazolyl, isoquinolinyl, 1H-imidazopyridinyl, benzothiophenyl, pyrimidinyl, 1H-pyrazolyl, pyridinyl, 1H-imidazolyl, pyrrolidinyl, pyrazinyl, pyridazinyl, 1H-pyrrolyl or thiazolyl of R₁ can be optionally substituted by 1 to 3 radicals independently selected from cyano, hydroxy, C₁₋₄alkyl, C₁₋₄alkoxy, halo, halo-substituted-C₁₋₄alkyl, halo-substituted-C₁₋₄alkoxy, hydroxy, amino, -C(O)R_{8a}, -S(O)₀₋₂R_{8a}, -C(O)OR_{8a} and -C(O)NR_{8a}R_{8b}; wherein R_{8a} and R_{8b} are independently selected from hydrogen and C₁₋₄alkyl; with the proviso that R₁ and R₃ are not both hydrogen;

R₂ is selected from -S(O)₂NR_{6a}R_{6b}, -NR_{9a}C(O)R_{9b}, -NR_{6a}C(O)NR_{6b}R_{6c}, phenyl, 1H-pyrrolopyridin-3-yl, 1H-indolyl, thiophenyl, pyridinyl, 1H-1,2,4-triazolyl, 2-oxoimidazolidinyl, 1H-pyrazolyl, 2-oxo-2,3-dihydro-1H-benzoimidazolyl and 1H-indazolyl;

wherein R_{6a} , R_{6b} and R_{6c} are independently selected from hydrogen and C_{1-4} alkyl; wherein said phenyl, 1H-pyrrolopyridin-3-yl, 1H-indolyl, thiophenyl, pyridinyl, 1H-1,2,4-triazolyl, 2-oxoimidazolidinyl, 1H-pyrazolyl, 2-oxo-2,3-dihydro-1H-benzoimidazolyl or 1H-indazolyl of R_2 is optionally substituted with 1 to 3 radicals independently selected from hydroxy, halo, methyl, methoxy, amino, $-O(CH_2)_nNR_{7a}R_{7b}$, $-S(O)_2NR_{7a}R_{7b}$, $-OS(O)_2NR_{7a}R_{7b}$ and $-NR_{7a}S(O)_2R_{7b}$; wherein R_{7a} and R_{7b} are independently selected from hydrogen and C_{1-4} alkyl; R_3 is selected from hydrogen, C_{1-4} alkyl and biphenyl; and R_4 is selected from C_{1-10} alkyl, prop-1-en-2-yl, cyclohexyl, cyclopropyl, 2-(2-oxopyrrolidin-1-yl)ethyl, oxetan-3-yl, benzhydryl, tetrahydro-2H-pyran-3-yl, tetrahydro-2H-pyran-4-yl, phenyl, tetrahydrofuran-3-yl, benzyl, (4-pentylphenyl)(phenyl)methyl and 1-(1-(2-oxo-6,9,12-trioxa-3-azatetradecan-14-yl)-1H-1,2,3-triazol-4-yl)ethyl; wherein said alkyl, cyclopropyl, cyclohexyl, 2-(2-oxopyrrolidin-1-yl)ethyl, oxetan-3-yl, oxetan-2-yl, benzhydryl, tetrahydro-2H-pyran-2-yl, tetrahydro-2H-pyran-3-yl, tetrahydro-2H-pyran-4-yl, phenyl, tetrahydrofuran-3-yl, tetrahydrofuran-2-yl, benzyl, (4-pentylphenyl)(phenyl)methyl or 1-(1-(2-oxo-6,9,12-trioxa-3-azatetradecan-14-yl)-1H-1,2,3-triazol-4-yl)ethyl can be optionally substituted with 1 to 3 radicals independently selected from hydroxy, C_{1-4} alkyl and halo-substituted- C_{1-4} alkyl; or a salt thereof.

2. The compound of claim 1 selected from Formulae Ia, Ib, Ic, Id and Ie:



in which:

L is selected from $-\text{NR}_{5a}(\text{CH}_2)_{0-3}-$, $-\text{NR}_{5a}\text{CH}(\text{C}(\text{O})\text{OCH}_3)\text{CH}_2-$, $-\text{NR}_{5a}(\text{CH}_2)_2\text{NR}_{5b}-$, $-\text{NR}_{5a}(\text{CH}_2)_2\text{S}-$, $-\text{NR}_{5a}\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2-$, $-\text{NR}_{5a}\text{CH}_2\text{CH}(\text{OH})-$ and $-\text{NR}_{5a}\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2-$; wherein R_{5a} and R_{5b} are independently selected from hydrogen and C_{1-4} alkyl;

R₁ is selected from hydrogen, phenyl, thiophen-2-yl, thiophen-3-yl, furan-3-yl, 1H-benzo[d]imidazol-1-yl, isoquinolin-4-yl, 1H-imidazo[4,5-b]pyridin-1-yl, benzo[b]thiophen-3-yl, pyrimidin-5-yl, 1H-pyrazol-4-yl, pyridin-2-yl, pyridin-4-yl, 1H-imidazol-1-yl, pyrrolidin-1-yl, pyrazin-2-yl, pyridin-3-yl, pyridazin-4-yl, 1H-pyrrol-2-yl and thiazol-5-yl; wherein said phenyl, thiophen-2-yl, thiophen-3-yl, furan-3-yl, 1H-benzo[d]imidazol-1-yl, isoquinolin-4-yl, 1H-imidazo[4,5-b]pyridin-1-yl, benzo[b]thiophen-3-yl, pyrimidin-5-yl, pyridin-2-yl, pyridin-4-yl, 1H-imidazol-1-yl, pyrrolidin-1-yl, pyrazin-2-yl, pyridin-3-yl, pyridazin-4-yl, 1H-pyrrol-2-yl or thiazol-5-yl of R₁ can be optionally substituted by 1 to 3 radicals independently selected from cyano, hydroxy, C₁₋₄alkyl, C₁-

$_4$ alkoxy, halo, halo-substituted- C_{1-4} alkyl, $-S(O)_{0-2}R_{8a}$ and $-C(O)OR_{8a}$; wherein R_{8a} and R_{8b} are independently selected from hydrogen and C_{1-4} alkyl; with the proviso that R_1 and R_3 are not both hydrogen;

R_2 is selected from $-NR_{6a}C(O)NR_{6b}R_{6c}$, phenyl, 1H-pyrrolo[2,3-b]pyridin-3-yl, 1H-pyrrolo[2,3-b]pyridin-5-yl, 1H-indol-3-yl, thiophen-3-yl, pyridin-2-yl, pyridin-3-yl, pyridin-4-yl, 1H-1,2,4-triazol-5-yl, 2-oxoimidazolidin-1-yl, 1H-pyrazol-3-yl, 1H-pyrazol-4-yl, 2-oxo-2,3-dihydro-1H-benzo[d]imidazol-5-yl and 1H-indazol-3-yl; wherein R_{6a} , R_{6b} and R_{6c} are independently selected from hydrogen and C_{1-4} alkyl; wherein said phenyl, 1H-pyrrolo[2,3-b]pyridin-3-yl, 1H-pyrrolo[2,3-b]pyridin-5-yl, 1H-indol-3-yl, thiophen-3-yl, pyridin-2-yl, pyridin-3-yl, pyridin-4-yl, 1H-1,2,4-triazol-5-yl, 2-oxoimidazolidin-1-yl, 1H-pyrazol-3-yl, 1H-pyrazol-4-yl, 2-oxo-2,3-dihydro-1H-benzo[d]imidazol-5-yl or 1H-indazol-3-yl of R_2 is optionally substituted with 1 to 3 radicals independently selected from hydroxy, halo, methoxy, amino, $-OS(O)_2NR_{7a}R_{7b}$ and $-NR_{7a}S(O)_2R_{7b}$; wherein R_{7a} and R_{7b} are independently selected from hydrogen and C_{1-4} alkyl;

R_3 is selected from hydrogen, C_{1-4} alkyl and biphenyl; and

R_4 is selected from isopropyl, methyl, ethyl, prop-1-en-2-yl, isobutyl, cyclohexyl, sec-butyl, (S)-sec-butyl, (R)-sec-butyl, 1-hydroxypropan-2-yl, (S)-1-hydroxypropan-2-yl, (R)-1-hydroxypropan-2-yl, nonan-2-yl, 2-(2-oxopyrrolidin-1-yl)ethyl, oxetan-3-yl, oxetan-2-yl, benzhydryl, tetrahydro-2H-pyran-2-yl, phenyl, tetrahydrofuran-3-yl and benzyl; wherein said cyclohexyl, 2-(2-oxopyrrolidin-1-yl)ethyl, oxetan-3-yl, oxetan-2-yl, benzhydryl, tetrahydro-2H-pyran-4-yl, phenyl, tetrahydrofuran-3-yl or benzyl can be optionally substituted with 1 to 3 radicals independently selected from C_{1-4} alkyl and halo-substituted- C_{1-4} alkyl.

3. The compounds of claim 2 in which L is selected from $-NR_{5a}(CH_2)_{0-3}-$, $-NR_{5a}CH(C(O)OCH_3)CH_2-$, $-NR_{5a}(CH_2)_2NR_{5b}-$, $-NR_{5a}(CH_2)_2S-$, $-NR_{5a}CH_2CH(CH_3)CH_2-$, $-NR_{5a}CH(CH_3)CH_2-$ and $-NR_{5a}CH_2CH(OH)-$; wherein R_{5a} and R_{5b} are independently selected from hydrogen and methyl; and R_1 is selected from hydrogen, phenyl, thiophen-2-yl, thiophen-3-yl, furan-3-yl, 1H-benzo[d]imidazol-1-yl, isoquinolin-4-yl, 1H-imidazo[4,5-b]pyridin-1-yl, benzo[b]thiophen-3-yl, pyrimidin-5-yl, 1H-pyrazol-4-yl, pyridin-2-yl, pyridin-4-yl, 1H-imidazol-1-yl, pyrrolidin-1-yl, pyrazin-2-yl, pyridin-3-yl, pyridazin-4-yl,

1H-pyrrol-2-yl and thiazol-5-yl; wherein said phenyl, thiophen-2-yl, thiophen-3-yl, furan-3-yl, 1H-benzo[d]imidazol-1-yl, isoquinolin-4-yl, 1H-imidazo[4,5-b]pyridin-1-yl, benzo[b]thiophen-3-yl, pyrimidin-5-yl, pyridiny-2-yl, pyridin-4-yl, 1H-imidazol-1-yl, pyrrolidin-1-yl, pyrazin-2-yl, pyridiny-3-yl, pyridazin-4-yl, 1H-pyrrol-2-yl or thiazol-5-yl of R_1 can be optionally substituted by 1 to 3 radicals independently selected from cyano, hydroxy, C_{1-4} alkyl, C_{1-4} alkoxy, halo, halo-substituted- C_{1-4} alkyl, $-S(O)_{0-2}R_{8a}$ and $-C(O)OR_{8a}$; wherein R_{8a} and R_{8b} are independently selected from hydrogen and C_{1-4} alkyl; with the proviso that R_1 and R_3 are not both hydrogen.

4. The compounds of claim 3 in which L is selected from $-NR_{5a}(CH_2)_{1-3}-$, $-NR_{5a}CH(C(O)OCH_3)CH_2-$, $-NR_{5a}(CH_2)_2NR_{5b}-$, $-NR_{5a}(CH_2)_2S-$, $-NR_{5a}CH_2CH(CH_3)CH_2-$, $-NR_{5a}CH(CH_3)CH_2-$ and $-NR_{5a}CH_2CH(OH)-$; wherein R_{5a} and R_{5b} are independently selected from hydrogen and methyl.
5. The compound of claim 4 in which R_2 is selected from urea, phenyl, 1H-indol-2-yl, 1H-indol-3-yl, thiophen-3-yl, piperidin-1-yl, pyridin-2-yl, pyridin-3-yl, pyridin-4-yl, 1H-1,2,4-triazol-3-yl, 1H-1,2,4-triazol-5-yl, 2-oxoimidazolidin-1-yl, 1H-pyrazol-3-yl, 1H-pyrazol-4-yl, 2-oxo-2,3-dihydro-1H-benzo[d]imidazol-5-yl, 1H-benzo[d]imidazol-5-yl and 1H-imidazol-4-yl; wherein said phenyl, 1H-indol-2-yl, 1H-indol-3-yl, thiophen-3-yl, piperidin-1-yl, pyridin-2-yl, pyridin-3-yl, pyridin-4-yl, 1H-1,2,4-triazol-3-yl, 1H-1,2,4-triazol-5-yl, 2-oxoimidazolidin-1-yl, 1H-pyrazol-3-yl, 1H-pyrazol-4-yl, 2-oxo-2,3-dihydro-1H-benzo[d]imidazol-5-yl or 1H-benzo[d]imidazol-5-yl of R_2 is optionally substituted with hydroxy, methoxy, methyl, halo, amino and amino-sulfonyl.
6. The compound of claim 5 in which R_3 is selected from hydrogen, methyl and biphenyl; and R_4 is selected from isopropyl, methyl, ethyl, prop-1-en-2-yl, isobutyl, cyclohexyl, sec-butyl, (S)-sec-butyl, (R)-sec-butyl, 1-hydroxypropan-2-yl, (S)-1-hydroxypropan-2-yl, (R)-1-hydroxypropan-2-yl, nonan-2-yl, 2-(2-oxopyrrolidin-1-yl)ethyl, oxetan-3-yl, oxetan-2-yl, benzhydryl, tetrahydro-2H-pyran-2-yl, phenyl, tetrahydrofuran-3-yl and benzyl; wherein said cyclohexyl, 2-(2-oxopyrrolidin-1-yl)ethyl, oxetan-3-yl, oxetan-2-yl, benzhydryl, tetrahydro-

2H-pyran-4-yl, phenyl, tetrahydrofuran-3-yl or benzyl can be optionally substituted with 1 to 3 radicals independently selected from methyl and trifluoromethyl.

7. The compound of claim 6 selected from: 4-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-sec-butyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(9-benzhydryl-2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-(tetrahydro-2H-pyran-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(9-isopropyl-2-(thiophen-2-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-(4-(trifluoromethyl)benzyl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-isobutyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-methyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-(4-methylbenzyl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; N-(2-(1H-indol-3-yl)ethyl)-2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-amine; 2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-isopropyl-N-(2-(thiophen-3-yl)ethyl)-9H-purin-6-amine; 3-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-N-(4-fluorophenethyl)-9-isopropyl-9H-purin-6-amine; N-(4-aminophenethyl)-2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-amine; 4-(2-(9-isopropyl-2-(pyrimidin-5-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(9-isopropyl-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(9-isopropyl-2-phenyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(9-isopropyl-2-(thiophen-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(2-(furan-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-N-(4-fluorophenethyl)-9-phenyl-9H-purin-6-amine; N-benzyl-8-(biphenyl-4-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-amine; 4-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-(nonan-2-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; N-(2-(1H-indol-3-yl)ethyl)-2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-sec-butyl-9H-purin-6-amine; 3-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)-1H-indol-5-yl 5-((3aS,4S,6aR)-2-oxohexahydro-1H-thieno[3,4-d]imidazol-4-yl)pentanoate; N-(2-(2-(2-(2-(4-(1-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-6-(4-hydroxyphenethylamino)-9H-purin-9-yl)ethyl)-1H-1,2,3-triazol-1-yl)ethoxy)ethoxy)ethoxy)ethyl)acetamide; 4-(2-(9-isopropyl-2-(pyridin-4-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; ethyl 5-(6-(4-hydroxyphenethylamino)-9-isopropyl-9H-purin-2-yl)nicotinate; ethyl 5-(6-(4-hydroxyphenethylamino)-9-

isopropyl-9H-purin-2-yl)nicotinate; 4-(2-(2-(6-fluoropyridin-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(9-isopropyl-2-(4-methylpyridin-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 5-(6-(4-hydroxyphenethylamino)-9-isopropyl-9H-purin-2-yl)nicotinonitrile; 4-(2-(9-isopropyl-2-(pyrrolidin-1-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(2-(1H-imidazol-1-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(9-isopropyl-2-(pyridazin-4-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(9-isopropyl-2-(pyrazin-2-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(9-isopropyl-2-(pyridin-2-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(9-isopropyl-2-(5-(methylsulfonyl)pyridin-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(9-isopropyl-2-(5-methylpyridin-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(2-(4-chloropyridin-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(2-(5-fluoropyridin-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(9-isopropyl-2-(1-methyl-1H-pyrazol-4-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(9-isopropyl-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)-2-methoxyphenol; 4-(2-(9-isopropyl-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)-2-methoxyphenol; N-[2-(6-methoxy-1H-indol-3-yl)ethyl]-9-(propan-2-yl)-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-amine; N-[2-(5-methyl-1H-indol-3-yl)ethyl]-9-(propan-2-yl)-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-amine; 1-(2-([9-(propan-2-yl)-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-yl]amino)ethyl)imidazolidin-2-one; N-(2-([9-(propan-2-yl)-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-yl]amino)ethyl)pyridin-2-amine; 9-(propan-2-yl)-N-[3-(1H-pyrazol-4-yl)propyl]-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-amine; N-[2-([3-methyl-1H-1,2,4-triazol-5-yl)sulfanyl]ethyl)-9-(propan-2-yl)-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-amine; 1-(2-([2-(1-benzothiophen-3-yl)-9-(propan-2-yl)-9H-purin-6-yl]amino)ethyl)imidazolidin-2-one; N-[2-(5-amino-1H-1,2,4-triazol-3-yl)ethyl]-2-(1-benzothiophen-3-yl)-9-(propan-2-yl)-9H-purin-6-amine; N-(2-([2-(1-benzothiophen-3-yl)-9-(propan-2-yl)-9H-purin-6-yl]amino)ethyl)pyridin-2-amine; 2-(1-benzothiophen-3-yl)-9-(propan-2-yl)-N-[3-(1H-pyrazol-4-yl)propyl]-9H-purin-6-amine; 2-(1-benzothiophen-3-yl)-N-[3-(3,5-dimethyl-1H-pyrazol-4-yl)propyl]-9-(propan-2-yl)-9H-purin-6-amine; (2-([2-(1-benzothiophen-3-yl)-9-(propan-2-yl)-9H-purin-6-yl]amino)ethyl)urea; 5-([2-(1-benzothiophen-3-yl)-9-(propan-2-yl)-9H-purin-6-yl]amino)methyl)-2,3-dihydro-1H-1,3-benzodiazol-2-one; N-[2-(1H-indol-3-yl)ethyl]-9-(propan-2-yl)-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-amine; N-(4-(2-(9-isopropyl-2-(pyridin-3-yl)-

9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenyl)methane-sulfonamide; 4-(2-(2-(pyridin-3-yl)-9-(tetrahydrofuran-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(9-isopropyl-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)propyl)phenol; 4-(2-(9-(oxetan-3-yl)-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 5-(6-(4-hydroxyphenethylamino)-9-isopropyl-9H-purin-2-yl)-N-methylnicotinamide; 4-(2-(9-(1-hydroxypropan-2-yl)-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(9-isopropyl-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenyl sulfamate; 4-(2-(2-(2-fluoropyridin-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(9-isopropyl-2-(1-methyl-1H-pyrrol-2-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(9-isopropyl-2-(thiazol-5-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(2-(1H-benzo[d]imidazol-1-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(2-(2,4-dimethyl-1H-imidazol-1-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(9-isopropyl-2-(2-methyl-1H-imidazol-1-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 5-(9-sec-butyl-6-(4-hydroxy-3-methylphenethylamino)-9H-purin-2-yl)nicotinonitrile; N-(2-(1H-pyrrolo[2,3-b]pyridin-5-yl)ethyl)-9-isopropyl-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-amine; 9-isopropyl-N-(2-(5-methyl-1H-pyrazol-3-yl)ethyl)-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-amine; 4-(2-(2-(5-fluoropyridin-3-yl)-9-(oxetan-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(2-(5-chloropyridin-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(9-isopropyl-2-(5-(trifluoromethyl)pyridin-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 5-(6-(2-(1H-indol-3-yl)ethylamino)-9-sec-butyl-9H-purin-2-yl)nicotinonitrile; N-(2-(1H-indol-3-yl)ethyl)-9-sec-butyl-2-(5-methylpyridin-3-yl)-9H-purin-6-amine; (R)-N-(2-(1H-indol-3-yl)ethyl)-9-sec-butyl-2-(5-fluoropyridin-3-yl)-9H-purin-6-amine; (S)-N-(2-(1H-indol-3-yl)ethyl)-9-sec-butyl-2-(5-fluoropyridin-3-yl)-9H-purin-6-amine; N-(2-(1H-indol-3-yl)ethyl)-9-sec-butyl-2-(5-fluoropyridin-3-yl)-9H-purin-6-amine; (R)-N-(2-(1H-indol-3-yl)ethyl)-9-sec-butyl-2-(5-methylpyridin-3-yl)-9H-purin-6-amine; (S)-N-(2-(1H-indol-3-yl)ethyl)-9-sec-butyl-2-(5-methylpyridin-3-yl)-9H-purin-6-amine; 5-(6-(4-hydroxyphenethylamino)-9-(oxetan-3-yl)-9H-purin-2-yl)nicotinonitrile; 4-(2-(6-(5-fluoropyridin-3-yl)-1-isopropyl-1H-pyrazolo[3,4-d]pyrimidin-4-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(6-(benzo[b]thiophen-3-yl)-1-isopropyl-1H-pyrazolo[3,4-d]pyrimidin-4-ylamino)ethyl)phenol; (R)-4-(2-(2-(5-fluoropyridin-3-yl)-9-(tetrahydrofuran-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(9-isopropyl-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)-3-methylphenol; 5-(6-(4-hydroxyphenethylamino)-9-

isopropyl-9H-purin-2-yl)picolinonitrile; 3-(6-(4-hydroxyphenethylamino)-9-isopropyl-9H-purin-2-yl)isonicotinonitrile; 4-(2-(2-(5-fluoropyridin-3-yl)-7-isopropyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-4-ylamino)ethyl)phenol; 3-(6-(4-hydroxyphenethylamino)-9-isopropyl-9H-purin-2-yl)picolinonitrile; 4-(2-(9-isopropyl-2-(6-methylpyridin-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(9-isopropyl-2-(isoquinolin-4-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 2-chloro-4-(2-(9-isopropyl-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 3-fluoro-4-(2-(9-isopropyl-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; N-(2-(5-chloro-1H-indol-3-yl)ethyl)-9-isopropyl-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-amine; N-(2-(5-fluoro-1H-indol-3-yl)ethyl)-9-isopropyl-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-amine; 4-(2-(9-isopropyl-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)-2-methylphenol; 4-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-(oxetan-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; (S)-4-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-(tetrahydrofuran-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; (R)-4-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-(tetrahydrofuran-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 2-(6-(2-(1H-indol-3-yl)ethylamino)-2-(5-fluoropyridin-3-yl)-9H-purin-9-yl)propan-1-ol; (R)-2-(6-(2-(1H-indol-3-yl)ethylamino)-2-(5-fluoropyridin-3-yl)-9H-purin-9-yl)propan-1-ol; (S)-2-(6-(2-(1H-indol-3-yl)ethylamino)-2-(5-fluoropyridin-3-yl)-9H-purin-9-yl)propan-1-ol; (R)-N-(2-(1H-indol-3-yl)ethyl)-2-(5-fluoropyridin-3-yl)-9-(tetrahydrofuran-3-yl)-9H-purin-6-amine; 4-(2-(2-(3H-imidazo[4,5-b]pyridin-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(2-(1H-imidazo[4,5-b]pyridin-1-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(6-(5-fluoropyridin-3-yl)-1-isopropyl-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-4-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(2-(4,5-dimethyl-1H-imidazol-1-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 2-(5-fluoropyridin-3-yl)-9-isopropyl-N-(2-(pyridin-3-yl)ethyl)-9H-purin-6-amine; 4-(2-(2-(5-fluoropyridin-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)-1-hydroxyethyl)phenol; 2-(5-fluoropyridin-3-yl)-9-isopropyl-N-(2-(6-methoxy-1H-indol-3-yl)ethyl)-9H-purin-6-amine; N-(2-(1H-indol-3-yl)ethyl)-2-(5-fluoropyridin-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-amine; 2-(5-fluoropyridin-3-yl)-9-isopropyl-N-(2-(5-methoxy-1H-indol-3-yl)ethyl)-9H-purin-6-amine; N-(2-(1H-indol-3-yl)ethyl)-2-(5-fluoropyridin-3-yl)-9-(prop-1-en-2-yl)-9H-purin-6-amine; 5-(2-(2-(5-fluoropyridin-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)pyridin-2-ol; N-(2-(1H-pyrrolo[2,3-b]pyridin-3-yl)ethyl)-2-(5-fluoropyridin-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-amine; N-(2-(6-(2-(diethylamino)ethoxy)-

1H-indol-3-yl)ethyl)-2-(5-fluoropyridin-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-amine; 4-(2-(5-(5-fluoropyridin-3-yl)-3-isopropyl-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-7-ylamino)ethyl)phenol; N-(2-(1H-indol-3-yl)ethyl)-9-sec-butyl-2-(2-methyl-1H-imidazol-1-yl)-9H-purin-6-amine; 4-(2-(2-(2-ethyl-1H-imidazol-1-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(9-isopropyl-2-(2-propyl-1H-imidazol-1-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 3-(2-(2-(5-fluoropyridin-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)-1H-indol-6-ol; N-(2-(1H-indol-3-yl)ethyl)-9-isopropyl-2-(5-methylpyridin-3-yl)-9H-purin-6-amine; N-(2-(1H-indol-3-yl)ethyl)-9-isopropyl-2-(2-methyl-1H-imidazol-1-yl)-9H-purin-6-amine; 2-(5-fluoropyridin-3-yl)-9-isopropyl-N-(2-(7-methyl-1H-indol-3-yl)ethyl)-9H-purin-6-amine; N-(2-(1H-indol-3-yl)ethyl)-2-(5-fluoropyridin-3-yl)-9-(oxetan-3-yl)-9H-purin-6-amine; N-(2-(1H-indol-3-yl)ethyl)-2-(5-methylpyridin-3-yl)-9-(oxetan-3-yl)-9H-purin-6-amine; N-(2-(6-fluoro-1H-indol-3-yl)ethyl)-2-(5-fluoropyridin-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-amine; 2-(5-fluoropyridin-3-yl)-9-isopropyl-N-(2-(6-methyl-1H-indol-3-yl)ethyl)-9H-purin-6-amine; 2-(5-fluoropyridin-3-yl)-9-isopropyl-N-(2-(2-methyl-1H-indol-3-yl)ethyl)-9H-purin-6-amine; N-(2-(4-fluoro-1H-indol-3-yl)ethyl)-2-(5-fluoropyridin-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-amine; N-(2-(7-fluoro-1H-indol-3-yl)ethyl)-2-(5-fluoropyridin-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-amine; 2-(5-fluoropyridin-3-yl)-9-isopropyl-N-(2-(4-methyl-1H-indol-3-yl)ethyl)-9H-purin-6-amine; 4-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-7-isopropyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-4-ylamino)ethyl)phenol; 9-isopropyl-2-(pyridin-3-yl)-N-(2-(pyridin-4-yl)ethyl)-9H-purin-6-amine; N-(2-(1H-pyrrolo[2,3-b]pyridin-5-yl)ethyl)-9-isopropyl-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-amine; 4-(2-(2-(5-fluoropyridin-3-yl)-9-(1-hydroxypropan-2-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)-2-methylphenol; 4-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-cyclohexyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(9-isopropyl-2-(thiophen-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; and 1-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-6-(4-hydroxyphenethylamino)-9H-purin-9-yl)ethyl)pyrrolidin-2-one; or a salt thereof.

8. A method of increasing the number of stem and progenitor cells; said method comprising contacting the stem cells with an agent capable of antagonizing the activity and/or expression of aryl hydrocarbon receptor and/or a down-stream effector of aryl hydrocarbon receptor pathway.

9. The method of Claim 8, wherein said agent capable of antagonizing the activity and/or expression of aryl hydrocarbon receptor and/or a down-stream effector of aryl hydrocarbon receptor pathway is selected from:
- (i) an organic compound,
 - (ii) a small interfering RNA molecule inhibiting the expression of aryl hydrocarbon receptor, and,
 - (iii) an antisense oligonucleotide inhibiting the expression of aryl hydrocarbon receptor.
10. The method of Claim 8, wherein said agent capable of antagonizing the activity and/or expression of aryl hydrocarbon receptor is a compound of claim 1.
11. The method of claim 8 in which the method is carried out *in vivo*, *in vitro* or *ex vivo*.
12. The method of claim 11 in which the stem cells are human.
13. The method of claim 12 in which the stem cells are derived from bone marrow.
14. The method of claim 12 in which the stem cells are derived from umbilical cord blood.
15. The methods of claim 13 or 14 in which the stem cells are hematopoietic stem cells.
16. A method of expanding hematopoietic stem cells, comprising (a) providing a starting cell population comprising hematopoietic stem cells and (b) culturing said starting cell population *ex vivo* in presence of an agent capable of antagonizing the activity and/or expression of aryl hydrocarbon receptor and/or a down-stream effector of aryl hydrocarbon receptor pathway, under suitable conditions for expanding hematopoietic stem cells.
17. The method of Claim 16, wherein said agent capable of down-regulating the activity of aryl hydrocarbon receptor is selected from:

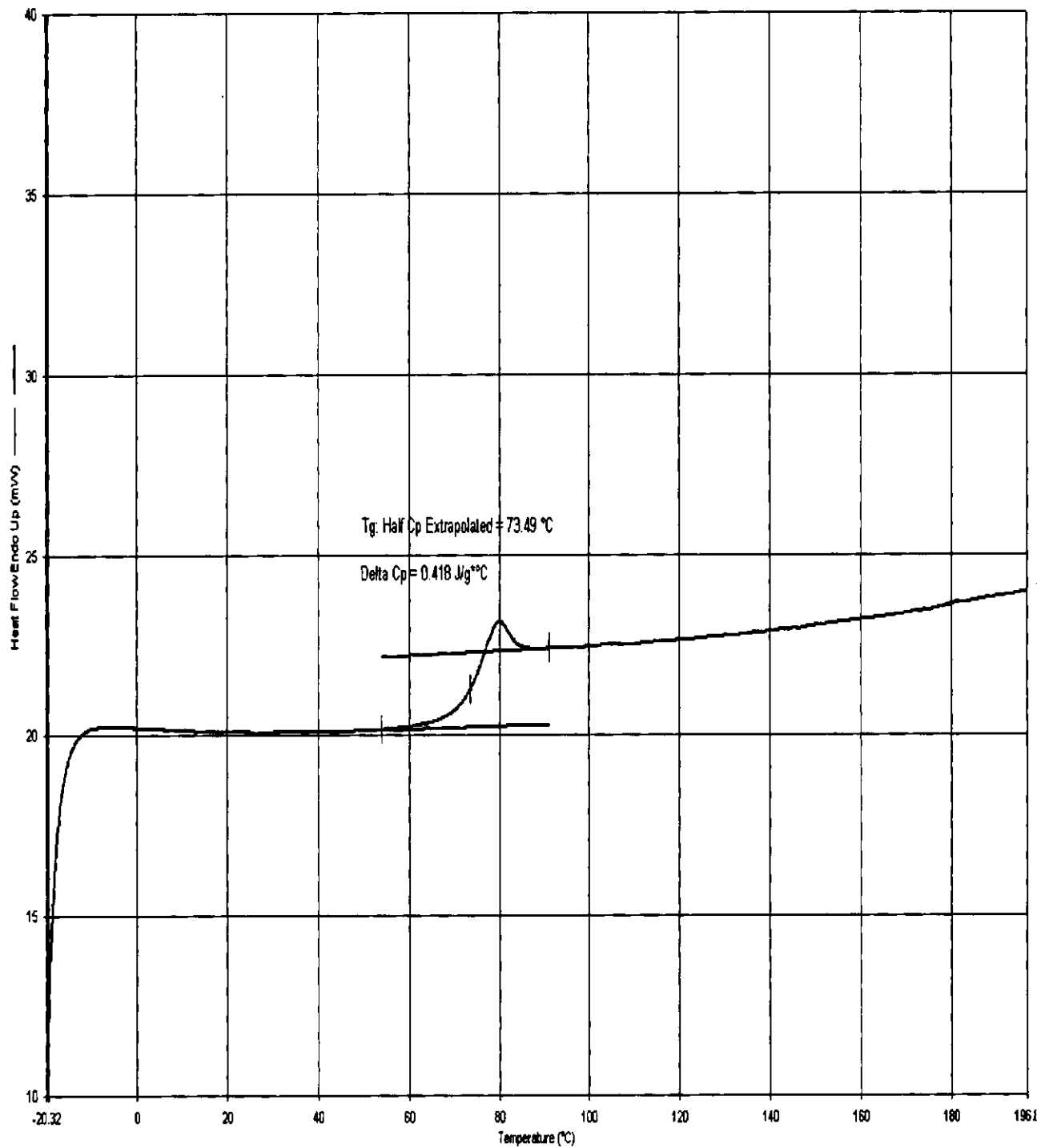
- (i) an organic compound,
- (ii) a small interfering RNA molecule inhibiting the expression of aryl hydrocarbon receptor, and,
- (iii) an antisense oligonucleotide inhibiting the expression of aryl hydrocarbon receptor.

18. The method of Claim 17, wherein said organic compound is 4-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol.
19. The method of Claim 16, wherein a down-stream effector of aryl hydrocarbon receptor pathway is selected from Cyp1B1, Cyp1A1, Beta catenin, AHRR, STAT5 and STAT1.
20. The method of Claim 16, wherein said agent capable of down-regulating the activity of aryl hydrocarbon receptor is a compound of any one of claims 1-7.
21. The method of Claim 16 or 18, wherein said starting cell population is enriched in CD34+ cells.
22. The method of Claim 16 or 18, wherein said starting cell population is derived from umbilical cord blood cells.
23. The method of Claim 16 or 18, wherein said starting cell population is derived from one or two cord blood units, preferably one cord blood unit.
24. The method of Claim 16 or 18, wherein said starting cell population is derived from mobilized peripheral blood cells.
25. The method of claim 24 wherein the mobilized peripheral blood cells are obtained from a single mammalian subject.

26. The method of Claim 16 or 18, wherein said starting cell population essentially consists of CD34+ cells purified from one or two cord blood units, preferably one cord blood unit.
27. The method of Claim 16 or 18, wherein said starting cell population essentially consists of CD34+ cells purified from one or two cord blood units using affinity chromatography columns or magnetic beads comprising CD34 antigen binding antibody fragments.
28. The method of Claim 16 or 18, wherein said conditions for hematopoietic stem cell expansion include culturing said starting cell population in presence of a sufficient amount of IL6, Flt3-L, TPO and SCF and a compound of claim 1.
29. The method of Claim 16 or 18, wherein said compound of Claim 1 is administered in the cell culture medium at a concentration between 1pM and 10 μ M, for example between 10pM and 100 μ M.
30. The method of Claim 16 or 18, wherein said starting cell population essentially consists of CD34+ cells purified from one or two cord blood units, preferably one cord blood unit, and said starting cell population is cultured in presence of a compound of claim 1 from about 3 days to about 90 days, preferably between 7 to 35 days.
31. The method of Claim 16 or 18, wherein said starting cell population is cultured in presence of a compound of Claim 1 during a time sufficient for a 10 to 50000 fold expansion of CD34+ cells.
32. A kit for expanding hematopoietic stem cells, comprising a compound of Claim 1 and instructions for use in a method of Claim 16 and, optionally, one or more of the following: cytokines, growth factors and cell growth media.
33. The kit according to Claim 32, wherein said one or more cytokines or growth factors is selected from the group consisting of IL6, Flt3-L, SCF and TPO .

34. A cell population with expanded hematopoietic stem cells, obtainable or as obtained by the method of Claim 16 or 18.
35. A composition comprising the cell population of Claim 34 resuspended in a pharmaceutically acceptable medium suitable for administration to a mammalian host.
36. A composition comprising a cell population with expanded hematopoietic stem cells derived from one or two cord blood units, preferably one cord blood unit, wherein said composition contains a total amount of cells of at least 10^5 cells, 10^7 cells, 10^8 cells or 10^9 cells, and wherein between 20-100% of total cells are CD34+ cells.
37. The composition of Claim 36, wherein said composition contains between 0.1%-40% of total cells expressing CD34 and Thy1 markers; 20-80% of total cells expressing CD34 and CD45RA markers; 10-95% of cells being CD38+; and 5-70% of cells being CD133+.
38. The composition according to any one of Claims 35-37 for use in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in mammalian subject.
39. The composition according to any one of Claims 35-37, for treating a patient suffering from impaired hematopoiesis.
40. The composition of Claim 39, wherein the patient is suffering from an inherited immunodeficient disease, an autoimmune disorder or hematopoietic disorder.
41. The composition of Claim 40, wherein said hematopoietic disorder is selected from Acute myeloid leukemia, Acute lymphoblastic leukemia, Chronic myeloid leukemia, Chronic lymphocytic leukemia, Myeloproliferative disorders, Myelodysplastic syndromes, Multiple myeloma, Non-Hodgkin lymphoma, Hodgkin disease, Aplastic anemia, Pure red cell aplasia, Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria, Fanconi anemi, Thalassemia major, Sickle cell anemia, Severe combined immunodeficiency, Wiskott-Aldrich syndrome, Hemophagocytic lymphohistiocytosis and inborn errors of metabolism.

42. The composition of any on Claims 35-37, wherein said composition is appropriate for intravenous infusion and said composition comprises at least 10^4 cells / kg transfused in the patient, preferably between 10^5 cells / kg and 10^9 cells / kg.
43. A method of treating an inherited immunodeficient disease, an autoimmune disease and/or a hematopoietic disorder comprising administration to a patient in need of such treatment hematopoietic stem cells expanded by an agent capable of down-regulating the activity and/or expression of aryl hydrocarbon receptor and/or a down-stream effector of AHR pathway.
44. The method of claim 43, wherein said agent capable of down-regulating the activity and/or expression of aryl hydrocarbon receptor is a compound of claim 1.
45. The method of claim 43, wherein the administration is an autologous transplantation and the hematopoietic disorder is selected from Multiple myeloma, Non-Hodgkin lymphoma, Hodgkin disease, Acute myeloid leukemia, Neuroblastoma, Germ cell tumors, Autoimmune disorders and Amyloidosis.
46. The method of claim 45 wherein the autoimmune disorders are selected from Systemic lupus erythematosus and systemic sclerosis.
47. The method of claim 46 wherein the administration is an allogeneic transplantation and the hematopoietic disorder is selected from Acute myeloid leukemia, Acute lymphoblastic leukemia, Chronic myeloid leukemia, Chronic lymphocytic leukemia, Myeloproliferative disorders, Myelodysplastic syndromes, Multiple myeloma, Non-Hodgkin lymphoma, Hodgkin disease, Aplastic anemia, Pure red cell aplasia, Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria, Fanconi anemi, Thalassemia major, Sickle cell anemia, Severe combined immunodeficiency, Wiskott-Aldrich syndrome, Hemophagocytic lymphohistiocytosis and inborn errors of metabolism.



SOLICITUD INTERNACIONAL PUBLICADA DE ACUERDO CON EL TRATADO DE COOPERACIÓN EN MATERIA DE PATENTES (TCP)

(19) Organización Mundial de la Propiedad Intelectual
Oficina Internacional

(43) Fecha de Publicación Internacional
27 de Mayo de 2010 (27.05.2010)

(10) Número de Publicación Internacional
PCT WO 2010/059401 A3

(51) Clasificación Internacional de Patente:

C07D 473/34 (2006.01) A61K 31/519 (2006.01)
C07D 487/04 (2006.01) A61P 37/00 (2006.01)
A61K 31/52 (2006.01)

(21) Número de Solicitud Internacional:

PCT/US2009/062646

(22) Fecha de Presentación Internacional:

29 de Octubre de 2009 (29.10.2009)

(25) Idioma de Presentación: Inglés

(26) Idioma de Publicación: Inglés

(30) Información de Prioridad

61/109,821 30-Octubre-2008 (30.10.2008) US
61/242,765 15-Septiembre-2009 (15.09.2009) US

(71) Solicitantes (para todos los Estados (Países) designados excepto US): **IRM LLC** [US/--]; Hurst Holme, 12 Trott Road, Hamilton, HM 11 (BM). **THE SCRIPPS RESEARCH INSTITUTE** [US/US]; 10550 North Torrey Pines Road, La Jolla, California 92037 (US).

(72) Inventores; e

(75) Inventors/Solicitantes (para US solamente): **BOITANO, Anthony** [US/US]; 13037 Cavalry Court, San Diego, California 92129 (US). **COOKE, Michael** [US/US]; 4265 Ingleside Avenue, San Diego, California 92103 (US). **PAN, Shifeng** [US/US]; 13880 Kerry Lane, San Diego, California 92130 (US). **SCHULTZ, Peter G.** [US/US]; 1650 La Jolla Rancho, La Jolla, California 92037 (US). **TELLEW, John** [US/US]; 1340 Caminito Balada, La Jolla, California 92037 (US). **WAN, Yongqin** [CN/US]; 19 Santa Eugenia Irvine, California 92026 (US). **WANG, Xing** [CN/US]; 16152 Avenida Venusto, No. 4, San Diego, California 92128 (US).

(74) Agentes : **REID, Scott** y colaboradores; Genomics Institute of the Novartis Research Foundation, 10675 John Jay Hopkins Drive, San Diego, California 92121 (US).

(81) Estados (Países) Designados (a menos que se indique de otra manera, para cada tipo de protección nacional disponible): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) Estados (Países) Designados (a menos que se indique de otra manera, para cada tipo de protección regional disponible): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasiáticos (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), Europeos (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Declaraciones de acuerdo con la Regla 4.17:

- con respecto al derecho de la solicitante de solicitar y otorgársele una patente (Regla 4.17(ii))
- de inventoría (Regla 4.17(iv))

Publicada:

- con reporte de búsqueda internacional (Art. 21(3))
- antes del vencimiento del límite de tiempo para enmendar las reivindicaciones, y para volverse a publicar en el caso de recibirse las enmiendas (Regla 48.2(h))

(88) Fecha de publicación del reporte de búsqueda internacional: 23 de Septiembre de 2010

(54) Título : COMPUESTOS QUE EXPANDEN LAS CÉLULAS MADRE HEMATOPOIÉTICAS

(57) Resumen: La presente invención se refiere a compuestos y composiciones para expandir el número de células CD34⁺ para trasplante. La invención se refiere además a una población celular que comprende células madre hematopoiéticas (HSCs) expandidas, y a su uso en trasplante autólogo o alogénico para el tratamiento de los pacientes con enfermedades de inmunodeficiencia y autoinmunes heredadas y diversos trastornos hematopoiéticos, con el fin de reconstituir los linajes de células hematopoiéticas y las defensas del sistema inmunitario.

WO 2010/059401 A3

COMPUESTOS QUE EXPANDEN LAS CÉLULAS MADRE
HEMATOPOIÉTICAS

5 **REFERENCIA CRUZADA A SOLICITUDES RELACIONADAS**

Esta solicitud reivindica el beneficio de prioridad de la Solicitud Provisional de Patente de los Estados Unidos de Norteamérica Número 61/109,821, presentada el 30 de octubre de 2008, y de la Solicitud Provisional de Patente de los Estados Unidos
10 de Norteamérica Número 61/242,765, presentada el 15 de septiembre de 2009. Las divulgaciones completas de estas solicitudes se incorporan a la presente como referencia en su totalidad y para todos los propósitos.

15 **ANTECEDENTES DE LA INVENCION**

Campo de la Invención

La presente invención se refiere a compuestos y composiciones para expandir el número de células CD34⁺ para trasplante. La invención se refiere además a una población celular
20 que comprende células madre hematopoiéticas (HSCs) expandidas, y a su uso en trasplante autólogo o alogénico para el tratamiento de los pacientes con enfermedades de inmunodeficiencia y autoinmunes heredadas y diversos trastornos hematopoiéticos para reconstituir los linajes de células hematopoiéticas y las defensas del sistema
25 inmunitario.

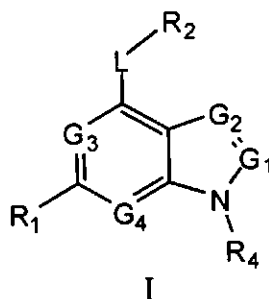
Antecedentes

Las células madre hematopoiéticas (HSCs) son capaces de regenerar todos los productos sanguíneos durante toda la vida de un individuo, equilibrando su auto-renovación con la diferenciación de la progenie. Las células madre hematopoiéticas tienen potencial terapéutico como un resultado de su capacidad para restablecer las células sanguíneas e inmunitarias en los receptores de trasplantes. Adicionalmente, las células madre hematopoiéticas tienen el potencial para generar células para otros tejidos, tales como cerebro, músculo e hígado. Actualmente se emplean métodos de trasplante de médula ósea humana autólogo y alogénico como terapias para leucemia, linfoma, y otras enfermedades amenazantes de la vida. Para estos procedimientos, se deben aislar un gran número de células madre para asegurar que haya suficientes células madre hematopoiéticas para injertarse. El número de células madre hematopoiéticas disponibles para el tratamiento es una limitación clínica.

La presente invención se refiere a compuestos y composiciones para expandir las poblaciones de células madre hematopoiéticas y a su utilización.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

En un aspecto, la presente invención proporciona un compuesto de la fórmula I:



5

en donde:

G_1 se selecciona a partir de N y CR_3 ;

G_2 , G_3 y G_4 se seleccionan independientemente a partir de CH y N; con la condición de que cuando menos uno de G_3 y G_4 es N; con la condición de que G_1 y G_2 no son ambos N;

L se selecciona a partir de $-NR_{5a}(CH_2)_{0-3}-$ (0-3 en la presente significa 0, 1, 2 ó 3), $-NR_{5a}CH(C(O)OCH_3)CH_2-$, $-NR_{5a}(CH_2)_2NR_{5b}-$, $-NR_{5a}(CH_2)_2S-$, $-NR_{5a}CH_2CH(CH_3)CH_2-$, $-NR_{5a}CH_2CH(OH)-$ y $-NR_{5a}CH(CH_3)CH_2-$; en donde R_{5a} y R_{5b} se seleccionan independientemente a partir de hidrógeno y alquilo de 1 a 4 átomos de carbono;

R_1 se selecciona a partir de hidrógeno, fenilo, tiofenilo, furanilo, 1H-benzo-imidazolilo, isoquinolinilo, 1H-imidazo-piridinilo, benzo-tiofenilo, pirimidinilo, 1H-pirazolilo, piridinilo, 1H-imidazolilo, pirrolidinilo, pirazinilo, piridazinilo, 1H-pirrolilo y tiazolilo; en donde dichos fenilo, tiofenilo, furanilo, 1H-benzo-imidazolilo, isoquinolinilo, 1H-imidazo-piridinilo, benzo-tiofenilo, pirimidinilo, 1H-pirazolilo, piridinilo, 1H-imidazolilo, pirrolidinilo, pirazinilo, piridazinilo, 1H-pirrolilo o tiazolilo de R_1 pueden estar opcionalmente sustituidos por 1 a 3 radicales seleccionados independientemente a partir de ciano,

hidroxilo, alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, alcoxilo de 1 a 4 átomos de carbono, halógeno, alquilo de 1 a 4 átomos de carbono sustituido por halógeno, alcoxilo de 1 a 4 átomos de carbono sustituido por halógeno, hidroxilo, amino, $-C(O)R_{8a}$, $-S(O)_{0-2}R_{8a}$,
 5 $-C(O)OR_{8a}$ y $-C(O)NR_{8a}R_{8b}$; en donde R_{8a} y R_{8b} se seleccionan independientemente a partir de hidrógeno y alquilo de 1 a 4 átomos de carbono; con la condición de que R_1 y R_3 no son ambos hidrógeno;

R_2 se selecciona a partir de $-S(O)_2NR_{6a}R_{6b}$, $-NR_{9a}C(O)R_{9b}$,
 10 $-NR_{6a}C(O)NR_{6b}R_{6c}$, fenilo, 1H-pirrolo-piridin-3-ilo, 1H-indolilo, tiofenilo, piridinilo, 1H-1,2,4-triazolilo, 2-oxo-imidazolidinilo, 1H-pirazolilo, 2-oxo-2,3-dihidro-1H-benzo-imidazolilo y 1H-indazolilo; en donde R_{6a} , R_{6b} y R_{6c} se seleccionan independientemente a partir de hidrógeno y alquilo de 1 a 4 átomos de carbono; en donde estos
 15 fenilo, 1H-pirrolo-piridin-3-ilo, 1H-indolilo, tiofenilo, piridinilo, 1H-1,2,4-triazolilo, 2-oxo-imidazolidinilo, 1H-pirazolilo, 2-oxo-2,3-dihidro-1H-benzo-imidazolilo o 1H-indazolilo de R_2 están opcionalmente sustituidos con 1 a 3 radicales seleccionados independientemente a partir de hidroxilo, halógeno, metilo, metoxilo,
 20 amino, $-O(CH_2)_n$ $NR_{7a}R_{7b}$, $-S(O)_2NR_{7a}R_{7b}$, $-OS(O)_2NR_{7a}R_{7b}$ y $-NR_{7a}S(O)_2R_{7b}$; en donde R_{7a} y R_{7b} se seleccionan independientemente a partir de hidrógeno y alquilo de 1 a 4 átomos de carbono;

R_3 se selecciona a partir de hidrógeno, alquilo de 1 a 4 átomos
 25 de carbono, y bifenilo; y

R₄ se selecciona a partir de alquilo de 1 a 10 átomos de carbono, prop-1-en-2-ilo, ciclohexilo, ciclopropilo, 2-(2-oxo-pirrolidin-1-il)-etilo, oxetan-3-ilo, benzhidrilo, tetrahidro-2H-piran-3-ilo, tetrahidro-2H-piran-4-ilo, fenilo, tetrahidrofuran-3-ilo, bencilo, (4-pentil-fenil)-(fenil)-metilo y 1-(1-(2-oxo-6,9,12-trioxa-3-aza-tetradecan-14-il)-1H-1,2,3-triazol-4-il)-etilo; en donde estos alquilo, ciclopropilo, ciclohexilo, 2-(2-oxo-pirrolidin-1-il)-etilo, oxetan-3-ilo, oxetan-2-ilo, benzhidrilo, tetrahidro-2H-piran-2-ilo, tetrahidro-2H-piran-3-ilo, tetrahidro-2H-piran-4-ilo, fenilo, tetrahidrofuran-3-ilo, tetrahidrofuran-2-ilo, bencilo, (4-pentil-fenil)-(fenil)-metilo, o 1-(1-(2-oxo-6,9,12-trioxa-3-aza-tetradecan-14-il)-1H-1,2,3-triazol-4-il)-etilo pueden estar opcionalmente sustituidos con 1 a 3 radicales seleccionados independientemente a partir de hidroxilo, alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, y alquilo de 1 a 4 átomos de carbono sustituido por halógeno; o los derivados de N-óxido, derivados de pro-fármaco, derivados protegidos, los isómeros individuales y mezclas de isómeros de los mismos; o las sales (de preferencia las sales farmacéuticamente aceptables), y solvatos (por ejemplo, hidratos) de estos compuestos.

20

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

La Figura 1 da a conocer el patrón de difracción en polvo de rayos-X (PXRD) de la modificación en forma sólida A del 4-(2-(2-(benzo-[b]-tiofen-3-il)-9-isopropil-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol.

Las Figuras 2 a 12 dan a conocer los patrones de difracción en polvo de rayos-X (PXRD) de las formas sólidas de las sales de 4-(2-

25

(2-(benzo-[b]-tiofen-3-il)-9-isopropil-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol, respectivamente las sales de nitrato, mesilato, tosilato, clorhidrato, sulfato, besilato, esilato, bromhidrato, orotato, fumarato y napadisilato.

- 5 La Figura 13 da a conocer el patrón de calorimetría de exploración diferencial de la forma amorfa del 4-(2-(2-(benzo-[b]-tiofen-3-il)-9-isopropil-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

Definiciones

- 10 "Alquilo", como un grupo y como un elemento estructural de otros grupos, por ejemplo alquilo y alcoxilo sustituidos por halógeno, puede ser de cadena recta o ramificada. Por ejemplo, alquilo incluye metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, isobutilo, butilo secundario, butilo terciario, etc. Alcoxilo de 1 a 4 átomos de carbono incluye
15 metoxilo, etoxilo, y similares. Halo-alquilo sustituido incluye trifluorometilo, pentafluoro-etilo, y similares.

- "Arilo" significa un ensamble de anillo aromático monocíclico o bicíclico fusionado que contiene de seis a diez átomos de carbono del anillo. Por ejemplo, arilo puede ser fenilo o naftilo, de
20 preferencia fenilo. "Arieno" significa un radical divalente derivado a partir de un grupo arilo.

- "Heteroarilo" es como se define para arilo, en donde uno o más de los miembros del anillo son un heteroátomo o una fracción seleccionada a partir de -O-, -N=, -NR-, -C(O) -, -S-, -S(O) - o
25 -S(O)₂-, en donde R es hidrógeno, alquilo de 1 a 4 átomos de

carbono, o un grupo protector de nitrógeno. Por ejemplo heteroarilo incluye piridilo, indolilo, indazolilo, quinoxalinilo, quinolinilo, benzo-furanilo, benzo-piranilo, benzo-tiopiranilo, benzo-[1,3]-dioxol, imidazolilo, benzo-imidazolilo, pirimidinilo, furanilo, oxazolilo, isoxazolilo, triazolilo, tetrazolilo, pirazolilo, tienilo, etc.

"Cicloalquilo" significa un ensamble de anillo monocíclico, bicíclico fusionado, o policíclico puenteado, saturado o parcialmente insaturado que contiene el número de átomos del anillo indicado. Por ejemplo, cicloalquilo de 3 a 10 átomos de carbono incluye ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, etc. "Hetero-cicloalquilo" significa cicloalquilo, como se define en esta solicitud, en el entendido de que uno o más de los átomos de carbono del anillo indicados, son reemplazados por una fracción seleccionada a partir de -O-, -N=, -NR-, -C(O)-, -S-, -S(O)- o -S(O)₂-, en donde R es hidrógeno, alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, o un grupo protector de nitrógeno. Por ejemplo, hetero-cicloalquilo de 3 a 8 átomos de carbono, como se utiliza en esta solicitud para describir los compuestos de la invención, incluye morfolino, pirrolidinilo, piperazinilo, piperidinilo, piperidinilona, 2-oxo-pirrolidin-1-ilo, 1,4-dioxa-8-aza-espiro-[4.5]-dec-8-ilo, etc.

"Halógeno" (o halo) de preferencia representa cloro o flúor, pero también puede ser bromo o yodo.

"Células madre hematopoiéticas" (HSCs), como se utiliza en la presente, se refiere a las células sanguíneas inmaduras que tienen la capacidad para auto-renovarse y para diferenciarse en más

células sanguíneas maduras, las cuales comprenden granulocitos (por ejemplo, pro-mielocitos, neutrófilos, eosinófilos, basófilos), eritrocitos (por ejemplo, reticulocitos, eritrocitos), trombocitos (por ejemplo, megacarioblastos, megacariocitos productores de plaquetas, plaquetas), y monocitos (por ejemplo, monocitos, macrófagos). Las células madre hematopoiéticas se describen de una manera indistinta como células madre a través de toda la memoria descriptiva. En la técnica se sabe que estas células pueden o no incluir las células CD34⁺. Las células CD34⁺ son células inmaduras que expresan el marcador de superficie celular CD34. Se cree que las células CD34⁺ incluyen una sub-población de células con las propiedades de las células madre definidas anteriormente. Es bien conocido en la materia que las células madre hematopoiéticas incluyen células madre pluripotentes, células madre multipotentes (por ejemplo, una célula madre linfoide), y/o células madre comprometidas en linajes hematopoiéticos específicos. Las células madre comprometidas en linajes hematopoiéticos específicos pueden ser del linaje de células-T, del linaje de células-B, del linaje de células dendríticas, del linaje de células de Langerhans, y/o del linaje de células de macrófagos específicos del tejido linfoide. En adición, las células madre hematopoiéticas también se refieren a las células madre hematopoiéticas de largo plazo (LT-HSC), y a las células madre hematopoiéticas de corto plazo (ST-HSC). Las células madre hematopoiéticas de corto plazo son más activas y más proliferativas que las células madre hematopoiéticas de largo plazo.

Sin embargo, las células madre hematopoiéticas de largo plazo tienen una auto-renovación ilimitada (es decir, sobreviven durante toda la edad adulta), mientras que las células madre hematopoiéticas de corto plazo tienen una auto-renovación limitada (es decir, sobreviven solamente durante un período de tiempo limitado). Cualquiera de estas células madre hematopoiéticas se puede utilizar en cualquiera de los métodos descritos en la presente. Opcionalmente, las células madre hematopoiéticas de corto plazo son útiles porque son altamente proliferativas y, por consiguiente, aumentan rápidamente el número de células madre hematopoiéticas y su progenie. Las células madre hematopoiéticas se obtienen opcionalmente a partir de los productos sanguíneos. Un producto sanguíneo incluye un producto obtenido a partir del cuerpo o de un órgano del cuerpo que contenga células de origen hematopoiético. Estas fuentes incluyen médula ósea no fraccionada, cordón umbilical, sangre periférica, hígado, timo, linfa y bazo. Todos los productos sanguíneos crudos o no fraccionados anteriormente mencionados se pueden enriquecer para las células que tengan características de células madre hematopoiéticas de las maneras conocidas por los expertos en este campo.

"Tratar", "tratando" y "tratamiento" se refieren a un método para aliviar o abatir una enfermedad y/o sus síntomas aunados.

"Expansión", en el contexto de las células, se refiere al aumento en el número de un tipo característico de célula, o tipos de células, a partir de una población celular inicial de las células, las

cuales pueden o no ser idénticas. Las células iniciales utilizadas para la expansión pueden no ser iguales a las células generadas a partir de la expansión.

5 "Población celular" se refiere a un mamífero eucariótico, de preferencia a un ser humano, a células aisladas a partir de fuentes biológicas, por ejemplo, productos sanguíneos o tejidos y derivados a partir de más de una célula.

"Enriquecida", cuando se utiliza en el contexto de la población celular, se refiere a una población celular seleccionada basándose en la presencia de uno o más marcadores, por ejemplo, CD34⁺.

El término "células CD34⁺" se refiere las células que expresan en su superficie el marcador CD34. Las células CD34⁺ se pueden detectar y contar utilizando, por ejemplo, citometría de flujo y anticuerpos anti-CD34 fluorescentemente marcados.

15 "Enriquecida en células CD34⁺" significa que una población celular se ha seleccionado basándose en la presencia del marcador CD34. De conformidad con lo anterior, el porcentaje de células CD34⁺ en la población celular después del método de selección, es más alto que el porcentaje de células CD34⁺ en la población celular inicial, antes del paso de selección, basándose en los marcadores CD34. Por ejemplo, las células CD34⁺ pueden representar cuando menos el 50 por ciento, el 60 por ciento, el 70 por ciento, el 80 por ciento, o cuando menos el 90 por ciento de las células en una población celular enriquecida en células CD34⁺.

25 "Unidad de sangre de cordón umbilical" se refiere a la sangre

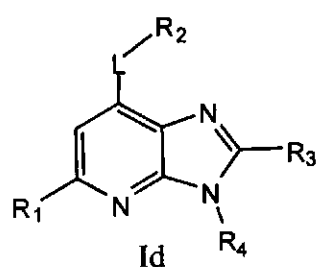
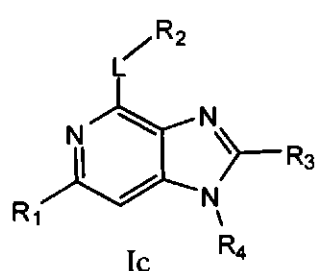
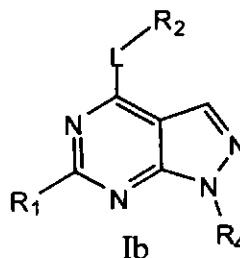
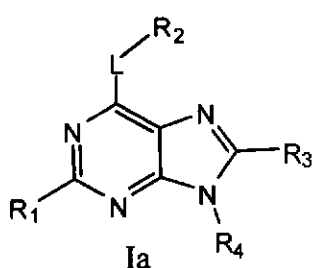
recolectada a partir de cordón umbilical de un solo nacimiento.

Descripción de las Modalidades Preferidas

La presente invención se refiere a métodos y composiciones para expandir las poblaciones de células madre hematopoiéticas utilizando un agente capaz de sub-regular la actividad y/o expresión del receptor de hidrocarburo de arilo y/o un efector corriente abajo de la senda del receptor de hidrocarburo de arilo.

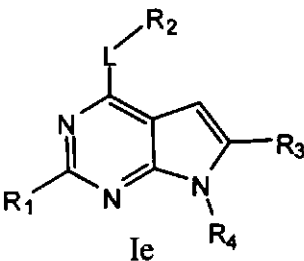
En una modalidad, este agente capaz de sub-regular la actividad y/o expresión del receptor de hidrocarburo de arilo es un compuesto de la fórmula I.

En una modalidad, con referencia a los compuestos de la fórmula I, están los compuestos seleccionados a partir de las fórmulas Ia, Ib, Ic, Id y Ie:



25

5



en donde:

L se selecciona a partir de $-NR_{5a}(CH_2)_{0-3}-$, $-NR_{5a}CH(C(O)OCH_3)CH_2-$, $-NR_{5a}(CH_2)_2NR_{5b}-$, $-NR_{5a}(CH_2)_2S-$, $-NR_{5a}CH_2CH(CH_3)CH_2-$, $-NR_{5a}CH_2CH(OH)-$ y $-NR_{5a}CH(CH_3)CH_2-$; en donde R_{5a} y R_{5b} se seleccionan independientemente a partir de hidrógeno y alquilo de 1 a 4 átomos de carbono; en donde el lado derecho de la fracción L como se muestra está unido a R_2 , por ejemplo: $-NR_{5a}(CH_2)_{0-3}-R_2$, $-NR_{5a}CH(C(O)OCH_3)CH_2-R_2$, $-NR_{5a}(CH_2)_2NR_{5b}-R_2$, $-NR_{5a}(CH_2)_2S-R_2$, $-NR_{5a}CH_2CH(CH_3)CH_2-R_2$, $-NR_{5a}CH_2CH(OH)-R_2$ y $-NR_{5a}CH(CH_3)CH_2-R_2$;

R_1 se selecciona a partir de hidrógeno, fenilo, tiofen-2-ilo, tiofen-3-ilo, furan-3-ilo, 1H-benzo-[d]-imidazol-1-ilo, isoquinolin-4-ilo, 1H-imidazo-[4,5-b]-piridin-1-ilo, benzo-[b]-tiofen-3-ilo, pirimidin-5-ilo, 1H-pirazol-4-ilo, piridin-2-ilo, piridin-4-ilo, 1H-imidazol-1-ilo, pirrolidin-1-ilo, pirazin-2-ilo, piridin-3-ilo, piridazin-4-ilo, 1H-pirrol-2-ilo y tiazol-5-ilo;

en donde estos fenilo, tiofen-2-ilo, tiofen-3-ilo, furan-3-ilo, 1H-benzo-[d]-imidazol-1-ilo, isoquinolin-4-ilo, 1H-imidazo-[4,5-b]-piridin-1-ilo, benzo-[b]-tiofen-3-ilo, pirimidin-5-ilo, piridinil-2-ilo, piridin-4-

ilo, 1H-imidazol-1-ilo, pirrolidin-1-ilo, pirazin-2-ilo, piridinil-3-ilo, piridazin-4-ilo, 1H-pirrol-2-ilo o tiazol-5-ilo de R_1 pueden estar opcionalmente sustituidos por 1 a 3 radicales seleccionados independientemente a partir de ciano, hidroxilo, alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, alcóxido de 1 a 4 átomos de carbono, halógeno, alquilo de 1 a 4 átomos de carbono sustituido por halógeno, $-S(O)_{0-2}R_{8a}$ y $-C(O)OR_{8a}$; en donde R_{8a} y R_{8b} se seleccionan independientemente a partir de hidrógeno y alquilo de 1 a 4 átomos de carbono; con la condición de que R_1 y R_3 no son ambos hidrógeno;

R_2 se selecciona a partir de $-NR_{6a}C(O)NR_{6b}R_{6c}$, fenilo, 1H-pirrolo-[2,3-b]-piridin-3-ilo, 1H-pirrolo-[2,3-b]-piridin-5-ilo, 1H-indol-3-ilo, tiofen-3-ilo, piridin-2-ilo, piridin-3-ilo, piridin-4-ilo, 1H-1,2,4-triazol-5-ilo, 2-oxo-imidazolidin-1-ilo, 1H-pirazol-3-ilo, 1H-pirazol-4-ilo, 2-oxo-2,3-dihidro-1H-benzo-[d]-imidazol-5-ilo y 1H-indazol-3-ilo; en donde R_{6a} , R_{6b} y R_{6c} se seleccionan independientemente a partir de hidrógeno y alquilo de 1 a 4 átomos de carbono; en donde estos fenilo, 1H-pirrolo-[2,3-b]-piridin-3-ilo, 1H-pirrolo-[2,3-b]-piridin-5-ilo, 1H-indol-3-ilo, tiofen-3-ilo, piridin-2-ilo, piridin-3-ilo, piridin-4-ilo, 1H-1,2,4-triazol-5-ilo, 2-oxo-imidazolidin-1-ilo, 1H-pirazol-3-ilo, 1H-pirazol-4-ilo, 2-oxo-2,3-dihidro-1H-benzo-[d]-imidazol-5-ilo o 1H-indazol-3-ilo de R_2 están opcionalmente sustituidos con 1 a 3 radicales seleccionados independientemente a partir de hidroxilo, halógeno, metóxido, amino, $-OS(O)_2NR_{7a}R_{7b}$ y $-NR_{7a}S(O)_2R_{7b}$; en donde R_{7a} y R_{7b} se seleccionan independientemente a partir de

hidrógeno y alquilo de 1 a 4 átomos de carbono;

R_3 se selecciona a partir de hidrógeno, alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, y bifenilo; y

R_4 se selecciona a partir de isopropilo, metilo, etilo, prop-1-en-2-ilo, isobutilo, ciclohexilo, butilo terciario, (S)-butilo secundario, (R)-butilo secundario, 1-hidroxi-propan-2-ilo, (S)-1-hidroxi-propan-2-ilo, (R)-1-hidroxi-propan-2-ilo, nonan-2-ilo, 2-(2-oxo-pirrolidin-1-il)-etilo, oxetan-3-ilo, oxetan-2-ilo, benzhidrilo, tetrahidro-2H-piran-2-ilo, fenilo, tetrahidrofuran-3-ilo y bencilo; en donde estos ciclohexilo, 2-(2-oxo-pirrolidin-1-il)-etilo, oxetan-3-ilo, oxetan-2-ilo, benzhidrilo, tetrahidro-2H-piran-4-ilo, fenilo, tetrahidrofuran-3-ilo o bencilo pueden estar opcionalmente sustituidos con 1 a 3 radicales seleccionados independientemente a partir de alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, y alquilo de 1 a 4 átomos de carbono sustituido por halógeno.

En otra modalidad, L se selecciona a partir de $-NR_{5a}(CH_2)_{0-3}-$, $-NR_{5a}CH(C(O)OCH_3)CH_2-$, $-NR_{5a}(CH_2)_2NR_{5b}-$, $-NR_{5a}(CH_2)_2S-$, $-NR_{5a}CH_2CH(CH_3)CH_2-$, $-NR_{5a}CH(CH_3)CH_2-$ y $-NR_{5a}CH_2CH(OH)-$; en donde R_{5a} y R_{5b} se seleccionan independientemente a partir de hidrógeno y metilo; y R_1 se selecciona a partir de hidrógeno, fenilo, tiofen-2-ilo, tiofen-3-ilo, furan-3-ilo, 1H-benzo-[d]-imidazol-1-ilo, isoquinolin-4-ilo, 1H-imidazo-[4,5-b]-piridin-1-ilo, benzo-[b]-tiofen-3-ilo, pirimidin-5-ilo, 1H-pirazol-4-ilo, piridin-2-ilo, piridin-4-ilo, 1H-imidazol-1-ilo, pirrolidin-1-ilo, pirazin-2-ilo, piridin-3-ilo, piridazin-4-ilo, 1H-pirrol-2-ilo y tiazol-5-ilo; en donde estos fenilo, tiofen-2-ilo,

tiofen-3-ilo, furan-3-ilo, 1H-benzo-[d]-imidazol-1-ilo, isoquinolin-4-ilo, 1H-imidazo-[4,5-b]-piridin-1-ilo, benzo-[b]-tiofen-3-ilo, pirimidin-5-ilo, piridinil-2-ilo, piridin-4-ilo, 1H-imidazol-1-ilo, pirrolidin-1-ilo, pirazin-2-ilo, piridinil-3-ilo, piridazin-4-ilo, 1H-pirrol-2-ilo o tiazol-5-ilo de R_1 pueden estar opcionalmente sustituidos por 1 a 3 radicales seleccionados independientemente a partir de ciano, hidroxilo, alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, alcoxilo de 1 a 4 átomos de carbono, halógeno, alquilo de 1 a 4 átomos de carbono sustituido por halógeno, $-S(O)_{0-2}R_{8a}$ y $-C(O)OR_{8a}$; en donde R_{8a} y R_{8b} se seleccionan independientemente a partir de hidrógeno y alquilo de 1 a 4 átomos de carbono; con la condición de que R_1 y R_3 no son ambos hidrógeno.

En otra modalidad, cuando L es $-NR_{5a}(CH_2)_{0-3}$, es de preferencia $-NR_{5a}(CH_2)_{1-3}$ (en donde 1-3 en la presente representa 1, 2 ó 3).

En otra modalidad, R_2 se selecciona a partir de urea, fenilo, 1H-indol-2-ilo, 1H-indol-3-ilo, tiofen-3-ilo, piperidin-1-ilo, piridin-2-ilo, piridin-3-ilo, piridin-4-ilo, 1H-1,2,4-triazol-3-ilo, 1H-1,2,4-triazol-5-ilo, 2-oxo-imidazolidin-1-ilo, 1H-pirazol-3-ilo, 1H-pirazol-4-ilo, 2-oxo-2,3-dihidro-1H-benzo-[d]-imidazol-5-ilo, 1H-benzo-[d]-imidazol-5-ilo y 1H-imidazol-4-ilo; en donde estos fenilo, 1H-indol-2-ilo, 1H-indol-3-ilo, tiofen-3-ilo, piperidin-1-ilo, piridin-2-ilo, piridin-3-ilo, piridin-4-ilo, 1H-1,2,4-triazol-3-ilo, 1H-1,2,4-triazol-5-ilo, 2-oxo-imidazolidin-1-ilo, 1H-pirazol-3-ilo, 1H-pirazol-4-ilo, 2-oxo-2,3-dihidro-1H-benzo-[d]-imidazol-5-ilo o 1H-benzo-[d]-imidazol-5-ilo de

R₂ están opcionalmente sustituidos con hidroxilo, metoxilo, metilo, halógeno, amino y amino-sulfonilo.

En otra modalidad, R₃ se selecciona a partir de hidrógeno, metilo y bifenilo; y R₄ se selecciona a partir de isopropilo, metilo, etilo, prop-1-en-2-ilo, isobutilo, ciclohexilo, butilo secundario, (S)-butilo secundario, (R)-butilo secundario, 1-hidroxi-propan-2-ilo, (S)-1-hidroxi-propan-2-ilo, (R)-1-hidroxi-propan-2-ilo, nonan-2-ilo, 2-(2-oxo-pirrolidin-1-il)-etilo, oxetan-3-ilo, oxetan-2-ilo, benzhidrilo, tetrahidro-2H-piran-2-ilo, fenilo, tetrahidrofuran-3-ilo y bencilo; en donde estos ciclohexilo, 2-(2-oxo-pirrolidin-1-il)-etilo, oxetan-3-ilo, oxetan-2-ilo, benzhidrilo, tetrahidro-2H-piran-4-ilo, fenilo, tetrahidrofuran-3-ilo o bencilo pueden estar opcionalmente sustituidos con 1 a 3 radicales seleccionados independientemente a partir de metilo y trifluoro-metilo.

En otra modalidad, están los compuestos seleccionados a partir de: 4-(2-(2-(benzo-[b]-tiofen-3-il)-9-isopropil-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol; 4-(2-(2-(benzo-[b]-tiofen-3-il)-9-sec-butil-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol; 4-(2-(9-benzhidril-2-(benzo-[b]-tiofen-3-il)-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol; 4-(2-(2-(benzo-[b]-tiofen-3-il)-9-(tetrahidro-2H-piran-3-il)-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol; 4-(2-(9-isopropil-2-(tiofen-2-il)-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol; 4-(2-(2-(benzo-[b]-tiofen-3-il)-9-(4-(trifluoro-metil)-bencil)-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol; 4-(2-(2-(benzo-[b]-tiofen-3-il)-9-isobutil-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol; 4-(2-(2-(benzo-[b]-tiofen-3-il)-9-metil-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol; 4-(2-(2-(benzo-[b]-tiofen-3-il)-9-(4-metil-bencil)-

9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol; N-(2-(1H-indol-3-il)-etil)-2-(benzo-
 [b]-tiofen-3-il)-9-isopropil-9H-purin-6-amina; 2-(benzo-[b]-tiofen-3-il)-
 9-isopropil-N-(2-(tiofen-3-il)-etil)-9H-purin-6-amina; 3-(2-(2-(benzo-
 [b]-tiofen-3-il)-9-isopropil-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol; 2-(benzo-
 5 [b]-tiofen-3-il)-N-(4-fluoro-fenetil)-9-isopropil-9H-purin-6-amina; N-
 (4-amino-fenetil)-2-(benzo-[b]-tiofen-3-il)-9-isopropil-9H-purin-6-
 amina; 4-(2-(9-isopropil-2-(pirimidin-5-il)-9H-purin-6-il-amino)-etil)-
 fenol; 4-(2-(9-isopropil-2-(piridin-3-il)-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol;
 4-(2-(9-isopropil-2-fenil-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol; 4-(2-(9-
 10 isopropil-2-(tiofen-3-il)-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol; 4-(2-(2-
 (furan-3-il)-9-isopropil-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol; 2-(benzo-[b]-
 tiofen-3-il)-N-(4-fluoro-fenetil)-9-fenil-9H-purin-6-amina; N-bencil-8-
 (bifenil-4-il)-9-isopropil-9H-purin-6-amina; 4-(2-(2-(benzo-[b]-tiofen-
 3-il)-9-(nonan-2-il)-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol; N-(2-(1H-indol-3-
 15 il)-etil)-2-(benzo-[b]-tiofen-3-il)-9-sec-butil-9H-purin-6-amina; 5-
 ((3aS,4S,6aR)-2-oxo-hexahidro-1H-tieno-[3,4-d]-imidazol-4-il)-
 pentanoato de 3-(2-(2-(benzo-[b]-tiofen-3-il)-9-isopropil-9H-purin-6-
 il-amino)-etil)-1H-indol-5-ilo; N-(2-(2-(2-(2-(4-(1-(2-(benzo-[b]-tiofen-
 3-il)-6-(4-hidroxi-fenetil-amino)-9H-purin-9-il)-etil)-1H-1,2,3-triazol-1-
 20 il)-etoxi)-etoxi)-etoxi)-etil)-acetamida; 4-(2-(9-isopropil-2-(piridin-4-
 il)-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol; 5-(6-(4-hidroxi-fenetil-amino)-9-
 isopropil-9H-purin-2-il)-nicotinato de etilo; 5-(6-(4-hidroxi-fenetil-
 amino)-9-isopropil-9H-purin-2-il)-nicotinato de etilo; 4-(2-(2-(6-
 fluoro-piridin-3-il)-9-isopropil-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol; 4-(2-(9-
 25 isopropil-2-(4-metil-piridin-3-il)-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol; 5-(6-

(4-hidroxi-fenetil-amino)-9-isopropil-9H-purin-2-il)-nicotinonitrilo; 4-
 (2-(9-isopropil-2-(pirrolidin-1-il)-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol; 4-(2-
 (2-(1H-imidazol-1-il)-9-isopropil-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol; 4-(2-
 (9-isopropil-2-(piridazin-4-il)-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol; 4-(2-(9-
 5 isopropil-2-(pirazin-2-il)-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol; 4-(2-(9-
 isopropil-2-(piridin-2-il)-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol; 4-(2-(9-
 isopropil-2-(5-(metil-sulfonil)-piridin-3-il)-9H-purin-6-il-amino)-etil)-
 fenol; 4-(2-(9-isopropil-2-(5-metil-piridin-3-il)-9H-purin-6-il-amino)-
 etil)-fenol; 4-(2-(2-(4-cloro-piridin-3-il)-9-isopropil-9H-purin-6-il-
 10 amino)-etil)-fenol; 4-(2-(2-(5-fluoro-piridin-3-il)-9-isopropil-9H-purin-
 6-il-amino)-etil)-fenol; 4-(2-(9-isopropil-2-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-
 9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol; 4-(2-(9-isopropil-2-(piridin-3-il)-9H-
 purin-6-il-amino)-etil)-2-metoksi-fenol; 4-(2-(9-isopropil-2-(piridin-3-
 il)-9H-purin-6-il-amino)-etil)-2-metoksi-fenol; N-[2-(6-metoksi-1H-indol-
 15 3-il)-etil]-9-(propan-2-il)-2-(piridin-3-il)-9H-purin-6-amina; N-[2-(5-
 metil-1H-indol-3-il)-etil]-9-(propan-2-il)-2-(piridin-3-il)-9H-purin-6-
 amina; 1-(2-{{9-(propan-2-il)-2-(piridin-3-il)-9H-purin-6-il]-amino}-
 etil)-imidazolidin-2-ona; N-(2-{{9-(propan-2-il)-2-(piridin-3-il)-9H-
 purin-6-il]-amino}-etil)-piridin-2-amina; 9-(propan-2-il)-N-[3-(1H-
 20 pirazol-4-il)-propil]-2-(piridin-3-il)-9H-purin-6-amina; N-{2-[(3-metil-
 1H-1,2,4-triazol-5-il)-sulfanil]-etil}-9-(propan-2-il)-2-(piridin-3-il)-9H-
 purin-6-amina; 1-(2-{{2-(1-benzo-tiofen-3-il)-9-(propan-2-il)-9H-purin-
 6-il]-amino}-etil)-imidazolidin-2-ona; N-[2-(5-amino-1H-1,2,4-triazol-
 3-il)-etil]-2-(1-benzo-tiofen-3-il)-9-(propan-2-il)-9H-purin-6-amina; N-
 25 (2-{{2-(1-benzo-tiofen-3-il)-9-(propan-2-il)-9H-purin-6-il]-amino}-etil)-

piridin-2-amina; 2-(1-benzo-tiofen-3-il)-9-(propan-2-il)-N-[3-(1H-
 pirazol-4-il)-propil]-9H-purin-6-amina; 2-(1-benzo-tiofen-3-il)-N-[3-
 (3,5-dimetil-1H-pirazol-4-il)-propil]-9-(propan-2-il)-9H-purin-6-amina;
 (2-{{2-(1-benzo-tiofen-3-il)-9-(propan-2-il)-9H-purin-6-il}-amino}-etil)-
 5 urea; 5-{{2-(1-benzo-tiofen-3-il)-9-(propan-2-il)-9H-purin-6-il}-
 amino}-metil)-2,3-dihidro-1H-1,3-benzo-diazol-2-ona; N-[2-(1H-indol-
 3-il)-etil]-9-(propan-2-il)-2-(piridin-3-il)-9H-purin-6-amina; N-(4-(2-(9-
 isopropil-2-(piridin-3-il)-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenil)-metan-
 sulfonamida; 4-(2-(2-(piridin-3-il)-9-(tetrahidrofuran-3-il)-9H-purin-6-
 10 il-amino)-etil)-fenol; 4-(2-(9-isopropil-2-(piridin-3-il)-9H-purin-6-il-
 amino)-propil)-fenol; 4-(2-(9-(oxetan-3-il)-2-(piridin-3-il)-9H-purin-6-
 il-amino)-etil)-fenol; 5-(6-(4-hidroxi-fenetil-amino)-9-isopropil-9H-
 purin-2-il)-N-metil-nicotinamida; 4-(2-(9-(1-hidroxi-propan-2-il)-2-
 (piridin-3-il)-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol; sulfamato de 4-(2-(9-
 15 isopropil-2-(piridin-3-il)-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenilo; 4-(2-(2-(2-
 fluoro-piridin-3-il)-9-isopropil-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol; 4-(2-(9-
 isopropil-2-(1-metil-1H-pirrol-2-il)-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol; 4-
 (2-(9-isopropil-2-(tiazol-5-il)-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol; 4-(2-(2-
 (1H-benzo-[d]-imidazol-1-il)-9-isopropil-9H-purin-6-il-amino)-etil)-
 20 fenol; 4-(2-(2-(2,4-dimetil-1H-imidazol-1-il)-9-isopropil-9H-purin-6-il-
 amino)-etil)-fenol; 4-(2-(9-isopropil-2-(2-metil-1H-imidazol-1-il)-9H-
 purin-6-il-amino)-etil)-fenol; 5-(9-sec-butil-6-(4-hidroxi-3-metil-
 fenetil-amino)-9H-purin-2-il)-nicotinonitrilo; N-(2-(1H-pirrolo-[2,3-b]-
 piridin-5-il)-etil)-9-isopropil-2-(piridin-3-il)-9H-purin-6-amina; 9-
 25 isopropil-N-(2-(5-metil-1H-pirazol-3-il)-etil)-2-(piridin-3-il)-9H-purin-

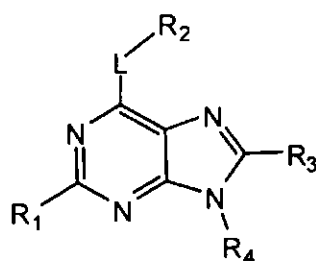
6-amina; 4-(2-(2-(5-fluoro-piridin-3-il)-9-(oxetan-3-il)-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol; 4-(2-(2-(5-cloro-piridin-3-il)-9-isopropil-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol; 4-(2-(9-isopropil-2-(5-(trifluoro-metil)-piridin-3-il)-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol; 5-(6-(2-(1H-indol-3-il)-etil-amino)-9-sec-butil-9H-purin-2-il)-nicotinonitrilo; N-(2-(1H-indol-3-il)-etil)-9-sec-butil-2-(5-metil-piridin-3-il)-9H-purin-6-amina; (R)-N-(2-(1H-indol-3-il)-etil)-9-sec-butil-2-(5-fluoro-piridin-3-il)-9H-purin-6-amina; (S)-N-(2-(1H-indol-3-il)-etil)-9-sec-butil-2-(5-fluoro-piridin-3-il)-9H-purin-6-amina; N-(2-(1H-indol-3-il)-etil)-9-sec-butil-2-(5-fluoro-piridin-3-il)-9H-purin-6-amina; (R)-N-(2-(1H-indol-3-il)-etil)-9-sec-butil-2-(5-metil-piridin-3-il)-9H-purin-6-amina; (S)-N-(2-(1H-indol-3-il)-etil)-9-sec-butil-2-(5-metil-piridin-3-il)-9H-purin-6-amina; 5-(6-(4-hidroxi-fenetil-amino)-9-(oxetan-3-il)-9H-purin-2-il)-nicotinonitrilo; 4-(2-(6-(5-fluoro-piridin-3-il)-1-isopropil-1H-pirazolo-[3,4-d]-pirimidin-4-il-amino)-etil)-fenol; 4-(2-(6-(benzo-[b]-tiofen-3-il)-1-isopropil-1H-pirazolo-[3,4-d]-pirimidin-4-il-amino)-etil)-fenol; (R)-4-(2-(2-(5-fluoro-piridin-3-il)-9-(tetrahidrofuran-3-il)-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol; 4-(2-(9-isopropil-2-(piridin-3-il)-9H-purin-6-il-amino)-etil)-3-metil-fenol; 5-(6-(4-hidroxi-fenetil-amino)-9-isopropil-9H-purin-2-il)-picolinonitrilo; 3-(6-(4-hidroxi-fenetil-amino)-9-isopropil-9H-purin-2-il)-isonicotinonitrilo; 4-(2-(2-(5-fluoro-piridin-3-il)-7-isopropil-7H-pirrolo-[2,3-d]-pirimidin-4-il-amino)-etil)-fenol; 3-(6-(4-hidroxi-fenetil-amino)-9-isopropil-9H-purin-2-il)-picolinonitrilo; 4-(2-(9-isopropil-2-(6-metil-piridin-3-il)-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol; 4-(2-(9-isopropil-2-(isoquinolin-4-il)-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol; 2-cloro-4-(2-(9-

isopropil-2-(piridin-3-il)-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol; 3-fluoro-4-(2-
 (9-isopropil-2-(piridin-3-il)-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol; N-(2-(5-
 cloro-1H-indol-3-il)-etil)-9-isopropil-2-(piridin-3-il)-9H-purin-6-amina;
 N-(2-(5-fluoro-1H-indol-3-il)-etil)-9-isopropil-2-(piridin-3-il)-9H-purin-
 5 6-amina; 4-(2-(9-isopropil-2-(piridin-3-il)-9H-purin-6-il-amino)-etil)-2-
 metil-fenol; 4-(2-(2-(benzo-[b]-tiofen-3-il)-9-(oxetan-3-il)-9H-purin-6-
 il-amino)-etil)-fenol; (S)-4-(2-(2-(benzo-[b]-tiofen-3-il)-9-(tetrahidro-
 furan-3-il)-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol; (R)-4-(2-(2-(benzo-[b]-
 tiofen-3-il)-9-(tetrahidrofuran-3-il)-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol; 2-
 10 (6-(2-(1H-indol-3-il)-etil-amino)-2-(5-fluoro-piridin-3-il)-9H-purin-9-il)-
 propan-1-ol; (R)-2-(6-(2-(1H-indol-3-il)-etil-amino)-2-(5-fluoro-piridin-
 3-il)-9H-purin-9-il)-propan-1-ol; (S)-2-(6-(2-(1H-indol-3-il)-etil-
 amino)-2-(5-fluoro-piridin-3-il)-9H-purin-9-il)-propan-1-ol; (R)-N-(2-
 (1H-indol-3-il)-etil)-2-(5-fluoro-piridin-3-il)-9-(tetrahidrofuran-3-il)-9H-
 15 purin-6-amina; 4-(2-(2-(3H-imidazo-[4,5-b]-piridin-3-il)-9-isopropil-
 9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol; 4-(2-(2-(1H-imidazo-[4,5-b]-piridin-1-
 il)-9-isopropil-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol; 4-(2-(6-(5-fluoro-
 piridin-3-il)-1-isopropil-1H-imidazo-[4,5-c]-piridin-4-il-amino)-etil)-
 fenol; 4-(2-(2-(4,5-dimetil-1H-imidazol-1-il)-9-isopropil-9H-purin-6-il-
 20 amino)-etil)-fenol; 2-(5-fluoro-piridin-3-il)-9-isopropil-N-(2-(piridin-3-
 il)-etil)-9H-purin-6-amina; 4-(2-(2-(5-fluoro-piridin-3-il)-9-isopropil-
 9H-purin-6-il-amino)-1-hidroxi-etil)-fenol; 2-(5-fluoro-piridin-3-il)-9-
 isopropil-N-(2-(6-metoksi-1H-indol-3-il)-etil)-9H-purin-6-amina; N-(2-
 (1H-indol-3-il)-etil)-2-(5-fluoro-piridin-3-il)-9-isopropil-9H-purin-6-
 25 amina; 2-(5-fluoro-piridin-3-il)-9-isopropil-N-(2-(5-metoksi-1H-indol-3-

il)-etil)-9H-purin-6-amina; N-(2-(1H-indol-3-il)-etil)-2-(5-fluoro-piridin-
 3-il)-9-(prop-1-en-2-il)-9H-purin-6-amina; 5-(2-(2-(5-fluoro-piridin-3-
 il)-9-isopropil-9H-purin-6-il-amino)-etil)-piridin-2-ol; N-(2-(1H-pirrolo-
 [2,3-b]-piridin-3-il)-etil)-2-(5-fluoro-piridin-3-il)-9-isopropil-9H-purin-
 5 6-amina; N-(2-(6-(2-(dietil-amino)-etoxi)-1H-indol-3-il)-etil)-2-(5-
 fluoro-piridin-3-il)-9-isopropil-9H-purin-6-amina; 4-(2-(5-(5-fluoro-
 piridin-3-il)-3-isopropil-3H-imidazo-[4,5-b]-piridin-7-il-amino)-etil)-
 fenol; N-(2-(1H-indol-3-il)-etil)-9-sec-butil-2-(2-metil-1H-imidazol-1-
 il)-9H-purin-6-amina; 4-(2-(2-(2-etil-1H-imidazol-1-il)-9-isopropil-9H-
 10 purin-6-il-amino)-etil)-fenol; 4-(2-(9-isopropil-2-(2-propil-1H-imidazol-
 1-il)-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol; 3-(2-(2-(5-fluoro-piridin-3-il)-9-
 isopropil-9H-purin-6-il-amino)-etil)-1H-indol-6-ol; N-(2-(1H-indol-3-il)-
 etil)-9-isopropil-2-(5-metil-piridin-3-il)-9H-purin-6-amina; N-(2-(1H-
 indol-3-il)-etil)-9-isopropil-2-(2-metil-1H-imidazol-1-il)-9H-purin-6-
 15 amina; 2-(5-fluoro-piridin-3-il)-9-isopropil-N-(2-(7-metil-1H-indol-3-
 il)-etil)-9H-purin-6-amina; N-(2-(1H-indol-3-il)-etil)-2-(5-fluoro-piridin-
 3-il)-9-(oxetan-3-il)-9H-purin-6-amina; N-(2-(1H-indol-3-il)-etil)-2-(5-
 metil-piridin-3-il)-9-(oxetan-3-il)-9H-purin-6-amina; N-(2-(6-fluoro-1H-
 indol-3-il)-etil)-2-(5-fluoro-piridin-3-il)-9-isopropil-9H-purin-6-amina;
 20 2-(5-fluoro-piridin-3-il)-9-isopropil-N-(2-(6-metil-1H-indol-3-il)-etil)-
 9H-purin-6-amina; 2-(5-fluoro-piridin-3-il)-9-isopropil-N-(2-(2-metil-
 1H-indol-3-il)-etil)-9H-purin-6-amina; N-(2-(4-fluoro-1H-indol-3-il)-
 etil)-2-(5-fluoro-piridin-3-il)-9-isopropil-9H-purin-6-amina; N-(2-(7-
 fluoro-1H-indol-3-il)-etil)-2-(5-fluoro-piridin-3-il)-9-isopropil-9H-purin-
 25 6-amina; 2-(5-fluoro-piridin-3-il)-9-isopropil-N-(2-(4-metil-1H-indol-3-

il)-etil)-9H-purin-6-amina; 4-(2-(2-(benzo-[b]-tiofen-3-il)-7-isopropil-7H-pirrolo-[2,3-d]-pirimidin-4-il-amino)-etil)-fenol; 9-isopropil-2-(piridin-3-il)-N-(2-(piridin-4-il)-etil)-9H-purin-6-amina; N-(2-(1H-pirrolo-[2,3-b]-piridin-5-il)-etil)-9-isopropil-2-(piridin-3-il)-9H-purin-6-amina; 4-(2-(2-(5-fluoro-piridin-3-il)-9-(1-hidroxi-propan-2-il)-9H-purin-6-il-amino)-etil)-2-metil-fenol; 4-(2-(2-(benzo-[b]-tiofen-3-il)-9-ciclohexil-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol; 4-(2-(9-isopropil-2-(tiofen-3-il)-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol; y 1-(2-(2-(benzo-[b]-tiofen-3-il)-6-(4-hidroxi-fenetil-amino)-9H-purin-9-il)-etil)-pirrolidin-2-ona. Los compuestos de la fórmula I se detallan en los Ejemplos y en la Tabla I, que se encuentran más adelante.

En otra modalidad, están los compuestos de la fórmula Ia:



en donde:

L se selecciona a partir de $-NR_{5a}(CH_2)_{0-3}-$, $-NR_{5a}CH(C(O)OCH_3)CH_2-$, $-NR_{5a}(CH_2)_2NR_{5b}-$, $-NR_{5a}(CH_2)_2S-$, $-NR_{5a}CH_2CH(CH_3)CH_2-$, $-NR_{5a}CH(CH_3)CH_2-$, $-(CH_2)_3-$, $-CH_2OCH_2-$, $-CH_2NR_{5a}CH_2-$, $-NR_{5a}C(O)CH_2-$ y $-NR_{5a}Y-$; en donde R_{5a} y R_{5b} se seleccionan

independientemente a partir de hidrógeno y alquilo de 1 a 4 átomos de carbono; e Y es un anillo de heteroarilo de 5 miembros que contiene hasta 3 heteroátomos seleccionados a partir de O, N y S;

R₁ se selecciona a partir de hidrógeno, fenilo, tiofen-2-ilo, 5 tiofen-3-ilo, furan-2-ilo, furan-3-ilo, benzo-[b]-tiofen-2-ilo, benzo-[b]-tiofen-3-ilo, benzo-furan-2-ilo, benzo-furan-3-ilo, pirimidin-4-ilo, pirimidin-5-ilo, 1H-pirazol-4-ilo, 1H-pirazol-3-ilo, piridin-2-ilo, piridazin-3-ilo, piridin-4-ilo, 1H-imidazol-1-ilo, pirrolidin-1-ilo, pirazin-2-ilo, piridin-3-ilo, 1H-pirazol-1-ilo, piridazin-4-ilo, 1H-indol-2-ilo, 10 tiazol-4-ilo, 1H-indol-3-ilo, 1H-pirrol-2-ilo y tiazol-5-ilo; en donde estos fenilo, tiofen-2-ilo, tiofen-3-ilo, furan-2-ilo, furan-3-ilo, benzo-[b]-tiofen-2-ilo, benzo-[b]-tiofen-3-ilo, benzo-furan-2-ilo, benzo-furan-3-ilo, pirimidin-4-ilo, pirimidin-5-ilo, 1H-pirazol-4-ilo, 1H-pirazol-3-ilo, piridinil-2-ilo, piridazin-3-ilo, piridin-4-ilo, 1H-imidazol-1-ilo, 15 pirrolidin-1-ilo, pirazin-2-ilo, piridinil-3-ilo, 1H-pirazol-1-ilo, piridazin-4-ilo, 1H-indol-2-ilo, tiazol-4-ilo, 1H-indol-3-ilo, 1H-pirrol-2-ilo o tiazol-5-ilo de R₁ pueden estar opcionalmente sustituidos por 1 a 3 radicales seleccionados independientemente a partir de ciano, hidroxilo, alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, alcóxido de 1 a 4 20 átomos de carbono, halógeno, alquilo de 1 a 4 átomos de carbono sustituido por halógeno, alcóxido de 1 a 4 átomos de carbono sustituido por halógeno, hidroxilo, amino, -C(O)R_{8a}, -S(O)₀₋₂R_{8a}, -C(O)OR_{8a} y -C(O)NR_{8a}R_{8b}; en donde R_{8a} y R_{8b} se seleccionan independientemente a partir de hidrógeno y alquilo de 1 a 4 átomos 25 de carbono; con la condición de que R₁ y R₃ no son ambos

hidrógeno;

R_2 se selecciona a partir de $-S(O)_2NR_{6a}R_{6b}$, $-NR_{9a}C(O)R_{9b}$, $-NR_{6a}C(O)NR_{6b}R_{6c}$, fenilo, 1H-indol-2-ilo, 1H-indol-3-ilo, benzo-[b]-tiofen-2-ilo, benzo-[b]-tiofen-3-ilo, benzo-furan-2-ilo, benzo-furan-3-ilo, 5 ilo, tiofen-2-ilo, tiofen-3-ilo, furan-2-ilo, furan-3-ilo, piperidin-4-ilo, piperidin-3-ilo, piperidin-2-ilo, piperidin-1-ilo, piridin-2-ilo, piridin-3-ilo, piridin-4-ilo, 1H-1,2,4-triazol-3-ilo, 1H-1,2,4-triazol-5-ilo, 2-oxo-imidazolidin-1-ilo, 1H-pirazol-3-ilo, 1H-pirazol-4-ilo, 3-oxo-piperazin-1-ilo, 2-oxo-2,3-dihidro-1H-benzo-[d]-imidazol-5-ilo, 1,2,3,4-tetra-10 hidro-naftalen-2-ilo, indolin-5-ilo, 2-oxo-indolin-5-ilo, 1H-benzo-[d]-imidazol-5-ilo, 1H-indazol-5-ilo y 1H-imidazol-4-ilo; en donde R_{6a} , R_{6b} y R_{6c} se seleccionan independientemente a partir de hidrógeno y alquilo de 1 a 4 átomos de carbono; en donde estos fenilo, 1H-indol-2-ilo, 1H-indol-3-ilo, benzo-[b]-tiofen-2-ilo, benzo-[b]-tiofen-3-ilo, 15 benzo-furan-2-ilo, benzo-furan-3-ilo, tiofen-2-ilo, tiofen-3-ilo o furan-2-ilo, furan-3-ilo, piperidin-4-ilo, piperidin-3-ilo, piperidin-2-ilo, piperidin-1-ilo, piridin-2-ilo, piridin-3-ilo, piridin-4-ilo, 1H-1,2,4-triazol-3-ilo, 1H-1,2,4-triazol-5-ilo, 2-oxo-imidazolidin-1-ilo, 1H-pirazol-3-ilo, 3-oxo-piperazin-1-ilo, 2-oxo-2,3-dihidro-1H-benzo-[d]-imidazol-5-ilo, 1,2,3,4-tetrahidro-naftalen-2-ilo, indolin-5-ilo, 2-oxo-indolin-5-ilo, 1H-benzo-[d]-imidazol-5-ilo, 1H-indazol-5-ilo o 1H-imidazol-4-ilo de R_2 están opcionalmente sustituidos con 1 a 3 radicales seleccionados independientemente a partir de hidroxilo, halógeno, metilo, metoxilo, amino, $-S(O)_2NR_{7a}R_{7b}$, $-OS(O)_2NR_{7a}R_{7b}$ y 20 $-NR_{7a}S(O)_2R_{7b}$; en donde R_{7a} y R_{7b} se seleccionan

independientemente a partir de hidrógeno y alquilo de 1 a 4 átomos de carbono; o un solo radical seleccionado a partir de 5-((3aS,4S,6aR)-2-oxo-hexahidro-1H-tieno-[3,4-d]-imidazol-4-il)-pentanoiloxilo, 2-(2-(5-((3aS,4S,6aR)-2-oxo-hexahidro-1H-tieno-[3,4-d]-imidazol-4-il)-pentanamido)-etoxi)-etoxilo y 2-(4-(4-hex-5-inamido-benzoil)-fenil-amino)-2-oxo-etoxilo;

R₃ se selecciona a partir de hidrógeno, alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, y bifenilo; y

R₄ se selecciona a partir de isopropilo, isobutilo, butilo secundario, 1-hidroxi-propan-2-ilo, ciclopropilo, oxetan-3-ilo, oxetan-2-ilo, benzhidrilo, piperidin-4-ilo, piperidin-3-ilo, piperidin-2-ilo, tetrahydro-2H-piran-2-ilo, tetrahydro-2H-piran-3-ilo, tetrahydro-2H-piran-4-ilo, fenilo, tetrahydrofuran-3-ilo, tetrahydrofuran-2-ilo, bencilo, (4-pentil-fenil)-(fenil)-metilo y 1-(1-(2-oxo-6,9,12-trioxa-3-aza-tetradecan-14-il)-1H-1,2,3-triazol-4-il)-etilo; en donde estos ciclopropilo, oxetan-3-ilo, oxetan-2-ilo, benzhidrilo, piperidin-4-ilo, piperidin-3-ilo, piperidin-2-ilo, tetrahydro-2H-piran-2-ilo, tetrahydro-2H-piran-3-ilo, tetrahydro-2H-piran-4-ilo, fenilo, tetrahydrofuran-3-ilo, tetrahydrofuran-2-ilo, bencilo, (4-pentil-fenil)-(fenil)-metilo, o 1-(1-(2-oxo-6,9,12-trioxa-3-aza-tetradecan-14-il)-1H-1,2,3-triazol-4-il)-etilo pueden estar opcionalmente sustituidos con 1 a 3 radicales seleccionados independientemente a partir de alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, y alquilo de 1 a 4 átomos de carbono sustituido por halógeno; o los derivados de N-óxido, derivados de pro-fármaco, derivados protegidos, los isómeros individuales y mezclas de

isómeros de los mismos; o las sales farmacéuticamente aceptables y solvatos (por ejemplo, hidratos) de estos compuestos.

En una modalidad adicional, con referencia a los compuestos de la fórmula Ia, L se selecciona a partir de $-\text{NR}_{5a}(\text{CH}_2)_{0-3}-$,
5 $-\text{NR}_{5a}\text{CH}(\text{C}(\text{O})\text{OCH}_3)\text{CH}_2-$, $-\text{NR}_{5a}(\text{CH}_2)_2\text{NR}_{5b}-$, $-\text{NR}_{5a}(\text{CH}_2)_2\text{S}-$,
 $-\text{NR}_{5a}\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2-$, $-\text{NR}_{5a}\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2-$, $-(\text{CH}_2)_3-$, $-\text{CH}_2\text{OCH}_2-$,
 $-\text{CH}_2\text{NR}_{5a}\text{CH}_2-$, $-\text{NR}_{5a}\text{C}(\text{O})\text{CH}_2-$ y $-\text{NR}_{5a}\text{Y}-$; en donde R_{5a} y R_{5b} se seleccionan independientemente a partir de hidrógeno y metilo; Y se selecciona a partir de isoxazol y 1,3,4-oxadiazol.

10 En otra modalidad, cuando L es $-\text{NR}_{5a}(\text{CH}_2)_{0-3}$, es de preferencia $-\text{NR}_{5a}(\text{CH}_2)_{1-3}$ (en donde 1-3 en la presente significa 1, 2 ó 3).

En otra modalidad, R_1 se selecciona a partir de hidrógeno, fenilo, tiofen-3-ilo, tiofen-2-ilo, furan-3-ilo, furan-2-ilo, benzo-[b]-
15 tiofen-3-ilo, pirimidin-5-ilo, piridin-4-ilo, piridin-2-ilo, pirrolidin-1-ilo, 1H-pirazol-4-ilo, pirazin-2-ilo, piridazin-3-ilo, piridazin-4-ilo, 1H-pirazol-1-ilo, 1H-pirazol-3-ilo, 1H-imidazol-1-ilo, tiazol-4-ilo, 1H-pirrol-2-ilo, tiazol-5-ilo, y piridin-3-ilo; en donde estos fenilo, tiofen-3-ilo, tiofen-2-ilo, furan-3-ilo, furan-2-ilo, benzo-[b]-tiofen-3-ilo,
20 pirimidin-5-ilo, piridin-4-ilo, piridin-2-ilo, pirrolidin-1-ilo, 1H-pirazol-4-ilo, pirazin-2-ilo, piridazin-3-ilo, piridazin-4-ilo, 1H-pirazol-1-ilo, 1H-pirazol-3-ilo, 1H-imidazol-1-ilo, tiazol-4-ilo, 1H-pirrol-2-ilo, tiazol-5-ilo o piridin-3-ilo de R_1 están opcionalmente sustituidos con 1 a 3 radicales seleccionados independientemente a partir de ciano,
25 metilo, metil-sulfonilo, metoxilo, halógeno, hidroxilo, carboxilo, etoxi-

carbonilo, metil-amino-carbonilo y amino; con la condición de que R_1 y R_3 no son ambos hidrógeno.

En otra modalidad, R_2 se selecciona a partir de amino-sulfonilo, metil-carbonil-amino, metil-sulfonil-amino, amino-sulfonil-oxilo, urea, fenilo, 1H-indol-2-ilo, 1H-indol-3-ilo, benzo-[b]-tiofen-2-ilo, benzo-[b]-tiofen-3-ilo, benzo-furan-2-ilo, benzo-furan-3-ilo, tiofen-2-ilo, tiofen-3-ilo, furan-2-ilo, furan-3-ilo, piperidin-4-ilo, piperidin-3-ilo, piperidin-2-ilo, piperidin-1-ilo, piridin-2-ilo, piridin-3-ilo, piridin-4-ilo, 1H-1,2,4-triazol-3-ilo, 1H-1,2,4-triazol-5-ilo, 2-oxo-imidazolidin-1-ilo, 1H-pirazol-3-ilo, 1H-pirazol-4-ilo, 3-oxo-piperazin-1-ilo, 2-oxo-2,3-dihidro-1H-benzo-[d]-imidazol-5-ilo, 1,2,3, 4-tetrahidro-naftalen-2-ilo, indolin-5-ilo, 2-oxo-indolin-5-ilo, 1H-benzo-[d]-imidazol-5-ilo, 1H-indazol-5-ilo y 1H-imidazol-4-ilo; en donde estos fenilo, 1H-indol-2-ilo, 1H-indol-3-ilo, benzo-[b]-tiofen-2-ilo, benzo-[b]-tiofen-3-ilo, benzo-furan-2-ilo, benzo-furan-3-ilo, tiofen-2-ilo, tiofen-3-ilo, furan-2-ilo, furan-3-ilo, piperidin-4-ilo, piperidin-3-ilo, piperidin-2-ilo, piperidin-1-ilo, piridin-2-ilo, piridin-3-ilo, piridin-4-ilo, 1H-1,2,4-triazol-3-ilo, 1H-1,2,4-triazol-5-ilo, 2-oxo-imidazolidin-1-ilo, 1H-pirazol-3-ilo, 1H-pirazol-4-ilo, 3-oxo-piperazin-1-ilo, 2-oxo-2,3-dihidro-1H-benzo-[d]-imidazol-5-ilo, 1,2,3,4-tetra-hidro-naftalen-2-ilo, indolin-5-ilo, 2-oxo-indolin-5-ilo, 1H-benzo-[d]-imidazol-5-ilo, 1H-indazol-5-ilo y 1H-imidazol-4-ilo de R_2 están opcionalmente sustituidos con hidroxilo, metoxilo, metilo, halógeno, amino, amino-sulfonilo, 5-((3aS,4S,6aR)-2-oxo-hexahidro-1H-tieno-[3,4-d]-imidazol-4-il)-pentanoiloxilo, 2-(2-(5-((3aS,4S,6aR)-2-oxo-hexahidro-

1H-tieno-[3,4-d]-imidazol-4-il)-pentanamido)-etoxi)-etoxilo y 2-(4-(4-hex-5-inamido-benzoil)-fenil-amino)-2-oxo-etoxilo.

En otra modalidad, R₃ se selecciona a partir de hidrógeno, metilo, y bifenilo; y R₄ se selecciona a partir de isopropilo, isobutilo, butilo secundario, 1-hidroxi-propan-2-ilo, ciclopropilo, oxetan-3-ilo, oxetan-2-ilo, benzhidrilo, piperidin-4-ilo, piperidin-3-ilo, piperidin-2-ilo, tetrahidro-2H-piran-2-ilo, tetrahidro-2H-piran-3-ilo, tetrahidro-2H-piran-4-ilo, fenilo, tetrahidrofuran-3-ilo, tetrahidrofuran-2-ilo, bencilo, (4-pentil-fenil)-(fenil)-metilo y 1-(1-(2-oxo-6,9,12-trioxa-3-aza-tetradecan-14-il)-1H-1,2,3-triazol-4-il)-etilo; en donde estos ciclopropilo, oxetan-3-ilo, oxetan-2-ilo, benzhidrilo, piperidin-4-ilo, piperidin-3-ilo, piperidin-2-ilo, tetrahidro-2H-piran-2-ilo, tetrahidro-2H-piran-3-ilo, tetrahidro-2H-piran-4-ilo, fenilo, tetrahidrofuran-3-ilo, tetrahidrofuran-2-ilo, bencilo, (4-pentil-fenil)-(fenil)-metilo, o 1-(1-(2-oxo-6,9,12-trioxa-3-aza-tetradecan-14-il)-1H-1,2,3-triazol-4-il)-etilo pueden estar opcionalmente sustituidos con 1 a 3 radicales seleccionados independientemente a partir de metilo y trifluorometilo.

En otra modalidad, están los compuestos seleccionados a partir de: 4-(2-(2-(benzo-[b]-tiofen-3-il)-9-isopropil-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol; 4-(2-(2-(benzo-[b]-tiofen-3-il)-9-sec-butil-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol; 4-(2-(9-benzhidril-2-(benzo-[b]-tiofen-3-il)-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol; 4-(2-(2-(benzo-[b]-tiofen-3-il)-9-(tetrahidro-2H-piran-3-il)-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol; 4-(2-(2-(benzo-[b]-tiofen-3-il)-9-(4-(trifluoro-metil)-bencil)-9H-purin-6-il-amino)-etil)-

fenol; 4-(2-(2-(benzo-[b]-tiofen-3-il)-9-isobutil-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol; 4-(2-(2-(benzo-[b]-tiofen-3-il)-9-metil-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol; 4-(2-(2-(benzo-[b]-tiofen-3-il)-9-(4-metil-bencil)-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol; N-(2-(1H-indol-3-il)-etil)-2-(benzo-[b]-tiofen-3-il)-9-isopropil-9H-purin-6-amina; 2-(benzo-[b]-tiofen-3-il)-9-isopropil-N-(2-(tiofen-3-il)-etil)-9H-purin-6-amina; 3-(2-(2-(benzo-[b]-tiofen-3-il)-9-isopropil-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol; 2-(benzo-[b]-tiofen-3-il)-N-(4-fluoro-fenetil)-9-isopropil-9H-purin-6-amina; N(4-amino-fenetil)-2-(benzo-[b]-tiofen-3-il)-9-isopropil-9H-purin-6-amina; 4-(2-(9-isopropil-2-(pirimidin-5-il)-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol; 4-(2-(9-isopropil-2-(piridin-3-il)-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol; 4-(2-(9-isopropil-2-fenil-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol; 4-(2-(9-isopropil-2-(tiofen-3-il)-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol; 4-(2-(2-(furan-3-il)-9-isopropil-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol; 2-(benzo-[b]-tiofen-3-il)-N-(4-fluoro-fenetil)-9-fenil-9H-purin-6-amina; N-bencil-8-(bifenil-4-il)-9-isopropil-9H-purin-6-amina; 4-(2-(2-(benzo-[b]-tiofen-3-il)-9-(nonan-2-il)-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol; 4-(2-(2-(benzo-[b]-tiofen-3-il)-9-((4-pentil-fenil)-(fenil)-metil)-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol; N-(2-(1H-indol-3-il)-etil)-2-(benzo-[b]-tiofen-3-il)-9-sec-butil-9H-purin-6-amina; 4-(2-(2-(benzo-[b]-tiofen-3-il)-9-sec-butil-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol; 3-(2-(2-(benzo-[b]-tiofen-3-il)-9-isopropil-9H-purin-6-il-amino)-etil)-1H-indol-5-ol; 5-((3aS,4S,6aR)-2-oxo-hexahidro-1H-tieno-[3,4-d]-imidazol-4-il)-pentanoato de 3-(2-(2-(benzo-[b]-tiofen-3-il)-9-isopropil-9H-purin-6-il-amino)-etil)-1H-indol-5-ilo; N-(2-(2-(3-(2-(2-(benzo-[b]-tiofen-3-il)-9-isopropil-9H-purin-6-il-amino)-etil)-1H-

indol-5-iloxi)-etoxi)-etil)-5-((3aS,4S,6aR)-2-oxo-hexahidro-1H-tieno-
[3,4-d]-imidazol-4-il)-pentanamida; N-(4-(4-(2-(3-(2-(2-(benzo-[b]-
tiofen-3-il)-9-isopropil-9H-purin-6-il-amino)-etil)-1H-indol-5-iloxi)-
acetamido)-benzoil)-fenil)-hex-5-inamida; N-(2-(2-(2-(2-(4-(1-(2-
5 (benzo-[b]-tiofen-3-il)-6-(4-hidroxi-fenetil-amino)-9H-purin-9-il)-etil)-
1H-1,2,3-triazol-1-il)-etoxi)-etoxi)-etoxi)-etil)-acetamida; 4-(2-(9-iso-
propil-2-(piridin-4-il)-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol; 5-(6-(4-hidroxi-
fenetil-amino)-9-isopropil-9H-purin-2-il)-nicotinato de etilo; 5-(6-(4-
hidroxi-fenetil-amino)-9-isopropil-9H-purin-2-il)-nicotinato de etilo; 4-
10 (2-(2-(6-fluoro-piridin-3-il)-9-isopropil-9H-purin-6-il-amino)-etil)-
fenol; 4-(2-(9-isopropil-2-(4-metil-piridin-3-il)-9H-purin-6-il-amino)-
etil)-fenol; 4-(2-(9-isopropil-2-(2-metoxi-piridin-3-il)-9H-purin-6-il-
amino)-etil)-fenol; 5-(6-(4-hidroxi-fenetil-amino)-9-isopropil-9H-purin-
2-il)-nicotinonitrilo; 4-(2-(9-isopropil-2-(pirrolidin-1-il)-9H-purin-6-il-
15 amino)-etil)-fenol; 4-(2-(9-isopropil-2-(1H-pirazol-1-il)-9H-purin-6-il-
amino)-etil)-fenol; 4-(2-(2-(1H-imidazol-1-il)-9-isopropil-9H-purin-6-il-
amino)-etil)-fenol; 4-(2-(9-isopropil-2-(piridazin-3-il)-9H-purin-6-il-
amino)-etil)-fenol; 4-(2-(9-isopropil-2-(piridazin-4-il)-9H-purin-6-il-
amino)-etil)-fenol; 4-(2-(9-isopropil-2-(pirazin-2-il)-9H-purin-6-il-
20 amino)-etil)-fenol; 4-(2-(9-isopropil-2-(piridin-2-il)-9H-purin-6-il-
amino)-etil)-fenol; 4-(2-(9-isopropil-2-(5-(metil-sulfonil)-piridin-3-il)-
9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol; 4-(2-(9-isopropil-2-(5-metil-piridin-3-
il)-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol; 4-(2-(2-(2-cloro-piridin-3-il)-6-
isopropil-2,6-dihidroimidazo-[4,5-c]-pirazol-3-il-amino)-etil)-fenol; 4-
25 (2-(2-(4-cloro-piridin-3-il)-9-isopropil-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol;

4-(2-(9-isopropil-2-(4-metoxi-piridin-3-il)-9H-purin-6-il-amino)-etil)-
 fenol; 4-(2-(2-(5-fluoro-piridin-3-il)-9-isopropil-9H-purin-6-il-amino)-
 etil)-fenol; 4-(2-(9-isopropil-2-(tiazol-4-il)-9H-purin-6-il-amino)-etil)-
 fenol; 4-(2-(9-isopropil-2-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-9H-purin-6-il-
 5 amino)-etil)-fenol; 4-(2-(9-isopropil-2-(1H-pirazol-3-il)-9H-purin-6-il-
 amino)-etil)-fenol; 4-(2-(9-isopropil-2-(1H-pirazol-4-il)-9H-purin-6-il-
 amino)-etil)-fenol; 4-(2-(9-isopropil-2-(tiofen-2-il)-9H-purin-6-il-
 amino)-etil)-fenol; ácido 4-(6-(4-hidroxi-fenetil-amino)-9-isopropil-9H-
 purin-2-il)-tiofen-2-carboxílico; 4-(2-(2-(furan-2-il)-9-isopropil-9H-
 10 purin-6-il-amino)-etil)-fenol; 4-(2-(9-isopropil-2-(4-metil-tiofen-3-il)-
 9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol; 4-(2-(9-isopropil-2-(piridin-3-il)-9H-
 purin-6-il-amino)-etil)-2-metoxi-fenol; 4-(2-(9-isopropil-2-(piridin-3-
 il)-9H-purin-6-il-amino)-etil)-2-metoxi-fenol; N-[2-(6-metoxi-1H-indol-
 3-il)-etil]-9-(propan-2-il)-2-(piridin-3-il)-9H-purin-6-amina; N-[2-(5-
 15 metil-1H-indol-3-il)-etil]-9-(propan-2-il)-2-(piridin-3-il)-9H-purin-6-
 amina; N-[2-(piperidin-4-il)-etil]-9-(propan-2-il)-2-(piridin-3-il)-9H-
 purin-6-amina; 1-(2-([9-(propan-2-il)-2-(piridin-3-il)-9H-purin-6-il]-
 amino)-etil)-piperidin-4-ol; (2S)-3-(4-hidroxi-fenil)-2-([9-(propan-2-il)-
 2-(piridin-3-il)-9H-purin-6-il]-amino)-propanoato de metilo; 4-(2-([9-
 20 (propan-2-il)-2-(piridin-3-il)-9H-purin-6-il]-amino)-etil)-bencen-1-
 sulfonamida; 2-([2-(1-benzo-tiofen-3-il)-9-(propan-2-il)-9H-purin-6-il]-
 amino)etan-1-sulfonamida; 4-(2-([9-(propan-2-il)-2-(piridin-3-il)-9H-
 purin-6-il]-amino)-etil)-bencen-1,2-diol; N-[2-(1H-imidazol-4-il)-etil]-
 9-(propan-2-il)-2-(piridin-3-il)-9H-purin-6-amina; 1-(2-([9-(propan-2-
 25 il)-2-(piridin-3-il)-9H-purin-6-il]-amino)-etil)-imidazolidin-2-ona; N-[2-

(5-amino-1H-1,2,4-triazol-3-il)-etil]-9-(propan-2-il)-2-(piridin-3-il)-9H-
 purin-6-amina; N-(2-([9-(propan-2-il)-2-(piridin-3-il)-9H-purin-6-il]-
 amino)-etil)-piridin-2-amina; 9-(propan-2-il)-N-[3-(1H-pirazol-4-il)-
 propil]-2-(piridin-3-il)-9H-purin-6-amina; N-[2-([9-(propan-2-il)-2-
 5 (piridin-3-il)-9H-purin-6-il]-amino)-metil]-propil]-acetamida; 4-(2-([9-
 (propan-2-il)-2-(piridin-3-il)-9H-purin-6-il]-amino)-etil)-piperazin-2-
 ona; N-[2-[(3-metil-1H-1,2,4-triazol-5-il)-sulfanil]-etil]-9-(propan-2-il)-
 2-(piridin-3-il)-9H-purin-6-amina; N-[3-(3,5-dimetil-1H-pirazol-4-il)-
 propil]-9-(propan-2-il)-2-(piridin-3-il)-9H-purin-6-amina; (2-([9-
 10 (propan-2-il)-2-(piridin-3-il)-9H-purin-6-il]-amino)-etil)-urea; 5-([9-
 (propan-2-il)-2-(piridin-3-il)-9H-purin-6-il]-amino)-metil)-2,3-dihidro-
 1H-1,3-benzo-diazol-2-ona; 2-(1-benzo-tiofen-3-il)-N-[2-(1H-
 imidazol-4-il)-etil]-9-(propan-2-il)-9H-purin-6-amina; 1-(2-([2-(1-
 benzo-tiofen-3-il)-9-(propan-2-il)-9H-purin-6-il]-amino)-etil)-
 15 imidazolidin-2-ona; N-[2-(5-amino-1H-1,2,4-triazol-3-il)-etil]-2-(1-
 benzo-tiofen-3-il)-9-(propan-2-il)-9H-purin-6-amina; N-(2-([2-(1-
 benzo-tiofen-3-il)-9-(propan-2-il)-9H-purin-6-il]-amino)-etil)-piridin-2-
 amina; 2-(1-benzo-tiofen-3-il)-9-(propan-2-il)-N-[3-(1H-pirazol-4-il)-
 propil]-9H-purin-6-amina; N-[2-([2-(1-benzo-tiofen-3-il)-9-(propan-2-
 20 il)-9H-purin-6-il]-amino)-metil]-propil]-acetamida; 4-(2-([2-(1-benzo-
 tiofen-3-il)-9-(propan-2-il)-9H-purin-6-il]-amino)-etil)-piperazin-2-ona;
 2-(1-benzo-tiofen-3-il)-N-[2-[(3-metil-1H-1,2,4-triazol-5-il)-sulfanil]-
 etil]-9-(propan-2-il)-9H-purin-6-amina; 2-(1-benzo-tiofen-3-il)-N-[3-
 (3,5-dimetil-1H-pirazol-4-il)-propil]-9-(propan-2-il)-9H-purin-6-amina;
 25 (2-([2-(1-benzo-tiofen-3-il)-9-(propan-2-il)-9H-purin-6-il]-amino)-etil)-

urea; 5-([2-(1-benzo-tiofen-3-il)-9-(propan-2-il)-9H-purin-6-il]-amino)-metil)-2,3-dihidro-1H-1,3-benzo-diazol-2-ona; N-[2-(1H-indol-3-il)-etil]-9-(propan-2-il)-2-(piridin-3-il)-9H-purin-6-amina; N-(4-(2-(9-isopropil-2-(piridin-3-il)-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenil)-metan-

5 sulfonamida; 4-(2-(2-(piridin-3-il)-9-(tetrahidrofuran-3-il)-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol; 4-(2-(9-isopropil-2-(piridin-3-il)-9H-purin-6-il-amino)-propil)-fenol; 4-(2-(9-(oxetan-3-il)-2-(piridin-3-il)-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol; 5-(6-(4-hidroxi-fenetil-amino)-9-isopropil-9H-purin-2-il)-N-metil-nicotinamida; 6-(9-isopropil-2-(piridin-3-il)-9H-

10 purin-6-il-amino)-5,6,7,8-tetrahidro-naftalen-2-ol; N-(2-(1H-indazol-3-il)-etil)-9-isopropil-2-(piridin-3-il)-9H-purin-6-amina; 4-(2-((9-isopropil-2-(piridin-3-il)-9H-purin-6-il)-(metil)-amino)-etil)-fenol; 4-(2-(9-isopropil-8-metil-2-(piridin-3-il)-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol; 1-(2-(9-isopropil-2-(piridin-3-il)-9H-purin-6-il-amino)-etil)-1H-benzo-[d]-

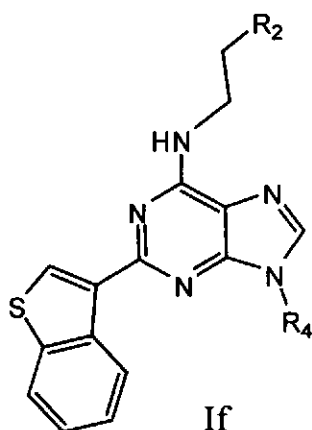
15 imidazol-2(3H)-ona; 4-(3-(9-isopropil-2-(piridin-3-il)-9H-purin-6-il)-propil)-fenol; 4-(((9-isopropil-2-(piridin-3-il)-9H-purin-6-il)-metil)-(metil)-amino)-metil)-fenol; 4-(((9-isopropil-2-(piridin-3-il)-9H-purin-6-il)-metil-amino)-metil)-fenol; 4-(((9-isopropil-2-(piridin-3-il)-9H-purin-6-il)-metoxi)-metil)-fenol; N-(2-(indolin-5-il)-etil)-9-isopropil-2-

20 (piridin-3-il)-9H-purin-6-amina; 4-(2-(9-(1-metil-piperidin-4-il)-2-(piridin-3-il)-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol; 4-(2-(9-(piperidin-4-il)-2-(piridin-3-il)-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol; N-(2-(1H-indazol-5-il)-etil)-9-isopropil-2-(piridin-3-il)-9H-purin-6-amina; N-(2-(1H-benzo-[d]-imidazol-5-il)-etil)-9-isopropil-2-(piridin-3-il)-9H-purin-6-amina; 5-(2-

25 (9-isopropil-2-(piridin-3-il)-9H-purin-6-il-amino)-etil)indolin-2-ona; 4-

(2-(9-ciclopropil-2-(piridin-3-il)-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol; 4-(2-(9-(1-hidroxi-propan-2-il)-2-(piridin-3-il)-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol; sulfamato de 4-(2-(9-isopropil-2-(piridin-3-il)-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenilo; 2-(4-hidroxi-fenil)-N-(9-isopropil-2-(piridin-3-il)-9H-purin-6-il)-acetamida; 4-(5-(9-isopropil-2-(piridin-3-il)-9H-purin-6-il-amino)isoxazol-3-il)-fenol; 4-(5-(9-isopropil-2-(piridin-3-il)-9H-purin-6-il-amino)-1,3,4-oxadiazol-2-il)-fenol; 4-(2-(2-(2-fluoro-piridin-3-il)-9-isopropil-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol; 4-(2-(9-isopropil-2-(1-metil-1H-pirrol-2-il)-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol; y 4-(2-(9-isopropil-2-(tiazol-5-il)-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol.

En otra modalidad, está un compuesto de la fórmula 1f:

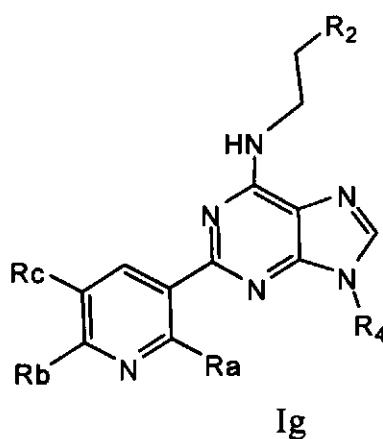


en donde: R_2 se selecciona a partir de 1H-indol-3-ilo, y fenilo opcionalmente sustituido con hidroxilo; y R_4 se selecciona a partir de isopropilo, butilo secundario, benzhidrilo, nonan-2-ilo, oxetan-3-ilo y tetrahidrofuran-3-ilo.

En una modalidad adicional, están los compuestos seleccionados a partir de: 4-(2-(2-(benzo-[b]-tiofen-3-il)-9-isopropil-

9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol; 4-(2-(2-(benzo-[b]-tiofen-3-il)-9-sec-butil-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol; 4-(2-(9-benzhidril-2-(benzo-[b]-tiofen-3-il)-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol; N-(2-(1H-indol-3-il)-etil)-2-(benzo-[b]-tiofen-3-il)-9-isopropil-9H-purin-6-amina; 4-(2-(2-(benzo-[b]-tiofen-3-il)-9-(nonan-2-il)-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol; N-(2-(1H-indol-3-il)-etil)-2-(benzo-[b]-tiofen-3-il)-9-sec-butil-9H-purin-6-amina; 4-(2-(2-(benzo-[b]-tiofen-3-il)-9-(oxetan-3-il)-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol; (S)-4-(2-(2-(benzo-[b]-tiofen-3-il)-9-(tetrahidrofuran-3-il)-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol; y (R)-4-(2-(2-(benzo-[b]-tiofen-3-il)-9-(tetrahidrofuran-3-il)-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol.

En otra modalidad, está un compuesto de la fórmula 1g:



en donde: R_2 se selecciona a partir de: 1H-pirrol-2-il; 1H-piridin-3-il; 1H-indol-3-il opcionalmente sustituido con 1 a 2 radicales seleccionados independientemente a partir de halógeno, metilo y metoxilo; y fenilo opcionalmente sustituido con 1 a 2 radicales seleccionados independientemente a partir de metilo, halógeno e hidroxilo; R_4 se selecciona a partir de isopropilo, butilo

secundario, 1-hidroxi-propan-2-ilo, prop-1-en-2-ilo, benzhidrilo, nonan-2-ilo, oxetan-3-ilo y tetrahidrofuran-3-ilo; y Ra, Rb y Rc se seleccionan independientemente a partir de hidrógeno, ciano, metilo, halógeno, -SO₂CH₃ y trifluoro-metilo.

- 5 En una modalidad adicional, están los compuestos seleccionados a partir de: 4-(2-(9-isopropil-2-(piridin-3-il)-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol; 4-(2-(2-(6-fluoro-piridin-3-il)-9-isopropil-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol; 4-(2-(9-isopropil-2-(4-metil-piridin-3-il)-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol; 5-(6-(4-hidroxi-fenetil-amino)-9-isopropil-9H-purin-2-il)-nicotinonitrilo; 4-(2-(9-isopropil-2-(5-metil-piridin-3-il)-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol; 4-(2-(9-isopropil-2-(5-(metil-sulfonil)-piridin-3-il)-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol; 4-(2-(2-(4-cloro-piridin-3-il)-9-isopropil-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol; 4-(2-(2-(5-fluoro-piridin-3-il)-9-isopropil-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol; 9-isopropil-N-(2-(6-metoxi-1H-indol-3-il)-etil)-2-(piridin-3-il)-9H-purin-6-amina; 9-isopropil-N-(2-(5-metil-1H-indol-3-il)-etil)-2-(piridin-3-il)-9H-purin-6-amina; N-(2-(1H-indol-3-il)-etil)-9-isopropil-2-(piridin-3-il)-9H-purin-6-amina; 4-(2-(9-(oxetan-3-il)-2-(piridin-3-il)-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol; 4-(2-(9-(1-hidroxi-propan-2-il)-2-(piridin-3-il)-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol; 4-(2-(2-(2-fluoro-piridin-3-il)-9-isopropil-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol; 5-(9-sec-butil-6-(4-hidroxi-3-metil-fenetil-amino)-9H-purin-2-il)-nicotinonitrilo; 4-(2-(2-(5-fluoro-piridin-3-il)-9-(oxetan-3-il)-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol; 4-(2-(2-(5-cloro-piridin-3-il)-9-isopropil-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol; 4-(2-(9-isopropil-2-(5-(trifluoro-metil)-piridin-3-il)-9H-purin-6-il-amino)-etil)-
- 10
- 15
- 20
- 25

fenol; 5-(6-(2-(1H-indol-3-il)-etil-amino)-9-sec-butil-9H-purin-2-il)-
 nicotinonitrilo; N-(2-(1H-indol-3-il)-etil)-9-sec-butil-2-(5-metil-piridin-
 3-il)-9H-purin-6-amina; (R)-N-(2-(1H-indol-3-il)-etil)-9-sec-butil-2-(5-
 fluoro-piridin-3-il)-9H-purin-6-amina; (S)-N-(2-(1H-indol-3-il)-etil)-9-
 5 sec-butil-2-(5-fluoro-piridin-3-il)-9H-purin-6-amina; N-(2-(1H-indol-3-
 il)-etil)-9-sec-butil-2-(5-fluoro-piridin-3-il)-9H-purin-6-amina; (R)-N-
 (2-(1H-indol-3-il)-etil)-9-sec-butil-2-(5-metil-piridin-3-il)-9H-purin-6-
 amina; (S)-N-(2-(1H-indol-3-il)-etil)-9-sec-butil-2-(5-metil-piridin-3-
 il)-9H-purin-6-amina; 5-(6-(4-hidroxi-fenetil-amino)-9-(oxetan-3-il)-
 10 9H-purin-2-il)-nicotinonitrilo; 4-(2-(6-(5-fluoro-piridin-3-il)-1-isopropil-
 1H-pirazolo-[3,4-d]-pirimidin-4-il-amino)-etil)-fenol; 3-(6-(4-hidroxi-
 fenetil-amino)-9-isopropil-9H-purin-2-il)-isonicotinonitrilo; 4-(2-(2-(5-
 fluoro-piridin-3-il)-7-isopropil-7H-pirrolo-[2,3-d]-pirimidin-4-il-amino)-
 etil)-fenol; 4-(2-(9-isopropil-2-(6-metil-piridin-3-il)-9H-purin-6-il-
 15 amino)-etil)-fenol; 2-cloro-4-(2-(9-isopropil-2-(piridin-3-il)-9H-purin-6-
 il-amino)-etil)-fenol; 3-fluoro-4-(2-(9-isopropil-2-(piridin-3-il)-9H-
 purin-6-il-amino)-etil)-fenol; N-(2-(5-fluoro-1H-indol-3-il)-etil)-9-
 isopropil-2-(piridin-3-il)-9H-purin-6-amina; N-(2-(5-cloro-1H-indol-3-
 il)-etil)-9-isopropil-2-(piridin-3-il)-9H-purin-6-amina; 4-(2-(9-isopropil-
 20 2-(piridin-3-il)-9H-purin-6-il-amino)-etil)-2-metil-fenol; 2-(6-(2-(1H-
 indol-3-il)-etil-amino)-2-(5-fluoro-piridin-3-il)-9H-purin-9-il)-propan-1-
 ol; (R)-2-(6-(2-(1H-indol-3-il)-etil-amino)-2-(5-fluoro-piridin-3-il)-9H-
 purin-9-il)-propan-1-ol; (S)-2-(6-(2-(1H-indol-3-il)-etil-amino)-2-(5-
 fluoro-piridin-3-il)-9H-purin-9-il)-propan-1-ol; (R)-N-(2-(1H-indol-3-il)-
 25 etil)-2-(5-fluoro-piridin-3-il)-9-(tetrahidrofuran-3-il)-9H-purin-6-amina;

4-(2-(6-(5-fluoro-piridin-3-il)-1-isopropil-1H-imidazo-[4,5-c]-piridin-4-il-amino)-etil)-fenol; N-(2-(1H-indol-3-il)-etil)-2-(5-fluoro-piridin-3-il)-9-isopropil-9H-purin-6-amina; 2-(5-fluoro-piridin-3-il)-9-isopropil-N-(2-(6-metoxi-1H-indol-3-il)-etil)-9H-purin-6-amina; 2-(5-fluoro-piridin-3-il)-9-isopropil-N-(2-(5-metoxi-1H-indol-3-il)-etil)-9H-purin-6-amina; N-(2-(1H-indol-3-il)-etil)-2-(5-fluoro-piridin-3-il)-9-(prop-1-en-2-il)-9H-purin-6-amina; N-(2-(1H-pirrolo-[2,3-b]-piridin-3-il)-etil)-2-(5-fluoro-piridin-3-il)-9-isopropil-9H-purin-6-amina; 4-(2-(5-(5-fluoro-piridin-3-il)-3-isopropil-3H-imidazo-[4,5-b]-piridin-7-il-amino)-etil)-fenol; N-(2-(1H-indol-3-il)-etil)-9-isopropil-2-(5-metil-piridin-3-il)-9H-purin-6-amina; 2-(5-fluoro-piridin-3-il)-9-isopropil-N-(2-(7-metil-1H-indol-3-il)-etil)-9H-purin-6-amina; N-(2-(1H-indol-3-il)-etil)-2-(5-fluoro-piridin-3-il)-9-(oxetan-3-il)-9H-purin-6-amina; N-(2-(1H-indol-3-il)-etil)-2-(5-metil-piridin-3-il)-9-(oxetan-3-il)-9H-purin-6-amina; N-(2-(6-fluoro-1H-indol-3-il)-etil)-2-(5-fluoro-piridin-3-il)-9-isopropil-9H-purin-6-amina; 2-(5-fluoro-piridin-3-il)-9-isopropil-N-(2-(2-metil-1H-indol-3-il)-etil)-9H-purin-6-amina; 2-(5-fluoro-piridin-3-il)-9-isopropil-N-(2-(6-metil-1H-indol-3-il)-etil)-9H-purin-6-amina; N-(2-(4-fluoro-1H-indol-3-il)-etil)-2-(5-fluoro-piridin-3-il)-9-isopropil-9H-purin-6-amina; 2-(5-fluoro-piridin-3-il)-9-isopropil-N-(2-(4-metil-1H-indol-3-il)-etil)-9H-purin-6-amina; N-(2-(7-fluoro-1H-indol-3-il)-etil)-2-(5-fluoro-piridin-3-il)-9-isopropil-9H-purin-6-amina; y 4-(2-(2-(5-fluoro-piridin-3-il)-9-(1-hidroxi-propan-2-il)-9H-purin-6-il-amino)-etil)-2-metil-fenol.

En otra modalidad, está un método para la utilización de un compuesto de la fórmula I para estimular la expansión de las células

madre mediante el aumento del número de divisiones; comprendiendo este método poner en contacto las células madre con un compuesto de la fórmula I.

En otra modalidad, está un método en donde la expansión de las células madre es *in vivo*, *in vitro*, o *ex vivo*.

En otra modalidad, está un método en donde las células madre son células madre hematopoiéticas humanas.

En otra modalidad, está una población celular con células madre hematopoiéticas expandidas, como las que se obtienen o que se pueden obtener mediante el método de la invención.

En una modalidad adicional, está una composición que comprende una población celular con células madre hematopoiéticas expandidas derivadas a partir de uno o dos unidades de sangre de cordón umbilical, de preferencia una unidad de sangre de cordón umbilical, en donde esta composición contiene una cantidad total de células de cuando menos 10^5 células, 10^7 células, 10^8 células o 10^9 células, y en donde entre el 20 y el 100 por ciento de las células totales son células CD34⁺, por ejemplo entre el 40 y el 80 por ciento de las células totales son CD34⁺.

En otra modalidad, está un método para el tratamiento de una enfermedad o trastorno para el cual la terapia con células madre daría como resultado la prevención, el tratamiento o la erradicación de este trastorno.

Se anticipa que a medida que progresa el uso de células madre, se irán expandiendo las enfermedades que se puedan tratar

mediante trasplante de células madre. Una lista no limitante de los Ejemplos sigue más adelante.

En otra modalidad, está el uso de un compuesto de la fórmula I como se define en la Breve Descripción de la Invención, o una sal del mismo, en la preparación de una composición para el tratamiento de una enfermedad de inmunodeficiencia heredada, una enfermedad autoinmune y/o un trastorno hematopoiético.

En una modalidad adicional, la administración es un trasplante autólogo, y el trastorno hematopoiético se selecciona a partir de mieloma múltiple, linfoma no de Hodgkin, enfermedad de Hodgkin, leucemia mieloide aguda, neuroblastoma, tumores de células germinales, trastornos autoinmunes y amiloidosis.

En una modalidad adicional, los trastornos autoinmunes se seleccionan a partir de lupus eritematoso sistémico (SLE), y esclerosis sistémica.

En una modalidad adicional, la administración es un trasplante alogénico, y el trastorno hematopoiético se selecciona a partir de leucemia mieloide aguda, leucemia linfoblástica aguda, leucemia mieloide crónica, leucemia linfocítica crónica, trastornos mieloproliferativos, síndromes mielodisplásicos, mieloma múltiple, linfoma no de Hodgkin, enfermedad de Hodgkin, anemia anaplásica, aplasia de glóbulos rojos puros, hemoglobinuria paroxística nocturna, anemia de Fanconi, talasemia mayor, anemia drepanocítica, inmunodeficiencia combinada grave (SCID), síndrome de Wiskott-Aldrich, linfocitosis hemofagocítica (HLH), y errores

innatos del metabolismo.

En una modalidad adicional, los errores innatos del metabolismo se seleccionan a partir de mucopolisacaridosis, enfermedad de Gaucher, leucodistrofias metacromáticas y
5 adrenoleucodistrofias.

En otra modalidad, está un método para el tratamiento de una enfermedad de inmunodeficiencia heredada, una enfermedad autoinmune y/o un trastorno hematopoiético, el cual comprende administrar a un paciente que necesite dicho tratamiento, células
10 madre hematopoiéticas expandidas mediante un compuesto como se describe en la Breve Descripción de la Invención.

En una modalidad adicional, la administración es un trasplante autólogo, y el trastorno hematopoiético se selecciona a partir de mieloma múltiple, linfoma no de Hodgkin, enfermedad de Hodgkin,
15 leucemia mieloide aguda, neuroblastoma, tumores de células germinales, trastornos autoinmunes y amiloidosis.

En una modalidad adicional, los trastornos autoinmunes se seleccionan a partir de lupus eritematoso sistémico (SLE), y esclerosis sistémica.

20 En una modalidad adicional, la administración es un trasplante alogénico, y el trastorno hematopoiético se selecciona a partir de leucemia mieloide aguda, leucemia linfoblástica aguda, leucemia mieloide crónica, leucemia linfocítica crónica, trastornos mieloproliferativos, síndromes mielodisplásicos, mieloma múltiple,
25 linfoma no de Hodgkin, enfermedad de Hodgkin, anemia anaplásica,

aplasia de glóbulos rojos puros, hemoglobinuria paroxística nocturna, anemia de Fanconi, talasemia mayor, anemia drepanocítica, inmunodeficiencia combinada grave (SCID), síndrome de Wiskott-Aldrich, linfhistiocitosis hemofagocítica (HLH), y errores
5 innatos del metabolismo.

En una modalidad adicional, los errores innatos del metabolismo se seleccionan a partir de mucopolisacaridosis, enfermedad de Gaucher, leucodistrofias metacromáticas y adrenoleucodistrofias.

10 Utilidad

Las células madre hematopoiéticas son células primitivas capaces de regenerar todas las células de la sangre. Durante el desarrollo, la hematopoiesis se translocaliza desde el hígado fetal hasta la médula ósea, la cual entonces sigue siendo el sitio de la
15 hematopoiesis durante toda la edad adulta. Una vez que se ha establecido la hematopoiesis en la médula ósea, las células madre hematopoiéticas no se distribuyen aleatoriamente a través de toda la cavidad ósea. En lugar de esto, se encuentran en cercana proximidad a las superficies endostiales. A medida que aumenta la
20 distancia a partir de la superficie ósea, aumenta más el número de células madre maduras. Finalmente, a medida que se aproxima el eje central longitudinal del hueso, se presenta la diferenciación terminal de las células maduras.

La expansión del número de células madre, ya sea a partir de
25 una fuente adulta, de sangre de cordón umbilical, fetal, o

embrionaria, tendría un enorme impacto sobre el trasplante y otras terapias para las enfermedades y trastornos de hematología y oncología, el menor del cual sería una mayor seguridad y costos reducidos. Como se describe en los métodos en la presente, La
5 cantidad de células madre hematopoiéticas se aumenta *ex vivo*. Es importante un método para aumentar la cantidad de células madre, debido a que en la actualidad, aproximadamente el 25 por ciento de los trasplantes de donadores autólogos está prohibido por la escasez de suficientes células madre. En adición, menos del 25 por
10 ciento de los pacientes que necesitan un trasplante alogénico pueden encontrar un donador histocompatible. Actualmente existen bancos de sangre de cordón umbilical y cubren la amplia combinación racial de la población en general, pero estos bancos están restringidos actualmente a su uso en niños debido a las
15 cantidades inadecuadas de células madre en las muestras para los receptores adultos. Un método para aumentar la cantidad de células madre permitirá que la sangre de cordón sea útil para los pacientes adultos, expandiendo de esta manera el uso del trasplante alogénico. Los compuestos de la invención también se pueden
20 utilizar para expandir las cantidades de células progenitoras, las cuales son clínicamente útiles, por ejemplo, para agilizar el injerto y disminuir la duración de la neutropenia.

De conformidad con lo anterior, se proporciona un método para aumentar el número de células madre hematopoiéticas. Como se
25 utiliza en la presente, un aumento en las células madre

hematopoiéticas significa que el sujeto tiene cuando menos un aumento del 10 por ciento, un aumento del 20 por ciento, un aumento del 30 por ciento, o mayor, de las células madre hematopoiéticas. Las células madre hematopoiéticas pueden consistir en un subconjunto de células CD34⁺, y el aumento de las células madre hematopoiéticas se puede medir indirectamente contando el número de células CD34⁺ en una población celular y, opcionalmente, evaluando las propiedades de diferenciación de las células CD34⁺ mediante el análisis de las unidades formadoras de colonias (CFU), como se describe en la parte experimental más adelante: Un aumento del número de células CD34⁺ en cultivo de cuando menos el 10 por ciento, de preferencia un aumento del 20 por ciento, ó un aumento del 30 por ciento o mayor, comparándose con un control sin expansión, indica la expansión de las células madre hematopoiéticas. La población expandida de células madre hematopoiéticas se cosecha, por ejemplo, a partir de una muestra de médula ósea de un sujeto, o a partir de un cultivo. La cosecha de las células madre hematopoiéticas se define como el desalojamiento o la separación de las células. Esto se lleva a cabo empleando un número de métodos, tales como métodos enzimáticos, no enzimáticos, centrífugos, eléctricos, o basados en el tamaño, o de preferencia, mediante la inundación de las células utilizando medios de cultivo (por ejemplo, los medios en donde se incuben las células) o una solución reguladora. Las células opcionalmente se recolectan, se separan, y se expanden adicionalmente, generando poblaciones

todavía mayores de células madre hematopoiéticas y una progenie diferenciada.

Un método para la elaboración de una población expandida de células madre hematopoiéticas comprende poner en contacto un
5 agente capaz de sub-regular la actividad y/o expresión de AHR y/o un efector corriente abajo de AHR, por ejemplo, un compuesto de la invención, con una población celular de partida (es decir, una población de células no expandidas), la cual comprende una mezcla de células madre hematopoiéticas y opcionalmente células que
10 soportan a las células madre hematopoiéticas. El paso de administración ocurre *ex vivo*, *in vivo* y/o *in vitro*. Como se describe en la presente, la población expandida de células madre hematopoiéticas se administra opcionalmente a un sujeto. Para la expansión *ex vivo*, este agente para la expansión de las células
15 madre hematopoiéticas, por ejemplo, un compuesto de la invención, se puede formular en sulfóxido de dimetilo, o en algún otro vehículo adecuado, "se lava" de las células, y las células se pueden transferir, por ejemplo, a un regulador de infusión. Por consiguiente, se proporcionan métodos para suministrar una población expandida
20 de células madre hematopoiéticas a un sujeto, los cuales comprenden administrar al sujeto la población expandida de células madre hematopoiéticas descritas en la presente o elaboradas mediante los métodos descritos en la presente. La población expandida de células madre hematopoiéticas se utiliza
25 opcionalmente para hacer células sanguíneas. Las células

sanguíneas se administran opcionalmente a un sujeto que las necesite. Opcionalmente, el sujeto es el mismo sujeto a partir del cual se haya derivado la población no expandida de células madre hematopoiéticas o la mezcla de células madre hematopoiéticas y células que soportan a las células madre hematopoiéticas.

Como se utiliza en la presente, el término célula que soporta a las células madre hematopoiéticas se refiere a las células que se encuentran naturalmente en la vecindad de una o más células madre hematopoiéticas, de tal manera que los factores liberados por las células que soportan a las células madre hematopoiéticas llegan a las células madre hematopoiéticas, por ejemplo, mediante difusión. Las células que soportan a las células madre hematopoiéticas incluyen, pero no se limitan a, células estromales linforreticulares. Las células estromales linforreticulares, como se utilizan en la presente, incluyen, pero no se limitan a, todos los tipos de células presentes en un tejido linfoide que no son linfocitos o precursores o progenitores de de linfocitos. Por consiguiente, las células estromales linforreticulares incluyen osteoblastos, células epiteliales, células endoteliales, células mesoteliales, células dendríticas, esplenocitos y macrófagos. Las células estromales linforreticulares también incluyen las células que ordinariamente no funcionarían como células estromales linforreticulares, tales como los fibroblastos, los cuales se hayan alterado genéticamente para secretar o expresar sobre su superficie celular los factores necesarios para el mantenimiento, el crecimiento, o la diferenciación

de las células madre hematopoiéticas, incluyendo su progenie. Las células estromales linforreticulares opcionalmente se derivan a partir de la desagregación de un pedazo de tejido linfoide. Estas células son capaces de soportar, *in vitro* o *in vivo*, el mantenimiento, el crecimiento, o la diferenciación de las células madre hematopoiéticas, incluyendo su progenie. Mediante tejido linfoide, se pretende incluir médula ósea, sangre periférica (incluyendo sangre periférica movilizada), sangre de cordón umbilical, sangre placentaria, hígado fetal, células embrionarias (incluyendo células embrionarias madre), células derivadas de aorta-gónadas-mesonefros, y tejido blando linfoide. El tejido blando linfoide, como se utiliza en la presente, incluye, pero no se limita a, tejidos tales como timo, bazo, hígado, nodos linfáticos, piel, amígdalas, adenoides y placas de Peyer, y combinaciones de los mismos.

Las células estromales linforreticulares proporcionan el micro-medio ambiente de soporte en el tejido linfoide intacto para el mantenimiento, el crecimiento, o la diferenciación de células madre hematopoiéticas, incluyendo su progenie. El micro-medio ambiente incluye los factores solubles y de superficie celular expresados por los diferentes tipos de células que comprenden el estroma linforreticular. En términos generales, el soporte que proporcionan las células estromales linforreticulares se caracteriza como dependiente del contacto así como no dependiente del contacto.

Las células estromales linforreticulares, por ejemplo, son autólogas (propias) o no autólogas (no propias, por ejemplo,

heterólogas, alogénicas, singénicas, o xenogénicas) con respecto a las células madre hematopoiéticas. Autólogas, como se utiliza en la presente, se refiere a las células a partir del mismo sujeto. Alogénicas, como se utiliza en la presente, se refiere a las células de la misma especie que difieren genéticamente. Singénicas, como se utiliza en la presente, se refiere a las células de un sujeto diferente que son genéticamente idénticas a la célula en la comparación. Xenogénicas, como se utiliza en la presente, se refiere a las células de una especie diferente. Las células estromales linforreticulares se obtienen, por ejemplo, a partir del tejido linfoide de un sujeto humano o no humano en cualquier tiempo después de que se ha desarrollado el órgano/tejido hasta una etapa (es decir, la etapa de maduración) en la que pueda soportar el mantenimiento, el crecimiento, o la diferenciación de las células madre hematopoiéticas. El tejido linfoide a partir del cual se derivan las células estromales linforreticulares usualmente determina el emprendimiento de las células madre hematopoiéticas de compromiso con el linaje, dando como resultado la especificidad de linaje de la progenie diferenciada.

El co-cultivo de células madre hematopoiéticas (y la progenie de las mismas) con células estromales linforreticulares, usualmente ocurre bajo condiciones conocidas en la materia (por ejemplo, temperatura, contenido de CO₂ y de O₂, medio nutritivo, duración, etc.). El tiempo suficiente para aumentar el número de células es un tiempo que puede ser fácilmente determinado por una persona

experta en la materia, y varía dependiendo del número original de células sembradas. Las cantidades de células madre hematopoiéticas y de células estromales linforreticulares inicialmente introducidas (y subsiguientemente sembradas) varía de acuerdo con las necesidades del experimento. Las cantidades ideales son fácilmente determinadas por una persona experta en este campo de acuerdo con las necesidades

Como se utiliza a través de toda esta memoria descriptiva, un sujeto significa un individuo. Por consiguiente, los sujetos incluyen, por ejemplo, animales domésticos, tales como gatos y perros, animales de granja (por ejemplo, ganado, caballos, cerdos, ovejas, y cabras), animales de laboratorio (por ejemplo, ratones, conejos, ratas, y cobayos), mamíferos, mamíferos no humanos, primates, primates no humanos, roedores, aves, reptiles, anfibios, peces, y cualquier otro animal. El sujeto es opcionalmente un mamífero, tal como un primate o un ser humano.

Métodos para expandir las células madre hematopoiéticas

La invención, por consiguiente, se refiere a un método para expandir las células madre hematopoiéticas, el cual comprende (a) proporcionar una población celular de partida que comprenda células madre hematopoiéticas, y (b) cultivar esta población celular de partida *ex vivo* en la presencia de un agente capaz de sub-regular la actividad y/o expresión del receptor de hidrocarburo de arilo y/o un efector corriente abajo de la senda del receptor de hidrocarburo de arilo, bajo condiciones adecuadas para expandir las células madre

hematopoiéticas.

El receptor de hidrocarburo de arilo (dioxina) (AHR) es un factor de transcripción activado por ligando citosólico que se sabe que media un gran número de efectos tóxicos y carcinogénicos en los animales y posiblemente en los seres humanos (Safe S 2001 Toxicol Lett 120: 1-7). Como una consecuencia de la activación del receptor de hidrocarburo de arilo mediante sus ligandos, muchos genes de detoxificación son inducidos transcripcionalmente, incluyendo aquéllos que codifican las enzimas metabolizantes xenobióticas en fase I, tales como los citocromos P450 CYP1A1, CYP1A2, CYP1B1 y CYP2S1, y las enzimas en fase II de UDP-glucuronosil-transferasa UGT1A6, oxido-reductasa-1 de quinona dependiente de NAD(P)H (NQO1), la deshidrogenasa de aldehído ALDH3A1, y varias S-transferasas de glutatona.

En una modalidad, un agente capaz de sub-regular la actividad y/o expresión del receptor de hidrocarburo de arilo y/o un efector corriente abajo de la senda del receptor de hidrocarburo de arilo se selecciona de entre el grupo que consiste en: (i) un compuesto orgánico; (ii) una molécula de ARN de interferencia pequeño (siARN) capaz de sub-regular la expresión del receptor de hidrocarburo de arilo; y (iii) un oligonucleótido anti-sentido capaz de sub-regular la expresión del receptor de hidrocarburo de arilo.

En una modalidad específica, este método para expandir las células madre hematopoiéticas comprende: (a) proporcionar una población celular de partida que comprenda células madre

hematopoiéticas, y (b) cultivar esta población celular de partida *ex vivo* en la presencia de un agente capaz de sub-regular la actividad y/o expresión del receptor de hidrocarburo de arilo y/o un efector corriente abajo de la senda del receptor de hidrocarburo de arilo, bajo condiciones adecuadas para expandir las células madre hematopoiéticas, en donde este agente capaz de sub-regular la actividad y/o expresión del receptor de hidrocarburo de arilo y/o un efector corriente abajo de la senda del receptor de hidrocarburo de arilo no es alfa-naftoflavona ó 3'-metoxi-4'-nitroflavona.

Los compuestos orgánicos que inhiben la actividad del receptor de hidrocarburo de arilo (también referidos en la presente como antagonistas del receptor de hidrocarburo de arilo) se han descrito en la materia, por ejemplo, (2-metil-4-o-tolil-azo-fenil)-amida del ácido 2-metil-2H-pirazol-3-carboxílico (CH223191), alfa-naftoflavona, resveratrol (Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis., Abril de 2003; 13(2): 104-13), 3'-metoxi-4'-nitroflavona (Biochem. Pharmacol., 15 de Mayo de 2007; 73(10): 1622-34, Publicación electrónica: 30 de Enero de 2007), y 6-metil-1,3,8-tricloro-dibenzofurano (Cancer Res., 15 de Abril de 2004; 64(8): 2889-97). Un inhibidor de la actividad del receptor de hidrocarburo de arilo se refiere a un compuesto que disminuye la actividad del receptor de hidrocarburo de arilo hasta cuando menos el 10 por ciento, el 20 por ciento, el 30 por ciento, el 50 por ciento, el 60 por ciento, el 70 por ciento, el 80 por ciento, o hasta cuando menos el 90 por ciento, la actividad de transcripción del receptor de hidrocarburo de arilo como

se observa bajo condiciones activadas. Un ensayo para medir la actividad inhibidora del receptor de hidrocarburo de arilo es, por ejemplo, el ensayo de gen reportero de luciferasa dependiente del receptor de hidrocarburo de arilo inducido por dioxina como se describe en los Ejemplos. En una modalidad, un inhibidor de la actividad del receptor de hidrocarburo de arilo es un compuesto que tiene una EC50 de menos de 10 μM , de preferencia menos de 5 μM como se mide en el ensayo de gen reportero de luciferasa dependiente del receptor de hidrocarburo de arilo inducido por dioxina.

El receptor de hidrocarburo de arilo es un factor de transcripción que regula la transcripción de diversos genes en el ser humano. En una modalidad, un efector corriente abajo de la senda del receptor de hidrocarburo de arilo es un gen que es directamente regulado al nivel de la transcripción por el receptor de hidrocarburo de arilo. Los ejemplos de estos genes se seleccionan a partir de Cyp1B1, Cyp1A1, y AHRR. El receptor de hidrocarburo de arilo también funciona en sendas fuera de su papel bien caracterizado en la inducción de enzimas xenobióticas. Se ha demostrado que los ligandos xenobióticos del receptor de hidrocarburo de arilo regulan la beta-catenina, STAT5, STAT1, HES-1, c-Myc, C/EBP, PU.1, β -catenina, p21, P27, pRb, transferasa de desoxinucleotidilo, CXCR4, y su ligando de quimiocina CXCL12 (SDF-1).

En una modalidad específica, un agente capaz de sub-regular la actividad y/o expresión del receptor de hidrocarburo de arilo es un

compuesto como se define en la Breve Descripción de la Invención.

En otra modalidad, un agente capaz de sub-regular la actividad y/o expresión del receptor de hidrocarburo de arilo es un oligonucleótido anti-sentido o una molécula de ARN de interferencia pequeño (siARN), capaz de sub-regular la expresión de proteína del receptor de hidrocarburo de arilo o la expresión de proteína de uno o más efectores corriente abajo del receptor de hidrocarburo de arilo.

El diseño de los oligonucleótidos anti-sentido que se pueden utilizar para inhibir de un modo eficiente la expresión de proteína del receptor de hidrocarburo de arilo, se debe efectuar de una manera tal que estos oligonucleótidos se enlacen específicamente al ARNm designado dentro de las células de una forma que inhiba su traducción. La secuencia adecuada para utilizarse en el diseño y en la síntesis de los oligonucleótidos anti-sentido que se enlacen específicamente al ARNm del receptor de hidrocarburo de arilo, al ADN genómico, y/o a su promotor, o a otras secuencias de control, está disponible en la secuencia publicada del receptor de hidrocarburo de arilo, en particular el receptor de hidrocarburo de arilo humano. En adición, también están disponibles los algoritmos para identificar las secuencias con la más alta afinidad de enlace predicha por su ARNm objetivo, basándose en el ciclo termodinámico que cuenta para la energética de las alteraciones estructurales tanto en el ARNm objetivo como en los oligonucleótidos.

La síntesis de moléculas de ARNi adecuadas para utilizarse

con la presente invención se puede efectuar como sigue: Primero, se explora la secuencia de ARNm del receptor de hidrocarburo de arilo (o uno o más de sus efectores corriente abajo) corriente abajo del codón de inicio AUG para las secuencias de dinucleótidos-AA. La

5 presentación de cada AA y los 19 adyacentes a 3' se registran como un sitio objetivo potencial del siARN. Entonces, los sitios objetivo potenciales se comparan con una base de datos genómicos apropiada (por ejemplo, de ser humano, de ratón, de rata, etc.), utilizando cualquier software de alineación de secuencias. Se filtra

10 el sitio objetivo supuesto que exhiba una homología significativa con otras secuencias de codificación. Entonces, las secuencias preferidas son aquéllas que incluyan un bajo contenido de G/C, en particular las secuencias con un contenido de G/C menor del 55 por ciento. Luego se seleccionan varios sitios objetivo a lo largo de la

15 longitud del gen objetivo. Los métodos o algoritmos para identificar el sitio objetivo supuesto del siARN se describen, por ejemplo en (Tilesi y colaboradores, Curr. Opin. Mol. Ther. 11: 156, 2009). Los ejemplos de las moléculas de siARN que son capaces de sub-regular la expresión del receptor de hidrocarburo de arilo son: AHR 111S, 5'

20 GCG GCA TAG AGA CCG ACT TAA TTT CAA GAG AAT TAA GTC GGT CTC TAT GCC GCT TTT TTG G 3'; AHR 111AS, 5' CGC GCC AAA AAA GCG GCA TAG AGA CCG ACT TAA TTC TCT TGA AAT TAA GTC GGT CTC TAT GCC GC 3'; AHR 242S, 5' GGC TTC TTT GAT GTT GCA TTA ATT CAA GAG ATT AAT GCA ACA TCA AAG

25 AAG CCT TTT TTG G 3'; AHR 242AS, 5' CGC GCC AAA AAA GGC

TTC TTT GAT GTT GCA TTA ATC TCT TGA ATT AAT GCA ACA TCA
AAG AAG CC 3'.

La población celular de partida que comprenda las células madre hematopoiéticas será seleccionada por la persona experta en la materia dependiendo del uso previsto. En la técnica se han descrito diferentes fuentes de células que comprenden células madre hematopoiéticas, incluyendo médula ósea, sangre periférica, sangre neonatal de cordón umbilical, de placenta, o de otras fuentes, tales como hígado, en particular hígado fetal.

La población celular se puede someter primero a los pasos de enriquecimiento o purificación, incluyendo la selección negativa y/o positiva de las células, basándose en marcadores celulares específicos, con el objeto de proporcionar la población celular de partida. Los métodos para aislar esta población celular de partida basándose en marcadores celulares específicos pueden utilizar la tecnología de selección de células activada por fluorescencia (FACS), también denominada como citometría de flujo, o un sustrato sólido o insoluble que se enlaza a los anticuerpos o ligandos que interactúan con los marcadores de superficie celular específicos. Por ejemplo, las células se pueden poner en contacto con un sustrato sólido (por ejemplo, una columna de gránulos, hojuelas, partículas magnéticas) que contenga los anticuerpos, y se remueven cualesquiera células no enlazadas. Cuando se utiliza un sustrato sólido que comprende gránulos magnéticos o paramagnéticos, se pueden aislar fácilmente las células enlazadas a los gránulos

mediante un separador magnético.

En una modalidad, esta población celular de partida está enriquecida en un fenotipo de marcador celular deseable (por ejemplo, CD34⁺, CD133⁺, CD90⁺), o se basa en el eflujo de tintes, tales como rodamina, Hoechst, o en la actividad de deshidrogenasa de aldehído. En una modalidad específica, esta población celular de partida está enriquecida en células CD34⁺. Los métodos para enriquecer la población de células sanguíneas en células CD34⁺ incluyen los kits comercializados por Miltenyi Biotec (kit de aislamiento directo de CD34⁺, Miltenyi Biotec, Bergisch, Gladbach, Alemania) o por Baxter (Isolex 3000).

La cantidad de sangre de cordón a partir de un solo nacimiento con frecuencia es inadecuada para tratar a un adulto o a un niño más grande. Una ventaja de los métodos de expansión que utilizan los compuestos de la invención, o un agente capaz de sub-regular la actividad y/o expresión del receptor de hidrocarburo de arilo y/o un efector corriente abajo de la senda del receptor de hidrocarburo de arilo, es que hacen posible la producción de una cantidad suficiente de células madre hematopoiéticas a partir de solamente una unidad de sangre de cordón umbilical.

De conformidad con lo anterior, en una modalidad, la población celular de partida se deriva a partir de células de sangre neonatal de cordón umbilical, las cuales se han enriquecido en células CD34⁺. En una modalidad relacionada, esta población celular de partida se deriva a partir de una o dos unidades de sangre de cordón umbilical.

En otra modalidad, la población celular de partida se deriva a partir de células de sangre periférica humana movilizada, las cuales se han enriquecido en células CD34⁺. En una modalidad relacionada, esta población celular de partida se deriva a partir de células de sangre periférica humana movilizada aisladas a partir de solamente un paciente.

Esta población celular de partida puede contener de preferencia cuando menos el 50 por ciento de células CD34⁺, en algunas modalidades, más del 90 por ciento de células CD34⁺, y puede comprender entre 10⁵ y 10⁹ células nucleadas.

La población celular de partida se puede utilizar directamente para la expansión, o se puede congelar y almacenar para utilizarse en una fecha posterior.

Las condiciones para cultivar la población celular de partida para la expansión de células madre hematopoiéticas variará dependiendo, entre otras cosas, de la población celular de partida, del número final de células deseado, y de la proporción final deseada de células madre hematopoiéticas.

En una modalidad específica, en particular, utilizando una población celular de partida a partir de células de sangre de cordón umbilical enriquecidas en células CD34⁺, las condiciones de cultivo comprenden el uso de otras citoquinas y factores de crecimiento, conocido generalmente en la materia para la expansión de células madre hematopoiéticas. Estas citoquinas y factores de crecimiento incluyen, sin limitación, IL-1, IL-3, IL-6, IL-11, G-CSF, GM-CSF,

SCF, Flt3-L, trombopoietina (TPO), eritropoietina, y los análogos de los mismos. Como se utiliza en la presente, "análogos" incluyen cualesquiera variantes estructurales de las citoquinas y de los factores de crecimiento que tengan la misma actividad biológica que las formas que se presentan naturalmente, incluyendo, sin limitación, las variantes con una actividad biológica aumentada o disminuida, al compararse con las formas que se presentan naturalmente, o los agonistas de los receptores de citoquina, tales como un anticuerpo agonista contra el receptor de TPO (por ejemplo, VB22B sc(Fv)2 como se detalla en la Publicación de Patente Número WO 2007/145227, y similares). Las combinaciones de citoquina y factor de crecimiento se seleccionan de tal manera que se expandan las células madre hematopoiéticas y las células progenitoras, mientras que se limite la producción de células terminalmente diferenciadas. En una modalidad específica, se seleccionan una o más citoquinas y factores de crecimiento a partir del grupo que consiste en SCF, Flt3-L y TPO. En una modalidad específica, cuando menos se utiliza TPO en un medio sin suero, bajo condiciones adecuadas para la expansión de las células madre hematopoiéticas. En una modalidad relacionada, se utiliza una mezcla de IL6, SCF, Flt3-L y TPO en el método para expandir las células madre hematopoiéticas en combinación con el compuesto de la invención o un agente capaz de sub-regular la actividad y/o expresión del receptor de hidrocarburo de arilo y/o un efector corriente abajo de la senda del receptor de hidrocarburo de arilo.

La IL6 o interleucina-6 humana, también conocida como factor estimulante de células-B 2, ya se ha descrito (Kishimoto, Ann. Review of Imm. 23: 1 2005), y está comercialmente disponible. El SCF o factor de células madre humano, también conocido como
 5 ligando c-kit, factor de crecimiento de mastocitos o factor de Steel ya se ha descrito (Smith, MA y colaboradores, ACTA Haematologica, 105, 3: 143, 2001), y está comercialmente disponible. Flt3-L o Ligando de Flt-3, también referido como FL es un factor que se enlaza al receptor de flt3. Ya se ha descrito (Hannum C, *Nature* 368
 10 (6472): 643–8), y está comercialmente disponible. TPO o trombopoietina, también conocida como factor de crecimiento de megacariocitos (MGDF) o ligando c-Mpl, ya se ha descrito (Kaushansky K (2006). *N. Engl. J. Med.* 354 (19): 2034–45), y está comercialmente disponible.

15 La expansión de células madre hematopoiéticas se puede llevar a cabo en un medio basal, el cual es complementado con las mezclas de citoquinas y factores de crecimiento descritas anteriormente. Un medio basal típicamente comprende aminoácidos, fuentes de carbono, vitaminas, proteínas de suero (por ejemplo,
 20 albúmina), sales inorgánicas, cationes divalentes, reguladores, y cualquier otro elemento adecuado para utilizarse en la expansión de las células madre hematopoiéticas. Los ejemplos de este medio basal apropiados para un método para expandir las células madre hematopoiéticas incluyen, sin limitación, StemSpan® SFEM - Medio
 25 de Expansión Sin Suero (StemCell Technologies, Vancouver,

Canadá), StemSpan® H3000 - Medio Definido (StemCell Technologies, Vancouver, Canadá), CellGro® SCGM (CellGenix, Freiburg, Alemania), StemPro®-34 SFM (Invitrogen).

En una modalidad, el compuesto de la invención o el agente
5 capaz de sub-regular la actividad y/o expresión del receptor de
hidrocarburo de arilo y/o un efector corriente abajo de la senda del
receptor de hidrocarburo de arilo, se administra durante el método
de expansión de esta población celular de partida en una
concentración apropiada para la expansión de las células madre
10 hematopoiéticas. En una modalidad específica, el compuesto
mencionado o el agente modulador del receptor de hidrocarburo de
arilo se administra en una concentración comprendida entre 1 pM y
100 µM, por ejemplo entre 10 pM y 10 µM, o entre 100 pM y 1 µM.

En una modalidad específica en donde la población celular de
15 partida consiste esencialmente en células enriquecidas en CD34⁺ a
partir de una o dos unidades de sangre de cordón umbilical, las
células se cultivan bajo condiciones para la expansión de las células
madre hematopoiéticas de aproximadamente 3 días a
aproximadamente 90 días, por ejemplo entre 7 y 21 días, y/o hasta
20 obtener la expansión de las veces indicadas y las poblaciones
celulares características. En una modalidad específica, las células
se cultivan bajo condiciones para la expansión de las células madre
hematopoiéticas durante no más de 21 días, 14 días o 7 días.

En una modalidad, la población celular de partida se cultiva
25 durante un tiempo suficiente para alcanzar un número absoluto de

células CD34⁺ de cuando menos 10⁵, 10⁶, 10⁷, 10⁸ ó 10⁹ células. En otra modalidad, esta población celular de partida se cultiva durante un tiempo suficiente para una expansión de 10 a 50,000 veces de células CD34⁺, por ejemplo una expansión de entre 100 y 10,000 veces.

La población celular obtenida después de llevar a cabo el método de expansión se puede utilizar sin mayor purificación o se pueden someter a pasos adicionales de purificación o de selección.

La población celular se puede lavar entonces para remover el compuesto de la invención o cualquier otro agente capaz de subregular la actividad y/o expresión del receptor de hidrocarburo de arilo y/o un efector corriente abajo de la senda del receptor de hidrocarburo de arilo y/o cualesquiera otros componentes del cultivo celular, y se vuelve a suspender en un medio de suspensión de células apropiado para utilizarse en un corto plazo, o en un medio de almacenamiento de largo plazo, por ejemplo un medio adecuado para la crioconservación.

Población celular con células madre hematopoiéticas
expandidas, tales como se obtienen mediante el método de
expansión, y composiciones terapéuticas

La invención proporciona además una población celular con células madre hematopoiéticas expandidas, que se pueden obtener o se obtienen mediante el método de expansión descrito anteriormente. En una modalidad específica, esta población celular se vuelve a suspender en un medio farmacéuticamente aceptable

adecuado para su administración a un huésped mamífero, proporcionando de esta manera una composición terapéutica.

El compuesto como se define en la Breve Descripción de la Invención o un agente capaz de sub-regular la actividad y/o expresión del receptor de hidrocarburo de arilo y/o un efector corriente abajo de la senda del receptor de hidrocarburo de arilo hace posible la expansión de las células madre hematopoiéticas, por ejemplo a partir de solamente una o dos unidades de sangre de cordón umbilical, para proporcionar una población celular cuantitativamente y cualitativamente apropiada para un injerto eficiente de corto y largo plazo en un paciente humano que lo necesite. En particular, la invención se refiere a una composición que comprende una población celular con células madre hematopoiéticas expandidas derivadas a partir de no más de una o dos unidades de sangre de cordón umbilical, en donde esta composición terapéutica contiene una cantidad total de células de cuando menos 10^5 , 10^6 , 10^7 , 10^8 ó 10^9 células, siendo entre el 20 y el 100 por ciento, por ejemplo entre el 40 y el 80 por ciento de las células totales, células CD34⁺. En una modalidad relacionada, esta composición contiene entre el 0.1 y el 40 por ciento, por ejemplo entre el 0.1 y el 10 por ciento de las células totales que son CD34⁺ Thy1⁺; y del 20 al 80 por ciento de células que son CD34⁺ CD45RA⁺. En algunas modalidades específicas, esta composición contiene entre el 10 y el 95 por ciento de células que son CD38⁺, y entre el 5 y el 70 por ciento de células que son CD133⁺.

Uso de Composiciones Terapéuticas

La invención proporciona además la población celular con células madre hematopoiéticas expandidas o su composición para utilizarse en trasplante alogénico o autólogo de células madre en un
5 sujeto mamífero.

El sujeto referido en la presente es, por ejemplo, un donador de médula ósea o un individuo con, o en riesgo de tener, niveles agotados o limitados de células sanguíneas. Opcionalmente, el sujeto es un donador de médula ósea antes de cosechar la médula
10 ósea, o un donador de médula ósea después de cosechar la médula ósea. El sujeto es opcionalmente un receptor de un trasplante de médula ósea. Los métodos descritos en la presente son particularmente útiles en los sujetos que tengan una reserva limitada de médula ósea, tales como los sujetos ancianos o los sujetos
15 previamente expuestos a un tratamiento inmunoconsumidor o a un tratamiento de mieloablación, tal como quimioterapia, por ejemplo, para el tratamiento de leucemia o linfomas. El sujeto tiene opcionalmente un nivel reducido de células sanguíneas o está en riesgo de desarrollar un nivel reducido de células sanguíneas,
20 comparándose con un nivel de células sanguíneas de control. Como se utiliza en la presente, el término "nivel de células sanguíneas de control" se refiere a un nivel promedio de células sanguíneas en un sujeto antes de, o en una ausencia sustancial de, un evento que cambie los niveles de células sanguíneas en el sujeto. Un evento
25 que cambia los niveles de células sanguíneas en un sujeto incluye,

por ejemplo, anemia, trauma, quimioterapia, trasplante de médula ósea y terapia de radiación. Por ejemplo, el sujeto tiene anemia o pérdida de sangre, por ejemplo, debido a un trauma.

5 La población de células madre hematopoiéticas expandidas o la composición que comprende a la población celular con células madre hematopoiéticas expandidas, se administra al sujeto, por ejemplo, antes de, al mismo tiempo que, o después de quimioterapia, terapia de radiación, o un trasplante de médula ósea. El sujeto opcionalmente tiene una médula ósea agotada en relación,
10 por ejemplo, con un síndrome congénito, genético, o adquirido, caracterizado por pérdida de médula ósea o médula ósea agotada. Por consiguiente, el sujeto es opcionalmente un sujeto que necesita hematopoiesis. Opcionalmente, el sujeto es un donador de médula ósea o es un sujeto con, o en riesgo de, médula ósea agotada.

15 La manipulación de las células madre hematopoiéticas es útil como un tratamiento de complemento para la quimioterapia o la terapia de radiación. Por ejemplo, las células madre hematopoiéticas se localizan en la sangre periférica, y entonces se aíslan a partir de un sujeto que se vaya a someter a quimioterapia, y después de la
20 terapia, se devuelven las células. Por consiguiente, el sujeto es un sujeto que se someta, o que se espere que se vaya a someter, a un tratamiento de agotamiento de las células inmunitarias, tal como quimioterapia, terapia de radiación, o que sirva como un donador para un trasplante de médula ósea. La médula ósea es uno de los
25 tejidos más prolíficos del cuerpo y, por consiguiente, con frecuencia

es el órgano que es inicialmente dañado por los fármacos de la quimioterapia y por la radiación. El resultado es que se destruye rápidamente la producción de células sanguíneas el tratamiento de quimioterapia o radiación, y se debe terminar la quimioterapia o la radiación para permitir que el sistema hematopoiético rellene los suministros de células sanguíneas antes de que un paciente se pueda volver a tratar con quimioterapia. Por consiguiente, como se describe en la presente, se administran opcionalmente las células madre hematopoiéticas o las células sanguíneas hechas mediante los métodos descritos en la presente, a los sujetos que necesiten células sanguíneas adicionales.

Se proporcionan células madre hematopoiéticas expandidas mediante un compuesto de la invención o un agente capaz de subregular la actividad y/o expresión del receptor de hidrocarburo de arilo y/o un efector corriente abajo de la senda del receptor de hidrocarburo de arilo o las composiciones con células madre hematopoiéticas expandidas como se describen anteriormente, en combinación con un producto terapéutico capaz de potenciar la proliferación de células madre hematopoiéticas *in vivo*, *in vitro*, o *ex vivo* (por ejemplo, una molécula pequeña, un anticuerpo, o similares), y opcionalmente cuando menos un excipiente o vehículo farmacéuticamente aceptable. Un producto terapéutico capaz de potenciar la proliferación de células madre hematopoiéticas significa: un anticuerpo agonista contra el receptor de TPO (por ejemplo, VB22B sc(Fv)2 como se detalla en la Publicación de

Patente Número WO 2007/145227, y similares); una citoquina, tal como SCF, IL-6, ligando de Flt-3, TPO, o un mimético de TPO (por ejemplo, tal como se describe en las Publicaciones Internacionales Números WO/2007/022269; WO/2007/009120; WO/2004/054515; 5 WO/2003/103686; WO/2002/085343; WO/2002/049413; WO/2001/089457; WO/2001/039773; WO/2001/034585; WO/2001/021180; WO/2001/021180; WO/2001/017349; WO/2000/066112; WO/2000/035446; WO/2000/028987; WO/2008/028645; y similares); factor estimulante de colonias de 10 granulocitos (G-CSF); factor estimulante de colonias de granulocitos-macrófagos (GM-CSF); una prostaglandina o un agonista de los receptores de prostaglandina (por ejemplo, un agonista del receptor-1 de prostaglandina E2 (EP-1), un agonista del receptor-2 de prostaglandina E2 (EP-2), un agonista del receptor-3 15 de prostaglandina E2 (EP-3), y los agonistas del receptor-4 de prostaglandina E2 (EP-4), como se detallan en la Publicación de Patente Número WO/2008/073748); tetraetilen-pentamina (TEPA); ligandos-Notch (Delta-1); y/o un agonista de WNT. En adición, el cultivo de las células madre con células madre mesenquimales 20 (MSCs) previene la enfermedad del injerto contra el huésped (GVHD), y puede ayudar a la expansión de las células madre. Las células madre mesenquimales y las células madre se pueden trasplantar como un cultivo entero.

Farmacéuticamente aceptable significa un material que no es 25 biológicamente o de otra manera indeseable, es decir, el material se

puede administrar a un sujeto o a una célula, sin causar efectos biológicos indeseables, o sin interactuar de una manera perjudicial con los otros componentes de la composición farmacéutica en donde esté contenido. El vehículo o excipiente se selecciona de tal manera
5 que minimice la degradación del ingrediente activo, y que minimice los efectos secundarios adversos en el sujeto o en la célula.

Las composiciones se formulan de cualquier manera convencional para utilizarse en los métodos descritos en la presente. La administración se hace por medio de cualquier vía
10 conocida como efectiva por un experto ordinario. Por ejemplo, las composiciones se administran oralmente, parenteralmente (por ejemplo, intravenosamente), mediante inyección intramuscular, mediante inyección intraperitoneal, transdérmicamente, mediante administración extracorpórea, intranasal o tópica.

15 El método de administración preferido es la infusión intravenosa. El número de células transfundidas tomará en consideración factores tales como el sexo, la edad, el peso, el tipo de enfermedad o trastorno, la etapa del trastorno, el porcentaje de células deseadas en la población celular, y la cantidad de células
20 necesarias para producir un beneficio terapéutico. En una modalidad particular, la composición se administra mediante infusión intravenosa, y comprende cuando menos 10^4 células/kilogramo, de 10^5 a $5 \cdot 10^7$ células/kilogramo o más si es necesario. En una modalidad específica, las células infundidas se derivan todas de
25 células de sangre de cordón expandidas a partir de un solo

nacimiento.

Un vehículo farmacéuticamente aceptable para la infusión de una composición que comprenda células en un paciente típicamente comprende suero regulado con albúmina de suero humano al 5 por ciento, o un medio basal no complementado, o un medio como es conocido en la materia.

Para su administración oral, las composiciones toman la forma, por ejemplo, de tabletas o cápsulas preparadas por medios convencionales, con excipientes farmacéuticamente aceptables, tales como agentes de enlace (por ejemplo, almidón de maíz previamente gelatinizado, polivinil-pirrolidona, o hidroxipropilmetilcelulosa); rellenos (por ejemplo, lactosa, celulosa microcristalina, o fosfato ácido de calcio); lubricantes (por ejemplo, estearato de magnesio, talco, o sílice); desintegrantes (por ejemplo, almidón de papa, o glicolato de almidón de sodio); o agentes humectantes (por ejemplo, lauril-sulfato de sodio). Las tabletas se recubren mediante los métodos bien conocidos en la materia. Las preparaciones líquidas para su administración oral toman la forma, por ejemplo, de soluciones, jarabes, o suspensiones, o se pueden presentar como un producto seco para reconstituirse con agua u otro vehículo adecuado antes de usarse. Estas preparaciones líquidas se preparan por medios convencionales con aditivos farmacéuticamente aceptables, tales como agentes de suspensión (por ejemplo, jarabe de sorbitol, derivados de celulosa, o grasas comestibles hidrogenadas); agentes emulsionantes (por ejemplo, lecitina o acacia); vehículos no acuosos

(por ejemplo, aceite de almendra, ésteres oleosos, alcohol etílico, o aceites vegetales fraccionados); y conservadores (por ejemplo, p-hidroxibenzoatos de metilo o de propilo, o ácido sórbico). Las preparaciones opcionalmente contienen sales reguladoras, agentes
5 saborizantes, colorantes, y edulcorantes, como sea apropiado.

Las composiciones se formulan para su administración parenteral mediante inyección, por ejemplo, mediante inyección de bolo o infusión continua. Las formulaciones para inyección se presentan en una forma de dosificación unitaria, por ejemplo, en
10 ampolletas o en recipientes de múltiples dosis, con o sin un conservador agregado. Las composiciones toman formas tales como suspensiones, soluciones, o emulsiones en vehículos oleosos o acuosos, y pueden contener agentes de formulación, tales como agentes de suspensión, estabilizantes, y/o dispersantes. De una
15 manera alternativa, el ingrediente activo está en una forma de polvo para su reconstitución con un vehículo adecuado, por ejemplo, agua estéril sin pirógeno, antes de usarse. En general, los vehículos adecuados para las soluciones parenterales son agua, un aceite adecuado, suero, dextrosa acuosa (glucosa) y soluciones de azúcar
20 relacionadas, y glicoles, tales como propilenglicol o polietilenglicoles. Las soluciones para su administración parenteral contienen, por ejemplo, una sal del ingrediente activo soluble en agua, agentes estabilizantes adecuados y, si es necesario, sustancias reguladoras del pH. Los agentes antioxidantes, tales
25 como bisulfato de sodio, sulfito de sodio, o ácido ascórbico, ya sea

solos o combinados, son agentes estabilizantes adecuados. También se utilizan opcionalmente ácido cítrico y sus sales, y ácido etilendiamina-tetra-acético de sodio (EDTA). En adición, las soluciones parenterales contienen opcionalmente conservadores, tales como

5 cloruro de benzalconio, metil- o propil-parabeno, y cloro-butanol. Los vehículos farmacéuticos adecuados se describen en Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 21^a Edición, David B. Troy, Editor, Lippicott Williams & Wilkins (2005), el cual se incorpora como referencia en su totalidad cuando menos con respecto al material

10 relacionado con los vehículos y composiciones farmacéuticas.

Las composiciones se formulan opcionalmente como una preparación de depósito. Estas formulaciones de larga acción se administran opcionalmente mediante implante. Por consiguiente, por ejemplo, las composiciones se formulan con materiales poliméricos o

15 hidrofóbicos adecuados (por ejemplo como una emulsión en un aceite aceptable) o resinas de intercambio de iones, o como derivados escasamente solubles, por ejemplo, como una sal escasamente soluble. Las composiciones se aplican a, o se empotran con, implantes concurrentes con, o después de, el

20 implante quirúrgico.

Adicionalmente, se emplean métodos farmacéuticos para controlar la duración de acción. Éstos incluyen preparaciones de control de liberación y macromoléculas apropiadas, por ejemplo, polímeros, poliésteres, poliaminoácidos, polivinilo, pirrolidona,

25 etileno-acetato de vinilo, metil-celulosa, carboxi-metil-celulosa, o

sulfato de protamina. La concentración de macromoléculas, así como los métodos de incorporación, se ajustan con el objeto de controlar la liberación. Opcionalmente, el agente se incorpora en partículas de materiales poliméricos, tales como poliésteres, poli-aminoácidos, 5 hidrogel, poli-(ácido láctico), o copolímeros de etileno-acetato de vinilo. En adición a incorporarse, estos agentes opcionalmente se utilizan para atrapar al compuesto en microcápsulas.

Una composición para utilizarse en los métodos descritos en la presente se formula opcionalmente como una formulación de liberación sostenida y/o en tiempo. Estas formulaciones de liberación sostenida y/o en tiempo se hacen por medios de liberación sostenida o mediante dispositivos de suministro, los cuales son bien conocidos por aquéllos que tengan una experiencia ordinaria en este campo. Las composiciones se utilizan para proporcionar una liberación lenta o sostenida de uno o más de los ingredientes 15 activos, utilizando, por ejemplo, hidroxipropilmetilcelulosa, otras matrices poliméricas, geles, membranas permeables, sistemas osmóticos, recubrimientos de múltiples capas, micropartículas, liposomas, microesferas, o una combinación de los mismos, para proporcionar el perfil de liberación deseado en proporciones variables. Se seleccionan las formulaciones de liberación sostenida adecuadas para utilizarse con las composiciones descritas en la presente. Por consiguiente, se utilizan las formas individuales de dosificación unitaria adecuadas para su administración oral, tales 20 como, pero no limitándose a, tabletas, cápsulas, gelcaps, caplets, y 25

polvos que se adapten para su liberación sostenida.

Las composiciones opcionalmente se suministran mediante un sistema de liberación controlada. Por ejemplo, la composición se administra utilizando una infusión intravenosa, una bomba osmótica implantable, liposomas, u otros modos de administración. Se coloca un sistema de liberación controlada en proximidad al objetivo.

Opcionalmente, es deseable administrar la composición localmente, es decir, al área que necesite tratamiento. Por ejemplo, la composición se administra mediante inyección en la médula ósea de un hueso largo, por ejemplo. La administración local se logra, por ejemplo, mediante infusión local durante la cirugía, aplicación tópica (por ejemplo, en conjunto con un parche para heridas después de la cirugía), inyección, catéter, supositorio, o implante. Un implante es de un material poroso, no poroso, o gelatinoso, incluyendo membranas, tales como membranas sialásticas, o fibras.

Las composiciones farmacéuticas descritas en la presente se administran por cualquier medio convencional disponible para utilizarse en conjunto con productos farmacéuticos, ya sea como los ingredientes terapéuticos activos individuales o bien en una combinación de los ingredientes terapéuticos activos. Éstos se administran opcionalmente solos, pero en términos generales se administran con un vehículo farmacéutico seleccionado con base en la vía de administración seleccionada y en la práctica farmacéutica convencional.

Los compuestos descritos en la presente se proporcionan en

una forma farmacéuticamente aceptable, incluyendo las sales farmacéuticamente aceptables y sus derivados. El término "forma farmacéuticamente aceptable" se refiere a las composiciones que incluyen a los compuestos descritos en la presente, que son en general seguras, relativamente no tóxicas, y no son biológicamente ni de otra manera indeseables. Estas composiciones incluyen opcionalmente vehículos farmacéuticamente aceptables o estabilizantes que no sean tóxicos para la célula o el sujeto que se esté exponiendo a los mismos en las dosificaciones y concentraciones empleadas. Los ejemplos de los vehículos fisiológicamente aceptables incluyen reguladores, tales como fosfato, citrato, y otros ácidos orgánicos; antioxidantes, incluyendo ácido ascórbico; polipéptidos de bajo peso molecular (menores de aproximadamente 10 residuos); proteínas, tales como albúmina de suero, gelatina, o inmunoglobulinas; polímeros hidrofílicos, tales como polivinil-pirrolidona; aminoácidos, tales como glicina, glutamina, asparagina, arginina, o lisina; monosacáridos, disacáridos, y otros carbohidratos, incluyendo glucosa, manosa, o dextrinas; agentes quelantes, tales como EDTA; alcoholes de azúcar, tales como manitol o sorbitol; contra-iones formadores de sales, tales como sodio; y/o tensoactivos no iónicos, tales como TWEEN^{MR} (Uniqema, Reino Unido), polietilenglicol (PEG), y PLURONICS^{MR} (BASF, Alemania).

El término "sales de ácidos farmacéuticamente aceptables y sus derivados", se refiere a las sales y a los derivados de los

compuestos de la fórmula I descritos en la presente, que retienen la efectividad biológica y las propiedades descritas, y que no son biológicamente ni de otra manera indeseables. Las sales farmacéuticamente aceptables se forman, por ejemplo, con ácidos inorgánicos, tales como ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido nítrico, ácido fosfórico y similares, y con ácidos orgánicos, tales como ácido acético, ácido propiónico, ácido glicólico, ácido pirúvico, ácido oxálico, ácido maleico, ácido malónico, ácido succínico, ácido fumárico, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido benzoico, ácido cinámico, ácido mandélico, ácido metan-sulfónico, ácido etan-sulfónico, ácido p-toluen-sulfónico, ácido salicílico, y similares.

La estabilidad química de una composición que comprenda un compuesto de la fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable o éster del mismo, se mejora mediante los métodos conocidos por los expertos en este campo. Por ejemplo, se agrega un éster de ácido alcanóico de un sorbitol polietoxilado (un polisorbato) a una composición que contenga un compuesto de la fórmula I en una cantidad efectiva para mejorar la estabilidad química del compuesto.

Los datos obtenidos a partir de los ensayos de cultivo celular y de los estudios con animales, se utilizan opcionalmente en la formulación de un intervalo de dosificación para emplearse en seres humanos. La dosificación de estos compuestos está de preferencia dentro de un intervalo de concentraciones circulantes que incluyan poca o ninguna toxicidad. La dosificación varía dentro de este

intervalo dependiendo de la forma de dosificación empleada, y de la vía de administración utilizada. Para cualquier compuesto utilizado en los métodos proporcionados, la dosis terapéuticamente efectiva se estima inicialmente a partir de los ensayos de cultivo celular.

5 En la presente también se proporciona un paquete o kit, el cual comprende uno o más recipientes llenados con uno o más de los ingredientes descritos en la presente. Estos kits opcionalmente comprenden soluciones y reguladores como sean necesarios o deseados. El kit opcionalmente incluye una población expandida de
10 las células madre hecha mediante los métodos descritos anteriormente, o puede contener recipientes o composiciones para elaborar una población expandida de células madre hematopoiéticas. En particular, la invención proporciona un kit para expandir *ex vivo* células madre hematopoiéticas, el cual comprende un compuesto
15 como se define en la Breve Descripción de la Invención, e instrucciones para el uso de este compuesto en un método para la expansión de las células madre hematopoiéticas y, opcionalmente, una o más citoquinas o factores de crecimiento, o un medio para cultivo celular, en particular un medio para el cultivo de células
20 madre hematopoiéticas, como se describe anteriormente. El kit puede comprender además anticuerpos para monitorear la producción de células, tales como anticuerpos anti-CD34, anti-CD133, anti-CD38, anti-CD45RA, y/o anti-Thy1. En una modalidad específica, este kit incluye además una o más citoquinas o factores
25 de crecimiento seleccionados a partir del grupo que consiste en IL6,

FLT3-L, SCF, y TPO. Con estos paquetes o kits se asocian opcionalmente instrucciones para su uso.

También se proporciona un kit para suministrar una cantidad efectiva de un compuesto de la invención para aumentar las células madre hematopoiéticas en un sujeto, el cual comprende una o más dosis del compuesto para utilizarse durante un período de tiempo, en donde el número total de dosis del compuesto de la invención en el kit es igual a la cantidad efectiva suficiente para aumentar las células madre hematopoiéticas en un sujeto. El período de tiempo es de aproximadamente uno a varios días o semanas o meses. Por consiguiente, el período de tiempo es desde cuando menos aproximadamente 5, 6, 7, 8, 10, 12, 14, 20, 21, 30 ó 60 días o más, o cualquier número de días entre 1 y 90.

Procesos para la Elaboración de los Compuestos de la invención

La presente invención también incluye procesos para la preparación de los compuestos de la invención. En las reacciones descritas, puede ser necesario proteger a los grupos funcionales reactivos, por ejemplo a los grupos hidroxilo, amino, imino, tio, o carboxilo, en donde se deseen éstos en el producto final, para evitar su participación indeseada en las reacciones. Se pueden utilizar los grupos protectores convencionales de acuerdo con la práctica estándar, por ejemplo, véase T.W. Greene y P. G. M. Wuts en "Protective Groups in Organic Chemistry", John Wiley and Sons, 1991.

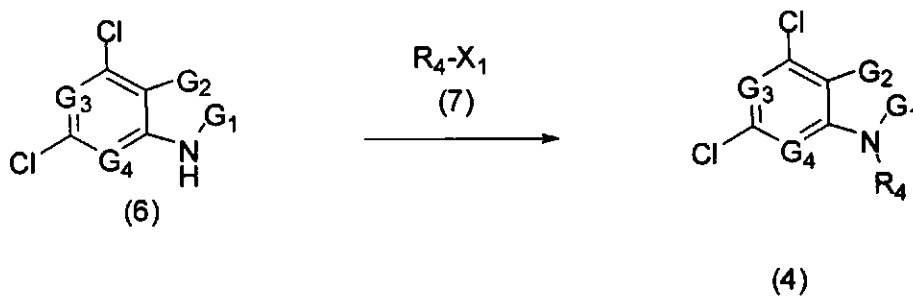
Los siguientes esquemas de reacción 1 a 5 detallan la

preparación de los compuestos de la invención. Un experto en la materia apreciará que, en seguida de la introducción mediante los métodos detallados más adelante, se puede elaborar adicionalmente de manera opcional cualquiera de los grupos R_1 , R_2 , R_3 , R_4 , y L_1 ,
 5 mediante las transformaciones conocidas, para llegar a los compuestos finales deseados de la fórmula I.

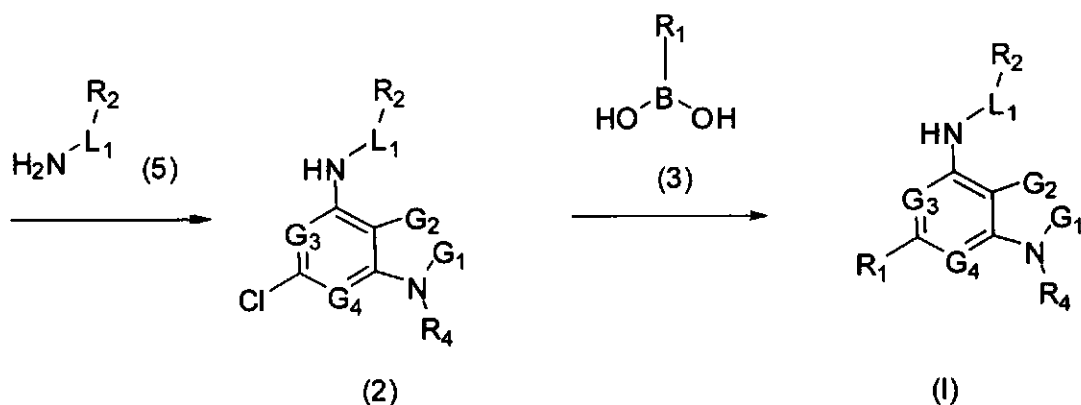
Los compuestos de la fórmula I se pueden preparar de acuerdo con el siguiente Esquema de Reacción 1:

Esquema de Reacción 1

10



15



20

en donde G_1 , G_2 , G_3 , G_4 , R_1 , R_2 y R_4 son como se definen para
 25 la fórmula I en la Breve Descripción de la Invención, y L de la

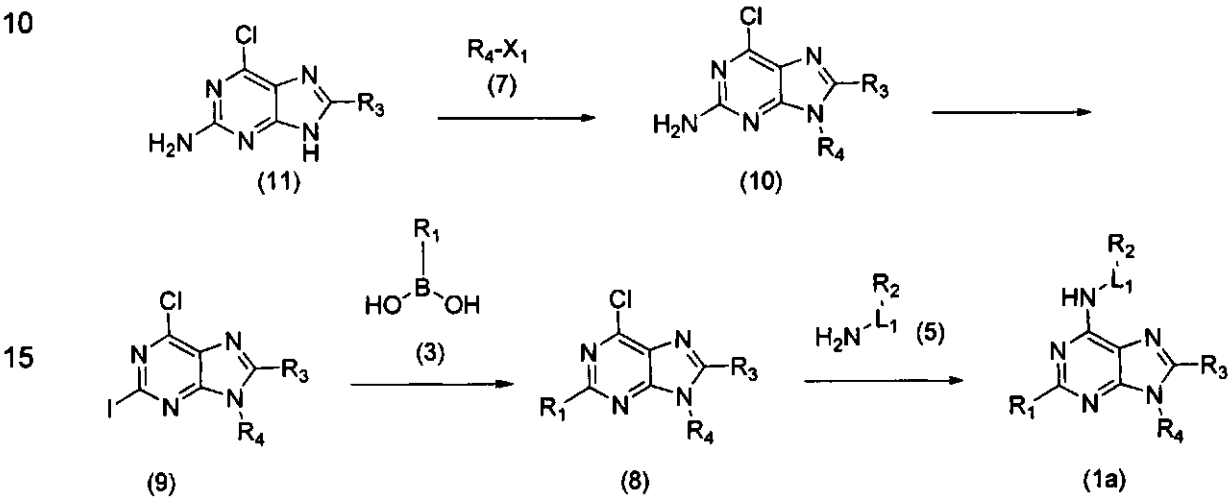
fórmula I se define en el esquema de reacción como $\text{-NH-L}_1\text{-}$, el cual es equivalente a, por ejemplo, $\text{-NR}_{5a}(\text{CH}_2)_{0.3}\text{-}$ en donde R_{5a} es hidrógeno y $\text{-(CH}_2)_{0.3}\text{-}$ es L_1 .

Los compuestos de la fórmula I se pueden preparar mediante la reacción de un compuesto de la fórmula 2 con un compuesto de la fórmula 3 en la presencia de un catalizador adecuado (por ejemplo, $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$, o similares) en la presencia de un ligando apropiado (por ejemplo, cloruro de 1,3-bis-(2,4,6-trimetil-fenil)-imidazolio), una base adecuada (por ejemplo, Cs_2CO_3 , o similares), y un solvente apropiado (por ejemplo, 1,4-dioxano), a una temperatura de aproximadamente 80°C a 100°C , durante 2 a aproximadamente 48 horas. Los compuestos de la fórmula 2 se puede preparar a su vez mediante la reacción de un compuesto de la fórmula 4 con un ligero exceso de un el compuesto de amina de la fórmula 5, en un solvente apropiado (por ejemplo, isopropanol), a una temperatura desde aproximadamente la temperatura ambiente hasta aproximadamente 80°C . Los compuestos de la fórmula 4 se puede preparar mediante la alquilación de un compuesto de la fórmula 6 con un agente alquilante adecuado 7, en donde X_1 es cloro, bromo, yodo, o un éster de sulfonato, en la presencia de una base adecuada (por ejemplo, hidruro de sodio o carbonato de potasio), en un solvente adecuado (por ejemplo, N,N'-dimetil-formamida), a una temperatura de aproximadamente 0°C a aproximadamente 80°C . De una manera alternativa, la reacción se puede llevar a cabo bajo condiciones de Mitsunobu utilizando un alcohol adecuado $\text{R}_4\text{-OH}$, en la presencia de

una fosfina adecuada (por ejemplo, trifenil-fosfina), y azodicarboxilato (por ejemplo, azodicarboxilato de dietilo), en un solvente inerte, tal como tetrahidrofurano o tolueno, a una temperatura desde aproximadamente 0°C hasta aproximadamente la temperatura ambiente.

Los compuestos de la fórmula Ia, en donde G₁ es CR₃ y en donde todos los demás grupos G son N, también se pueden preparar procediendo como en el siguiente Esquema de Reacción 2:

Esquema de Reacción 2



en donde R₁, R₂, R₃ y R₄ son como se definen para la fórmula I en la Breve Descripción de la Invención, y L de la fórmula I se define en el esquema de reacción como -NH-L₁-, el cual es equivalente a, por ejemplo, -NR_{5a}(CH₂)₀₋₃- en donde R_{5a} es hidrógeno y -(CH₂)₀₋₃- es L₁.

Los compuestos de la fórmula I se pueden preparar mediante la reacción de un compuesto de la fórmula 8 con un compuesto de amina de la fórmula 5 en un solvente apropiado (por ejemplo,

isopropanol), a una temperatura desde aproximadamente la temperatura ambiente hasta aproximadamente 100°C. Los compuestos de la fórmula 8 se pueden preparar a su vez mediante la reacción de un compuesto de la fórmula 9 con un compuesto de la

5 fórmula 3, en la presencia de un catalizador adecuado (por ejemplo, $\text{Pd}(\text{Ph}_3\text{P})_4$, $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$, o similares), opcionalmente en la presencia de un ligando apropiado (por ejemplo, cloruro de 1,3-bis-(2,4,6-trimetil-fenil)-imidazolio), una base adecuada (por ejemplo, Cs_2CO_3 , o similares), y un solvente apropiado (por ejemplo, 1,4-dioxano), a una

10 temperatura de aproximadamente 80°C a 100°C, durante 2 a aproximadamente 48 horas. Los compuestos de la fórmula 9 se puede preparar a su vez mediante la reacción de un compuesto de la fórmula 10 con una mezcla de di-yodo-metano, yoduro de cobre(I), y un nitrito de alquilo (por ejemplo, nitrito de isoamilo), opcionalmente

15 en la presencia de un solvente inerte, a una temperatura de aproximadamente 50°C a 100°C. Los compuestos de la fórmula 10 se pueden preparar mediante la alquilación de un compuesto de la fórmula 11 con un agente alquilante adecuado 7, en donde X_1 es cloro, bromo, yodo, o un éster de sulfonato, en la presencia de una

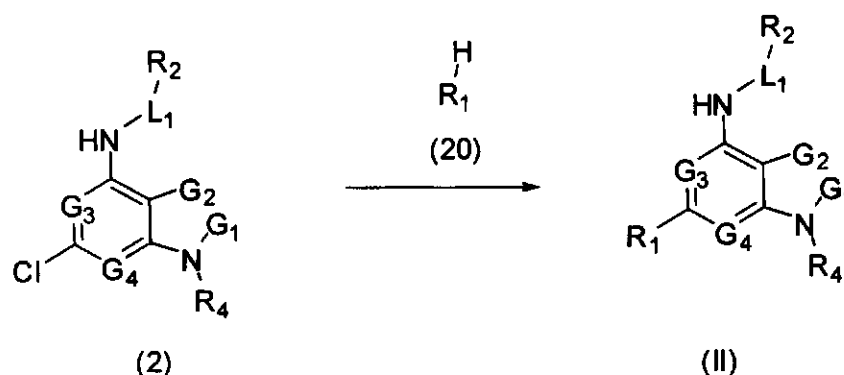
20 base adecuada (por ejemplo, hidruro de sodio o carbonato de potasio), en un solvente adecuado (por ejemplo, N,N'-dimetil-formamida), a una temperatura de aproximadamente 0°C a aproximadamente 80°C. De una manera alternativa, la reacción se puede llevar a cabo bajo condiciones de Mitsunobu, utilizando un

25 alcohol adecuado $\text{R}_4\text{-OH}$, en la presencia de una fosfina adecuada

(por ejemplo, trifenil-fosfina), y azodicarboxilato (por ejemplo, azodicarboxilato de dietilo), en un solvente inerte, tal como tetrahidrofurano o tolueno, a una temperatura desde aproximadamente 0°C hasta aproximadamente la temperatura ambiente.

Los compuestos de la fórmula II, los cuales son un subconjunto de los compuestos de la fórmula I, en donde R₁ es heterociclilo N-enlazado o heteroarilo N-enlazado, se pueden preparar como se detalla en el siguiente Esquema de Reacción 3:

Esquema de Reacción 3



G₁, G₂, G₃, G₄, R₁, R₂ y R₄ son como se definen para la fórmula I en la Breve Descripción de la Invención, y L de la fórmula I se define en el esquema de reacción como -NH-L₁-, el cual es equivalente a, por ejemplo, -NR_{5a}(CH₂)₀₋₃-, en donde R_{5a} es hidrógeno y -(CH₂)₀₋₃- es L₁. Los compuestos de la fórmula II se pueden preparar mediante la reacción de un compuesto de la fórmula 2 con un compuesto de la fórmula 20, en la presencia de un

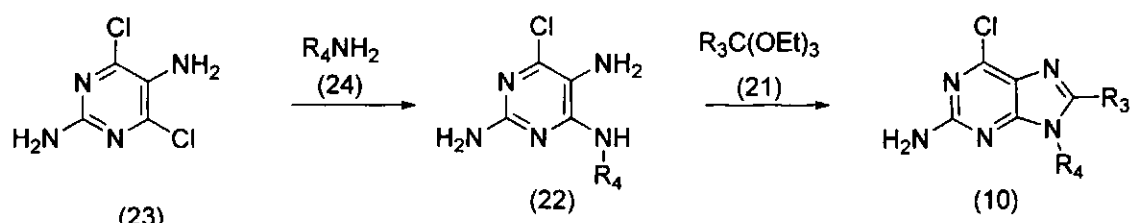
exceso de amina cíclica o de un heterociclo que lleve NH (por ejemplo, pirazol sustituido, imidazol sustituido, y similares), a una temperatura de aproximadamente 50°C a aproximadamente 250°C, durante aproximadamente 1 a aproximadamente 24 horas, opcionalmente en la presencia de una base, tal como hidruro de sodio o DBU.

Los compuestos de la fórmula 10, en donde G_1 es CR_3 , y en donde todos los demás grupos G son N, también se pueden preparar procediendo como en el siguiente Esquema de Reacción 4:

10

Esquema de Reacción 4

15



20

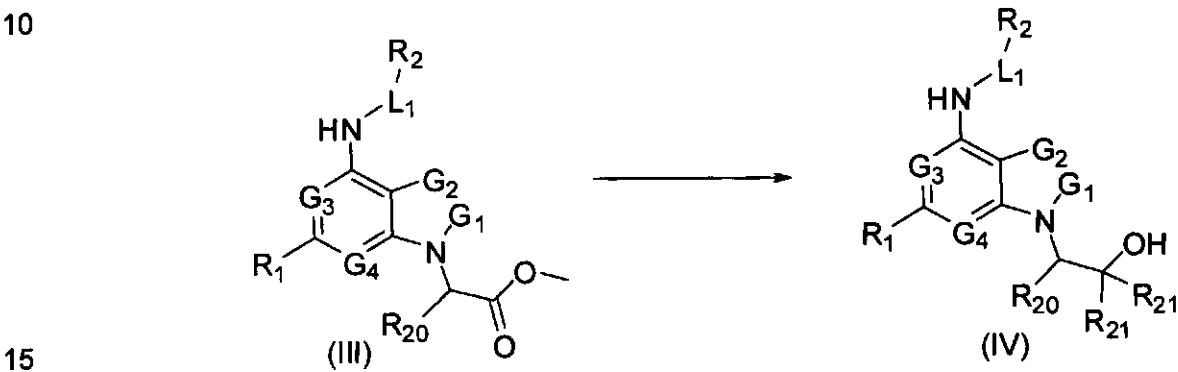
25

en donde R_3 y R_4 son como se definen para la fórmula I en la Breve Descripción de la Invención. Los compuestos de la fórmula 10 se pueden preparar de acuerdo con los procedimientos descritos en J. Med. Chem, 1972, 456, y J. Med. Chem., 1992, 4180. un compuesto de orto-éster de la fórmula 21 se hace reaccionar con un compuesto de la fórmula 22, opcionalmente en la presencia de un ácido tal como ácido acético, a una temperatura desde aproximadamente la temperatura ambiente hasta aproximadamente 150°C, durante aproximadamente 1 a aproximadamente 24 horas. Un

compuesto de la fórmula 22 se pueden preparar a su vez mediante la
reacción de un compuesto de la fórmula 23 con un compuesto de
amina primaria de la fórmula 24, opcionalmente en la presencia de
un ácido tal como pTSA, o de una base tal como trietil-amina o DBU,
5 a una temperatura de aproximadamente 50°C a aproximadamente
200°C.

Los compuestos de la fórmula IV se puede preparar como se
detalla en el siguiente Esquema de Reacción 5:

Esquema de Reacción 5



en donde G_1 , G_2 , G_3 , G_4 , R_1 y R_2 son como se definen para la
fórmula I en la Breve Descripción de la Invención, y L de la fórmula I
se define en el esquema de reacción como $-NH-L_1-$, el cual es
equivalente a, por ejemplo, $-NR_{5a}(CH_2)_{0-3}-$, en donde R_{5a} es
20 hidrógeno y $-(CH_2)_{0-3}-$ es L_1 . R_{20} y R_{21} se seleccionan
independientemente a partir de hidrógeno y alquilo de 1 a 4 átomos
de carbono. Un compuesto de la fórmula IV, en donde R_{21} es
hidrógeno, se puede preparar a partir de un compuesto de la fórmula
25 III, mediante el tratamiento con un agente reductor adecuado, tal

como hidruro de litio y aluminio o hidruro de di-isobutil-aluminio, en un solvente adecuado tal como tetrahidrofurano o tolueno, a una temperatura de aproximadamente -78°C a aproximadamente 50°C . La reacción toma de aproximadamente 0.5 a aproximadamente 16 horas para completarse. Un compuesto de la fórmula IV, en donde R_{21} es alquilo inferior, se puede preparar mediante el tratamiento de un compuesto de la fórmula III con un alquil-litio o reactivo de Grignard, en un solvente adecuado tal como éter o tetrahidrofurano, a una temperatura de aproximadamente -78°C a aproximadamente 50°C . La reacción toma de aproximadamente 0.5 a aproximadamente 16 horas para completarse.

Los ejemplos detallados de la síntesis de un compuesto de la fórmula I se pueden encontrar en los Ejemplos que se encuentran más adelante.

Procesos Adicionales para la Elaboración de los Compuestos de la Invención

Un compuesto de la invención se puede preparar como una sal de adición de ácido farmacéuticamente aceptable mediante la reacción de la forma de base libre del compuesto con un ácido inorgánico u orgánico farmacéuticamente aceptable. De una manera alternativa, se puede preparar una sal de adición de base farmacéuticamente aceptable de un compuesto de la invención mediante la reacción de la forma del ácido libre del compuesto con una base inorgánica u orgánica farmacéuticamente aceptable. De una manera alternativa, las formas de sal de los compuestos de la

invención se pueden preparar utilizando sales de los materiales de partida o intermediarios.

Por ejemplo, las formas de sal del 4-(2-(2-(benzo-[b]-tiofen-3-il)-9-isopropil-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol (Ejemplo 1 que se encuentra más adelante) se sintetizaron como sigue:

Sal de mesilato: La base libre del 4-(2-(2-(benzo-[b]-tiofen-3-il)-9-isopropil-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol (0.60 gramos; 1.40 milimoles) se disuelve en 12 mililitros de acetona a 50°C. Se agrega por goteo ácido metan-sulfónico (0.137 gramos; 1.40 milimoles). La cristalización tiene lugar rápidamente. La suspensión blanca se deja enfriar durante aproximadamente 30 minutos con enfriamiento, a temperatura ambiente. La pasta acuosa se agita durante 18 horas a temperatura ambiente, y se filtra. El sólido se lava con acetona (6 mililitros) en tres porciones, y se seca primero durante aproximadamente 3 horas a 50°C / aproximadamente 10 mbar, y luego durante aproximadamente 16 horas a 80°C / aproximadamente 10 mbar. El material tiene un punto de fusión a aproximadamente 233°C con una entalpía de fusión de 98 J/g. El material producido exhibió una pérdida al secarse del 0.2 por ciento. La absorción de agua se estimó mediante termogravimetría después de exponerse a la humedad relativa (humedad relativa del 80 por ciento) durante 24 horas. Se observó una absorción de agua del 0.4 por ciento.

En otra modalidad, la invención proporciona un sal de mesilato del compuesto del Ejemplo 1. En una modalidad adicional, la invención proporciona la sal de mesilato del compuesto del Ejemplo

1, la cual comprende los siguientes picos de difracción en polvo de rayos-X (Ángulo 2-Teta °): 6.4, 6.7, 18.3, 18.6, 26.9; y la cual, en una modalidad adicional, comprende los siguientes picos de difracción en polvo de rayos-X (Ángulo 2-Teta °): 6.4, 6.7, 10.3, 12.9, 16.4, 18.3, 25.8, 26.5, 26.9.

En una modalidad todavía adicional, la invención proporciona la sal de mesilato del compuesto del Ejemplo 1 que tiene el patrón de difracción en polvo de rayos-X mostrado en la Figura 3 de la presente.

10 **Sal de tosilato:** La base libre del 4-(2-(2-(benzo-[b]-tiofen-3-il)-9-isopropil-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol (0.60 gramos; 1.40 milimoles) se disuelve en 12 mililitros de acetona a 50°C. Se agrega por goteo una solución de mono-hidrato de ácido para-toluen-sulfónico (0.271 gramos; 1.40 milimoles) en acetona (1.2 mililitros).
15 La solución se siembra a 50°C y la cristalización tiene lugar rápidamente. La suspensión se deja enfriar durante aproximadamente 30 minutos a temperatura ambiente, y se agita durante aproximadamente 18 horas. Después de la filtración, el sólido se lava con acetona (6 mililitros) en tres porciones, y se seca primero durante aproximadamente 3 horas a 50°C /
20 aproximadamente 10 mbar, y luego durante aproximadamente 16 horas a 80°C / aproximadamente 10 mbar. El material tiene un punto de fusión a aproximadamente 233°C con una entalpía de fusión de 88 J/g. El material producido exhibió una pérdida al secarse del 0.2
25 por ciento. La absorción de agua se estimó mediante

termogravimetría después de exponerse a la humedad relativa (humedad relativa del 80 por ciento) durante 24 horas. Se observó una absorción de agua del 0.4 por ciento.

En otra modalidad, la invención proporciona una sal de tosilato del compuesto del Ejemplo 1. En una modalidad adicional, la invención proporciona la sal de tosilato del compuesto del Ejemplo 1, la cual comprende los siguientes picos de difracción en polvo de rayos-X (Ángulo 2-Teta °): 6.2, 13.3, 16.7, 19.5, 25.4; y la cual, en una modalidad adicional, comprende los siguientes picos de difracción en polvo de rayos-X: 6.2, 7.6, 12.4, 13.3, 15.1, 16.7, 17.7, 19.5, 20.2, 24.6, 24.9, 25.4, 25.6.

En una modalidad todavía adicional, la invención proporciona la sal de tosilato del compuesto del Ejemplo 1, que tiene el patrón de difracción en polvo de rayos-X mostrado en la Figura 4 de la presente.

Sal de sulfato: La base libre del 4-(2-(2-(benzo-[b]-tiofen-3-il)-9-isopropil-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol (0.60 gramos; 1.40 milimoles) se disuelve en 10 mililitros de acetona y 1 mililitro de agua a aproximadamente 55°C. Se agrega por goteo una solución de ácido sulfúrico (0.280 gramos; 2.79 milimoles) en 1 mililitro de acetona. La cristalización tiene lugar rápidamente. La suspensión se deja enfriar durante aproximadamente 30 minutos con enfriamiento, a temperatura ambiente, se agita durante aproximadamente 18 horas y se filtra. La torta del filtro se lava con 6 mililitros de acetona en tres porciones, y se seca primero durante aproximadamente 3 horas

a 50°C / aproximadamente 10 mbar, y luego durante aproximadamente 16 horas a 80°C / aproximadamente 10 mbar. El material tiene un punto de fusión a aproximadamente 224°C con una entalpía de fusión de 91 J/g. El material producido exhibió una
5 pérdida al secarse debajo del 0.05 por ciento. La absorción de agua se estimó mediante termogravimetría después de exponerse a la humedad relativa (humedad relativa del 80 por ciento) durante 24 horas. Se observó una absorción de agua del 0.2 por ciento.

En otra modalidad, la invención proporciona una sal de sulfato
10 del compuesto del Ejemplo 1. En una modalidad adicional, la invención proporciona la sal de sulfato del compuesto del Ejemplo 1, la cual comprende los siguientes picos de difracción en polvo de rayos-X (Ángulo 2-Teta °): 6.5, 6.8, 10.7, 13.5, 26.4, 27.6; y la cual, en una modalidad adicional, comprende los siguientes picos de
15 difracción en polvo de rayos-X (Ángulo 2-Teta °): 6.5, 6.8, 10.7, 13.1, 13.5, 18.6, 18.8, 20.8, 26.4, 27.1, 27.6.

En una modalidad todavía adicional, la invención proporciona la sal de sulfato del compuesto del Ejemplo 1, que tiene el patrón de difracción en polvo de rayos-X mostrado en la Figura 6 de la
20 presente.

Sal de esilato: La base libre del 4-(2-(2-(benzo-[b]-tiofen-3-il)-9-isopropil-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol (0.60 gramos; 1.40 milimoles) se disuelve en 12 mililitros de acetona a 50°C. Se agrega por goteo ácido etan-sulfónico (0.155 gramos; 1.40 milimoles). La
25 cristalización tiene lugar rápidamente. La suspensión blanca

resultante se deja enfriar durante aproximadamente 30 minutos a temperatura ambiente. La suspensión se agita durante aproximadamente 18 horas a temperatura ambiente, y se filtra. El sólido se lava con 6 mililitros de acetona en tres porciones, y se
5 seca primero durante aproximadamente 3 horas a 50°C / aproximadamente 10 mbar, y luego durante aproximadamente 16 horas a 80°C / aproximadamente 10 mbar. El material tiene un punto de fusión a aproximadamente 231°C con una entalpía de fusión de 76 J/g. El material producido exhibió una pérdida al secarse del 0.6
10 por ciento. La absorción de agua se estimó mediante termogravimetría después de exponerse a la humedad relativa (humedad relativa del 80 por ciento) durante 24 horas. Se observó una absorción de agua del 0.05 por ciento.

En otra modalidad, la invención proporciona una sal de esilato
15 del compuesto del Ejemplo 1. En una modalidad adicional, la invención proporciona la sal de esilato del compuesto del Ejemplo 1, la cual comprende los siguientes picos de difracción en polvo de rayos-X (Ángulo 2-Teta °): 6.3, 9.9, 18.4, 25.3, 26.1; y la cual, en una modalidad adicional, comprende los siguientes picos de
20 difracción en polvo de rayos-X (Ángulo 2-Teta °): 6.3, 9.9, 17.1, 17.9, 18.4, 19.0, 22.0, 25.3, 26.1, 27.1.

En una modalidad todavía adicional, la invención proporciona la sal de esilato del compuesto del Ejemplo 1, que tiene el patrón de difracción en polvo de rayos-X mostrado en la Figura 8 de la
25 presente.

Sal de bromhidrato: La base libre del 4-(2-(2-(benzo-[b]-tiofen-3-il)-9-isopropil-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol (0.60 gramos; 1.40 milimoles) se disuelve en 6 mililitros de dimetil-formamida a 65°C. Se agrega por goteo ácido bromhídrico al 48 por ciento (0.235
5 gramos; 1.40 milimoles). La solución se deja enfriar durante aproximadamente 30 minutos a temperatura ambiente. Se agrega la siembra a 55°C, y la cristalización tiene lugar lentamente. La suspensión se agita durante aproximadamente 18 horas a temperatura ambiente, y se filtra. El sólido se lava con 4 mililitros de
10 N,N-dimetil-formamida/agua, 1:1, y 6 mililitros de agua. La sal se seca primero durante aproximadamente 3 horas a 50°C / aproximadamente 10 mbar, y luego durante aproximadamente 16 horas a 80°C / aproximadamente 10 mbar. El material tiene un punto de fusión a aproximadamente 285°C con una entalpía de fusión de
15 119 J/g. El material producido exhibió una pérdida al secarse del 1.0 por ciento. La absorción de agua se estimó mediante termogravimetría después de exponerse a la humedad relativa (humedad relativa del 80 por ciento) durante 24 horas. No se observó absorción de agua.

20 En otra modalidad, la invención proporciona una sal de bromhidrato del compuesto del Ejemplo 1. En una modalidad adicional, la invención proporciona la sal de bromhidrato del compuesto del Ejemplo 1, la cual comprende los siguientes picos de difracción en polvo de rayos-X (Ángulo 2-Teta °): 7.0, 25.9, 26.8,
25 27.9; y la cual, en una modalidad adicional, comprende los

siguientes picos de difracción en polvo de rayos-X (Ángulo 2-Teta °):
7.0, 11.4, 13.3, 21.4, 23.4, 25.9, 26.4, 26.8, 27.9.

En una modalidad todavía adicional, la invención proporciona la sal de bromhidrato del compuesto del Ejemplo 1, que tiene el patrón de difracción en polvo de rayos-X mostrado en la Figura 9 de la presente.

Sal de orotato: La base libre del 4-(2-(2-(benzo-[b]-tiofen-3-il)-9-isopropil-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol (0.60 gramos; 1.40 milimoles), y el ácido orótico (0.222 gramos; 1.40 milimoles) se disuelven en 7.8 mililitros de NMP (1-metil-2-pirrolidona) a 85°C. La solución se enfría a 60°C, y se agregan por goteo 6 mililitros de agua durante aproximadamente 5 minutos. La suspensión blanca resultante se deja enfriar durante aproximadamente 30 minutos a temperatura ambiente, y se agita durante 18 horas. Después de la filtración, la torta del filtro se lava con 4 mililitros de NMP/agua, 1:1, en dos porciones, y 6 mililitros de agua en tres porciones. El sólido se seca primero durante aproximadamente 3 horas a 50°C / aproximadamente 10 mbar, y luego durante aproximadamente 16 horas a 80°C / aproximadamente 10 mbar. El material tiene un punto de fusión a aproximadamente 240°C con una entalpía de fusión de 130 J/g. El material producido exhibió una pérdida al secarse debajo del 0.05 por ciento. La absorción de agua se estimó mediante termogravimetría después de exponerse a la humedad relativa (humedad relativa del 80 por ciento) durante 24 horas. Se observó una absorción de agua del 1.7 por ciento.

En otra modalidad, la invención proporciona una sal de orotato del compuesto del Ejemplo 1. En una modalidad adicional, la invención proporciona la sal de orotato del compuesto del Ejemplo 1, la cual comprende los siguientes picos de difracción en polvo de rayos-X (Ángulo 2-Teta °): 7.1, 16.3, 19.2, 23.5, 25.6, 26.9; y la cual, en una modalidad adicional, comprende los siguientes picos de difracción en polvo de rayos-X (Ángulo 2-Teta °): 7.1, 14.4, 16.3, 18.6, 19.2, 21.7, 23.0, 23.5, 25.6, 26.9, 28.7.

En una modalidad todavía adicional, la invención proporciona la sal de orotato del compuesto del Ejemplo 1, que tiene el patrón de difracción en polvo de rayos-X mostrado en la Figura 10 de la presente.

Sal de hemi-fumarato: La base libre del 4-(2-(2-(benzo-[b]-tiofen-3-il)-9-isopropil-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol (0.60 gramos; 1.40 milimoles) se disuelve en 18 mililitros de metanol a 65°C. Se agregan ácido fumárico (0.164 gramos; 1.40 milimoles), y 6 mililitros de metanol. La solución se deja enfriar durante aproximadamente 30 minutos a temperatura ambiente. Se agregan algunos cristales de siembra a 60°C, y la cristalización tiene lugar lentamente. La suspensión se agita durante 18 horas a temperatura ambiente, y se filtra. El sólido se lava con 6 mililitros de metanol en tres porciones, y se seca primero durante aproximadamente 3 horas a 50°C / aproximadamente 10 mbar, y luego durante aproximadamente 16 horas a 80°C / aproximadamente 10 mbar. El material tiene un punto de fusión a aproximadamente 232°C con una

entalpía de fusión de 83 J/g. El material producido exhibió una pérdida al secarse debajo del 0.05 por ciento. La absorción de agua se estimó mediante termogravimetría después de exponerse a la humedad relativa (humedad relativa del 80 por ciento) durante 24 horas. Se observó una absorción de agua del 0.3 por ciento.

En otra modalidad, la invención proporciona una sal de hemi-fumarato del compuesto del Ejemplo 1. En una modalidad adicional, la invención proporciona la sal de hemi-fumarato del compuesto del Ejemplo 1, la cual comprende los siguientes picos de difracción en polvo de rayos-X (Ángulo 2-Teta °): 7.2, 8.7, 14.4, 15.8, 17.4, 19.0, 23.7; y la cual, en una modalidad adicional, comprende los siguientes picos de difracción en polvo de rayos-X (Ángulo 2-Teta °): 7.2, 8.7, 10.8, 14.4, 15.8, 17.4, 17.8, 19.0, 20.1, 23.7, 27.5.

En una modalidad todavía adicional, la invención proporciona la sal de hemi-fumarato del compuesto del Ejemplo 1, que tiene el patrón de difracción en polvo de rayos-X mostrado en la Figura 11 de la presente.

Sal de besilato: La base libre del 4-(2-(2-(benzo-[b]-tiofen-3-il)-9-isopropil-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol (0.60 gramos; 1.40 milimoles) se disuelve en 12 mililitros de acetona a 50°C. Se agrega por goteo una solución del ácido bencen-sulfónico (0.225 gramos; 2.79 milimoles) en 1.2 mililitros de acetona. Se agregan cristales de siembra a 48°C, y la cristalización tiene lugar lentamente. La suspensión se deja enfriar durante aproximadamente 30 minutos a temperatura ambiente. La pasta acuosa se agita durante

aproximadamente 18 horas a temperatura ambiente, y se filtra. La sal se lava con 6 mililitros de acetona en tres porciones, y se seca primero durante aproximadamente 3 horas a 50°C / aproximadamente 10 mbar, y luego durante aproximadamente 16 horas a 80°C / aproximadamente 10 mbar. El material tiene un punto de fusión a aproximadamente 219°C con una entalpía de fusión de 92 J/g. El material producido exhibió una pérdida al secarse del 0.3 por ciento. La absorción de agua se estimó mediante termogravimetría después de exponerse a la humedad relativa (humedad relativa del 80 por ciento) durante 24 horas. Se observó una absorción de agua de aproximadamente el 0.05 por ciento.

En otra modalidad, la invención proporciona una sal de besilato del compuesto del Ejemplo 1. En una modalidad adicional, la invención proporciona la sal de besilato del compuesto del Ejemplo 1, la cual comprende los siguientes picos de difracción en polvo de rayos-X (Ángulo 2-Teta °): 6.2, 7.7, 17.7, 25.5; y la cual, en una modalidad adicional, comprende los siguientes picos de difracción en polvo de rayos-X (Ángulo 2-Teta °): 6.2, 7.7, 15.2, 16.7, 17.1, 17.7, 19.8, 20.2, 24.9, 25.2, 25.5.

En una modalidad todavía adicional, la invención proporciona la sal de besilato del compuesto del Ejemplo 1, que tiene el patrón de difracción en polvo de rayos-X mostrado en la Figura 7 de la presente.

Sal de napadisilato: La base libre del 4-(2-(2-(benzo-[b]-tiofen-3-il)-9-isopropil-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol (0.60 gramos;

1.40 milimoles), y 0.259 gramos de ácido 1,5-naftalen-disulfónico (0.70 milimoles) se disuelven en 9 mililitros de dimetil-formamida a 87°C. La solución transparente se deja enfriar durante aproximadamente 30 minutos a temperatura ambiente. Se agrega la siembra a 65°C, y la cristalización tiene lugar lentamente. La suspensión se agita durante aproximadamente 18 horas a temperatura ambiente, y se filtra. El sólido se lava con 4 mililitros de N,N-dimetil-formamida/agua, 1:1, en dos porciones, y 6 mililitros de agua en tres porciones. La sal se seca primero durante aproximadamente 3 horas a 50°C / aproximadamente 10 mbar, y luego durante aproximadamente 16 horas a 80°C / aproximadamente 10 mbar. El material tiene un punto de fusión a aproximadamente 304°C con una entalpía de fusión de 83 J/g. Se observa un fenómeno endotérmico amplio a 107°C que se podría atribuir a la pérdida de agua. El material producido exhibió una pérdida al secarse del 6.1 por ciento. La absorción de agua se estimó mediante termogravimetría después de exponerse a la humedad relativa (humedad relativa del 80 por ciento) durante 24 horas. Se observó una absorción de agua menor del 0.05 por ciento.

En otra modalidad, la invención proporciona una sal de napadisilato del compuesto del Ejemplo 1. En una modalidad adicional, la invención proporciona la sal de napadisilato del compuesto del Ejemplo 1, la cual comprende los siguientes picos de difracción en polvo de rayos-X (Ángulo 2-Teta °): 6.4, 9.6, 13.1, 15.7, 16.1, 26.0; y la cual, en una modalidad adicional, comprende

los siguientes picos de difracción en polvo de rayos-X (Ángulo 2-Teta °): 9.6, 13.1, 15.7, 16.1, 16.4, 20.4, 20.9, 23.7, 26.0, 26.9.

En una modalidad todavía adicional, la invención proporciona la sal de napadisilato del compuesto del Ejemplo 1, que tiene el patrón de difracción en polvo de rayos-X mostrado en la Figura 12 de la presente.

Sal de clorhidrato: La base libre del 4-(2-(2-(benzo-[b]-tiofen-3-il)-9-isopropil-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol (0.60 gramos; 1.40 milimoles) se disuelve en 12 mililitros de acetona a 55°C. Se agrega por goteo ácido clorhídrico al 37 por ciento (0.138 gramos; 1.40 milimoles). La cristalización tiene lugar rápidamente. La suspensión blanca se deja enfriar durante aproximadamente 30 minutos a temperatura ambiente, y se agita durante 18 horas. Después de la filtración, el sólido se lava con 6 mililitros de acetona en tres porciones, y se seca primero durante aproximadamente 3 horas a 50°C / aproximadamente 10 mbar, y luego durante aproximadamente 16 horas a 80°C / aproximadamente 10 mbar. El material exhibe un evento exotérmico a aproximadamente 162°C con una entalpía de -13.8 J/g. Este fenómeno se podría atribuir a una transformación sólida hasta una modificación más estable. Entonces se ve un evento endotérmico a aproximadamente 259°C con una entalpía de 99.7 J/g. El material producido exhibió una pérdida al secarse del 0.6 por ciento. La absorción de agua se estimó mediante termogravimetría después de exponerse a la humedad relativa (humedad relativa del 80 por ciento) durante 24 horas. Se observó

una absorción de agua del 0.3 por ciento.

En otra modalidad, la invención proporciona una sal de clorhidrato del compuesto del Ejemplo 1. En una modalidad adicional, la invención proporciona la sal de clorhidrato del compuesto del Ejemplo 1, la cual comprende los siguientes picos de difracción en polvo de rayos-X (Ángulo 2-Teta °): 6.1, 7.0, 19.8, 26.1; y la cual, en una modalidad adicional, comprende los siguientes picos de difracción en polvo de rayos-X (Ángulo 2-Teta °): 6.1, 7.0, 18.1, 19.8, 24.7, 26.1, 27.0, 27.7.

En una modalidad todavía adicional, la invención proporciona la sal de clorhidrato del compuesto del Ejemplo 1, que tiene el patrón de difracción en polvo de rayos-X mostrado en la Figura 5 de la presente.

Las formas del ácido libre o de base libre de los compuestos de la invención se pueden preparar a partir de la forma de sal de adición de base o de sal de adición de ácido correspondiente, respectivamente. Por ejemplo un compuesto de la invención en una forma de sal de adición de ácido se puede convertir hasta la base libre correspondiente mediante el tratamiento con una base adecuada (por ejemplo, solución de hidróxido de amonio, hidróxido de sodio, y similares). Un compuesto de la invención en una forma de sal de adición de base se puede convertir hasta el ácido libre correspondiente mediante el tratamiento con un ácido adecuado (por ejemplo, ácido clorhídrico, etc.). La sal de nitrato del compuesto del Ejemplo 1 se puede hacer empleando los métodos conocidos por la

persona experta. El patrón de difracción en polvo de rayos-X se da a conocer en La Figura 2 de la presente.

Los compuestos de la invención en una forma no oxidada, se pueden preparar a partir de los N-óxidos de los compuestos de la invención, mediante el tratamiento con un agente reductor (por ejemplo, azufre, dióxido de azufre, trifenil-fosfina, borohidruro de litio, borohidruro de sodio, tricloruro de fósforo, tribromuro, o similares), en un solvente orgánico inerte adecuado (por ejemplo, acetonitrilo, etanol, dioxano acuoso, o similares) de 0°C a 80°C.

Los derivados de pro-fármaco de los compuestos de la invención se pueden preparar mediante los métodos conocidos por aquéllos de una experiencia ordinaria en la materia (por ejemplo, para mayores detalles, véase Saulnier y colaboradores (1994), Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters, Volumen 4, página 1985). Por ejemplo, los pro-fármacos apropiados se pueden preparar mediante la reacción de un compuesto no derivado de la invención con un agente carbamilante adecuado (por ejemplo, 1,1-aciloxi-alquil-carbano-cloridato, carbonato de para-nitro-fenilo, o similares).

Los derivados protegidos de los compuestos de la invención se pueden hacer por medios conocidos por aquéllos de una experiencia ordinaria en este campo. Se puede encontrar una descripción detallada de las técnicas aplicables a la creación de los grupos protectores y su remoción en T. W. Greene, "Protecting Groups in Organic Chemistry", 3ª Edición, John Wiley and Sons, Inc., 1999.

Los compuestos de la presente invención convenientemente se

pueden preparar o formar durante el proceso de la invención, como solvatos (por ejemplo, hidratos). Los hidratos de los compuestos de la presente invención convenientemente se pueden preparar mediante recristalización a partir de una mezcla de solventes acuosos/orgánicos, utilizando solventes orgánicos, tales como dioxina, tetrahidrofurano o metanol.

Los compuestos de la invención se pueden preparar como sus estereoisómeros individuales mediante la reacción de una mezcla racémica del compuesto con un agente de resolución ópticamente activo para formar un par de compuestos diaestereoisoméricos, se separan los diaestereómeros, y se recuperan los enantiómeros ópticamente puros. Aunque la resolución de los enantiómeros se puede llevar a cabo utilizando derivados diaestereoméricos covalentes de los compuestos de la invención, se prefieren los complejos disociables (por ejemplo, sales diaestereoméricas cristalinas). Los diaestereómeros tienen distintas propiedades físicas (por ejemplo, puntos de fusión, puntos de ebullición, solubilidades, reactividad, etc.), y se pueden separar fácilmente aprovechando estas diferencias. Los diaestereómeros se pueden separar mediante cromatografía, o de preferencia, mediante técnicas de separación/resolución, basándose en las diferencias en la solubilidad. Entonces se recupera el enantiómero ópticamente puro, junto con el agente de resolución, por cualquier medio práctico que no dé como resultado la racemización. Se puede encontrar una descripción más detallada de las técnicas aplicables a la resolución

de estereoisómeros de los compuestos a partir de su mezcla racémica en Jean Jacques, Andre Collet, Samuel H. Wilen, "Enantiomers, Racemates and Resolutions", John Wiley and Sons, Inc., 1981. Los compuestos de la invención también se pueden
5 preparar como sus estereoisómeros individuales empleando técnicas de cromatografía quiral, en particular, mediante el uso de cromatografía HPLC o SFC utilizando una fase estacionaria quiral.

Los espectros de difracción en polvo de rayos-X abarcados en la presente se obtuvieron utilizando el instrumento Bruker D8 Vario
10 en geometría de transmisión, irradiación de CuK α (30 kV, 40 mA), rango de exploración de 2° a 40° (valor 2 Teta), tiempo de pasos de 90.3 s. La calorimetría de exploración diferencial (DSC) del material amorfo del Ejemplo 1 se llevó a cabo utilizando el instrumento Perkin Elmer DSC7 a una velocidad de calentamiento de
15 40°C/minuto.

En resumen, los compuestos de la fórmula I se pueden elaborar mediante un proceso que involucra:

- (a) aquéllos de los esquemas de reacción 1 a 5; y
- (b) opcionalmente convertir un compuesto de la invención en
20 una sal farmacéuticamente aceptable;
- (c) opcionalmente convertir una forma de sal de un compuesto de la invención hasta una forma no de sal;
- (d) opcionalmente convertir una forma no oxidada de un compuesto de la invención hasta un N-óxido farmacéuticamente
25 aceptable;

(e) opcionalmente convertir una forma de N-óxido de un compuesto de la invención hasta su forma no oxidada;

(f) opcionalmente resolver un isómero individual de un compuesto de la invención a partir de una mezcla de isómeros;

5 (g) opcionalmente convertir un compuesto no derivado de la invención hasta un derivado de pro-fármaco farmacéuticamente aceptable; y

(h) opcionalmente convertir un derivado de pro-fármaco de un compuesto de la invención hasta su forma no derivada.

10 Hasta donde no se describa particularmente la producción de los materiales de partida, los compuestos son conocidos o se pueden preparar de una manera análoga a los métodos conocidos en la técnica, o como se da a conocer en los Ejemplos posteriormente en la presente.

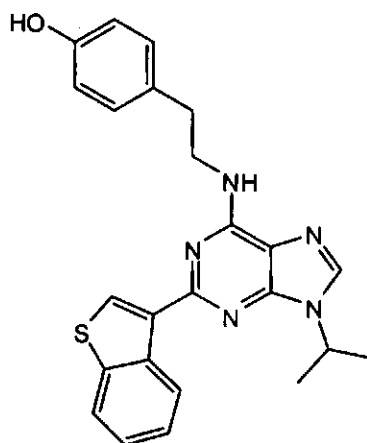
15 Un experto en la materia apreciará que las transformaciones anteriores son solamente representativas de los métodos para la preparación de los compuestos de la presente invención, y que se pueden emplear similarmente otros métodos bien conocidos.

20

EJEMPLOS

La presente invención además se ejemplifica, pero no se limita, mediante los siguientes ejemplos que ilustran la preparación de los compuestos de la fórmula I (Ejemplos) de acuerdo con la invención.

25

Ejemplo 1**4-(2-(2-(benzo-[b]-tiofen-3-il)-9-isopropil-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol****Síntesis de 2,6-dicloro-9-isopropil-9H-purina (b):**

A la 2,6-dicloro-9H-purina (a) (6.0 milimoles) disuelta en N,N-dimetil-formamida anhidra (5.0 mililitros) se le agregó lentamente hidruro de sodio (7.8 milimoles) con agitación a temperatura ambiente durante 2 horas. Se agregó 2-yodo-propano, y la mezcla se agitó durante 16 horas. La mezcla se concentró. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna sobre gel de sílice, eluyendo con hexano/EtOAc (20:1 a 3:1), para proporcionar el compuesto del título como un sólido blanco. ¹H RMN (500 MHz, CDCl₃): δ 8.15 (s, 1H), 4.91 (m, 1H), 1.63 (d, 6H).

Síntesis de 4-(2-(2-cloro-9-isopropil-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol (c):

La 2,6-dicloro-9-isopropil-9H-purina (1.1 milimoles) se mezcló con tiramina (1.16 milimoles) disuelta en i-PrOH (6 mililitros), y la

mezcla se agitó durante la noche. La mezcla de reacción se concentró, y el residuo se purificó mediante cromatografía en columna sobre gel de sílice, eluyendo con hexano/EtOAc (de 5:1 a 1:2), para proporcionar el compuesto del título como un sólido blanco. ¹H RMN (500 MHz, CDCl₃): δ 9.21 (br, 1H), 8.49 (s, 1H), 7.80 (s, 1H), 7.10 (d, 2H), 6.73 (d, 2H), 4.87 (m, 1H), 4.03 (t, 2H), 3.01 (t, 2H), 1.68 (d, 6H); HRMS (EI) calculado para C₁₆H₁₈ClN₅O (M + H⁺) 332.1273, encontrado 332.1278.

Síntesis de 4-(2-(2-(benzo-[b]-tiofen-3-il)-9-isopropil-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol (d):

Un matraz Schlenk secado en flama se cargó con 4-(2-(2-cloro-9-isopropil-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol (0.62 milimoles), ácido tianaften-3-borónico (0.94 milimoles), Pd₂(dba)₃ (0.062 milimoles), Cs₂CO₃ (1.25 milimoles), y cloruro de 1,3-bis-(2,4,6-trimetil-fenil)-imidazolio (0.125 milimoles). El matraz se evacuó y se volvió a llenar con N₂, y se agregó 1,4-dioxano anhidro (2 mililitros). El matraz se selló y la mezcla de reacción se agitó a 80°C durante 24 horas. La mezcla de reacción se concentró y se purificó directamente mediante cromatografía en columna sobre gel de sílice, eluyendo con hexano/EtOAc (de 20:1 a 1:4), para proporcionar el compuesto del título como un sólido amarillento.

De una manera alternativa, la síntesis del Ejemplo 1 se puede llevar a cabo como sigue:

Síntesis de 2-(benzo-[b]-tiofen-3-il)-6-cloro-9-isopropil-9H-purina

(b):

Un matraz de fondo redondo se cargó con 6-cloro-2-yodo-9-isopropil-9H-purina (preparada en el Ejemplo 15c, 3.31 gramos, 0.0103 moles), ácido benzo-[b]-tiofen-3-il-borónico (2.74 gramos, 0.0154 moles), y tetraquis-(trifenil-fosfina)-paladio(0) (1.19 gramos, 0.0103 moles). A esta mezcla se le agregaron tolueno (80 mililitros), etanol (25 mililitros), y una solución acuosa de carbonato de sodio (2M, 21 mililitros). El matraz se selló, y la mezcla de reacción se agitó a 90°C durante 1 hora. Se agregó agua a la mezcla enfriada, la cual se extrajo con acetato de etilo. Las fracciones orgánicas se combinaron, se secaron sobre sulfato de sodio, y se concentraron. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna sobre gel de sílice, eluyendo con el 20 al 50 por ciento de EtOAc en hexano, para proporcionar el compuesto del título como un sólido, el cual se recrystalizó a partir de 1:1 de metanol/agua. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆): δ = 9.15 (d, 1H), 8.85 (s, 2H), 8.17 (d, 1H), 7.62 (t, 1H), 7.53 (t, 1H), 5.06 (m, 1H), 1.71 (d, 6H); MS *m/z* 329.0 (M + 1).

Síntesis de 4-(2-(2-(benzo-[b]-tiofen-3-il)-9-isopropil-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol (c):

La 2-(benzo-[b]-tiofen-3-il)-6-cloro-9-isopropil-9H-purina (2.2 gramos, 0.0067 moles) se suspendió en 2-propanol anhidro (70 mililitros) en un tubo de presión. Se agregó tiramina (1.01 gramos, 0.0074 moles). El tubo se selló y se calentó a 85°C durante 16 horas. Se agregó tiramina adicional (0.50 gramos, 0.0037 moles), y la mezcla se calentó a 85°C durante 48 horas. La reacción se

concentró. Al residuo se le agregó una solución acuosa de bicarbonato de sodio, la cual se extrajo con EtOAc. Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron, y se concentraron. El residuo se purificó mediante
5 cromatografía en columna sobre gel de sílice, eluyendo con el 50 al 85 por ciento de EtOAc en hexano, para proporcionar un sólido. El sólido se trituró con metanol, para proporcionar el compuesto del título como un sólido grisáceo.

De una manera alternativa, la síntesis del Ejemplo 1 se puede
10 llevar a cabo como sigue:

Síntesis de 2,6-dicloro-9-isopropil-9*H*-purina (b):

A la 2,6-dicloro-9*H*-purina (a) (998 gramos, 5.28 moles) disuelta en N,N-dimetil-formamida anhidra (5.0 L), se le agregó hidruro de sodio (dispersión al 60 por ciento, 254 gramos, 6.35
15 moles) con agitación a 10°C durante 1 hora. Se agregó 2-yodo-propano (1,595 gramos), y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 24 horas. Se agregó agua (5.0 litros), y el sólido resultante precipitado se recolectó y se lavó con agua (500 mililitros), y heptano (2.5 litros, 2 veces). El sólido crudo se
20 cristalizó a partir de acetato de isopropilo (2.1 litros), para proporcionar el compuesto del título como un sólido.

Síntesis de 4-(2-(2-cloro-9-isopropil-9*H*-purin-6-il-amino)-etil)-fenol (c):

La 2,6-dicloro-9-isopropil-9*H*-purina (500 gramos) se agregó en
25 porciones a una mezcla agitada de tiramina (593 gramos), trietil-

amina (262 gramos), e i-PrOH (5.0 litros) a 50°C. La mezcla se agitó a esa temperatura durante 4 horas, y entonces la mezcla de reacción se concentró. El residuo se absorbió en acetato de isopropilo (6.0 litros), y se lavó con una solución de ácido cítrico al 20 por ciento (2.0 litros), y agua (2.0 litros). La capa orgánica se concentró a sequedad, entonces se absorbió en etanol (2.0 litros), y nuevamente se concentró a sequedad. El sólido crudo se cristalizó a partir de etanol (3.2 litros), para proporcionar el compuesto del título como un sólido.

10 **Síntesis de 4-(2-(2-(benzo-[b]-tiofen-3-il)-9-isopropil-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol (d):**

Una mezcla de 4-(2-(2-cloro-9-isopropil-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol (950 gramos), ácido tianaften-3-borónico (561 gramos), dicloro-bis-(trifenil-fosfina)-paladio(II) (10.1 gramos), carbonato de potasio (791 gramos), agua (3.25 litros), y DMA (3.25 litros), se agitó bajo una atmósfera de nitrógeno durante 10 minutos. La mezcla agitada entonces se calentó a 70°C durante 14 horas. Se agregaron acetato de etilo (6.5 litros) y agua (3.25 litros), y la mezcla se filtró a través de Celite (125 gramos) a 50°C, enjuagando con acetato de etilo (1.0 litros). Las capas se separaron, y la capa acuosa se extrajo a 50°C con acetato de etilo adicional (7.5 litros). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua (2.5 litros, 3 veces), entonces se destilaron para remover aproximadamente 2.5 litros de solvente. Se agregaron tetrahidrofurano (2.5 litros) y gel de tío-sílice enlazado con sílice (200 gramos). La mezcla se agitó a

70°C durante 16 horas, entonces se filtró, lavando el cojín con acetato de etilo (1.0 litros). Los filtrados combinados se concentraron a presión atmosférica hasta un volumen de aproximadamente 5 litros, y entonces la mezcla se dejó enfriar. El sólido resultante se recolectó y se lavó con acetato de etilo (1.0 litros, 2 veces), para proporcionar el compuesto del título.

El compuesto del Ejemplo 1 se puede recrystalizar utilizando una mezcla de tolueno/etanol y se lava a temperatura ambiente con una solución acuosa de NaHCO_3 .

En otra modalidad, la invención proporciona un compuesto del Ejemplo 1 en la forma de la modificación de cristal A, en donde la modificación A comprende los siguientes picos de difracción en polvo de rayos-X (Ángulo 2-Teta °): 12.1, 16.9, 18.9, 21.3; y la cual, en una modalidad adicional, comprende los siguientes picos de difracción en polvo de rayos-X (Ángulo 2-Teta °): 12.1, 15.9, 16.9, 17.3, 18.9, 21.3, 22.1, 23.6, 24.4, 27.3.

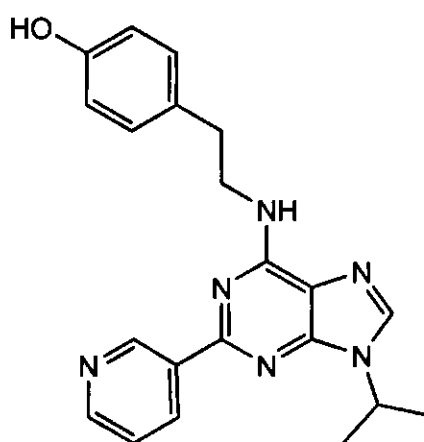
En una modalidad todavía adicional, la invención proporciona el compuesto del Ejemplo 1 como la modificación en forma sólida A, la cual comprende los siguientes picos de difracción en polvo de rayos-X (Ángulo 2-Teta °): 9.0, 12.1, 13.0, 13.1, 13.6, 14.4, 14.7, 15.1, 15.9, 16.9, 17.3, 17.7, 18.0, 18.9, 19.0, 20.1, 21.3, 22.1, 22.3, 22.6, 22.8, 23.4, 23.6, 24.4, 25.3, 26.3, 26.5, 27.3, 27.8, 28.2, 29.5, 29.7, 30.4, 30.7, 31.0, 31.4, 32.2, 32.8, 33.3, 34.3, 35.5, 36.4, 37.5, 38.4, 39.0, 39.4.

El patrón de difracción en polvo de rayos-X del compuesto del

Ejemplo 1, modificación A, se muestra en la Figura 1 de la presente. El material amorfo del compuesto del Ejemplo 1 se produjo *in situ* en un crisol de DSC (calorimetría de exploración diferencial), mediante el calentamiento del compuesto hasta la fusión y el templado/ enfriamiento. Después del ciclo de enfriamiento, se pudo observar la transición de cristal, pero, después del ciclo de recalentamiento, se caracteriza mucho más a aproximadamente 70-75°C. El patrón de calorimetría de exploración diferencial se muestra en la Figura 13 de la presente.

Ejemplo 15

4-(2-(Piridin-3-il)-9-isopropil-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol



Síntesis de 2-amino-6-cloro-9-isopropil-9H-purina (b):

Se agregó hidruro de sodio (1.5 gramos de dispersión al 60 por ciento en aceite mineral, 38 milimoles) en porciones, durante 10 minutos, a una suspensión agitada de 2-amino-6-cloro-9H-purina (5.34 gramos, 31.5 milimoles) en N,N-dimetil-formamida anhidra (50

mililitros) a temperatura ambiente. Después de 45 minutos, la mezcla se enfrió en un baño de hielo, y entonces se agregó 2-yodo-
propano. El baño de enfriamiento se removió, y la mezcla agitada se
dejó calentar a temperatura ambiente durante 16 horas. La mezcla
5 se enfrió en hielo, y entonces se le agregó agua. La mezcla se
concentró, y el residuo se trató con acetato de etilo caliente. La
mezcla enfriada se filtró, y el filtrado se concentró. El residuo se
purificó mediante cromatografía en columna sobre gel de sílice,
eluyendo con el 0 al 50 por ciento de EtOAc en hexano, para
10 proporcionar el compuesto del título como un sólido. ^1H RMN (400
MHz, CDCl_3) δ 7.83(s, 1H), 5.17(s, 2H), 4.71-4.66(m, 1H), 1.57(d,
6H). MS m/z 212.1 ($M + 1$).

Síntesis de 6-cloro-2-yodo-9-isopropil-9H-purina (c):

La 6-cloro-9-isopropil-9H-purin-2-amina (2.68 gramos, 12.7
15 milimoles) se disolvió en tetrahidrofurano (64 mililitros) a
temperatura ambiente. Se agregaron yodo (1.61 gramos, 6.25
milimoles), CH_2I_2 (10.6 mililitros), y CuI (1.27 gramos, 6.66
milimoles). La mezcla se agitó durante 5 minutos a temperatura
ambiente. Se agregó nitrito de isopentilo (5.33 mililitros). La mezcla
20 de reacción se puso a reflujo durante 45 minutos, y entonces se
enfrió a temperatura ambiente. Se agregó una solución acuosa
saturada de bicarbonato de sodio, y la mezcla se extrajo con EtOAc
tres veces. La fase orgánica combinada se lavó con salmuera, se
secó con MgSO_4 y se concentró. El residuo se purificó mediante
25 cromatografía en columna sobre gel de sílice, eluyendo con el 0 al

30 por ciento de acetato de etilo en hexano, para proporcionar el compuesto del título como un sólido. ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ 8.09(s, 1H), 4.95-4.88(m, 1H), 1.65(d, 6H). MS m/z 323.0 ($M + 1$).

Síntesis de 6-cloro-2-(piridin-3-il)-9-isopropil-9H-purina (d):

5 Un matraz de fondo redondo se cargó con 6-cloro-2-yodo-9-isopropil-9H-purina (1.2 gramos, 3.7 milimoles), éster cíclico de 1,3-propanodiol del ácido piridin-3-borónico (0.91 gramos, 5.6 milimoles), y tetraquis-(trifenil-fosfina)-paladio(0) (430 miligramos, 0.37 milimoles). A esta mezcla se le agregaron tolueno (60
10 mililitros), etanol (6 mililitros), y una solución acuosa de carbonato de sodio (2M, 15 mililitros). El matraz se selló, y la mezcla de reacción se agitó a 80°C durante 4 horas. Se agregó agua a la mezcla enfriada, la cual se extrajo con acetato de etilo (50 mililitros, 3 veces). Las fracciones orgánicas se combinaron, se secaron sobre
15 sulfato de sodio, y se concentraron. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna sobre gel de sílice, eluyendo con el 30 al 70 por ciento de EtOAc en hexano, para proporcionar el compuesto del título como un sólido. ^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ 9.60(d, 1H), 8.90-8.87(m, 1H), 8.68(s, 1H), 8.67(d, 1H), 7.63-7.60(m, 1H), 5.12-
20 5.05(m, 1H), 1.74(d, 6H). MS m/z 274.1 ($M + 1$).

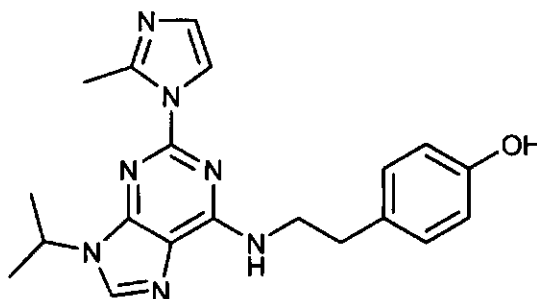
Síntesis de 4-(2-(piridin-3-il)-9-isopropil-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol (e):

La 6-cloro-9-isopropil-2-(piridin-3-il)-9H-purina (300 miligramos, 1.1 milimoles) se suspendió en 2-propanol anhidro (40
25 mililitros) en un tubo de presión. Se agregó tiramina (300

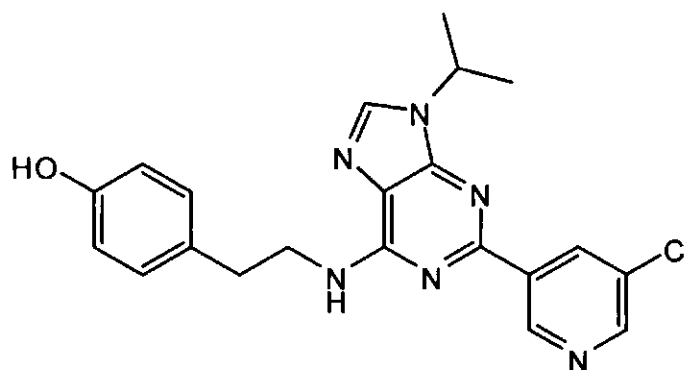
miligramos, 2.2 milimoles). El tubo se selló y se calentó a 85°C durante 16 horas. La reacción se concentró, y el residuo se purificó mediante cromatografía en columna sobre gel de sílice, eluyendo con el 0 al 70 por ciento de EtOAc en hexano, para proporcionar el compuesto del título como un sólido.

Ejemplo 123

4-(2-(9-isopropil-2-(2-metil-1H-imidazol-1-il)-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol



Un tubo de reacción de microondas se cargó con 4-(2-(2-cloro-9-isopropil-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol (30 miligramos, 0.091 milimoles), 2-metil-1H-imidazol (59 miligramos, 0.73 milimoles), y 0.5 mililitros de NMP. El tubo sellado se calentó bajo irradiación con microondas a 240°C durante 2 horas. La mezcla de reacción se purificó mediante HPLC de fase inversa (columna C₁₈, eluyendo con ACN-H₂O y ácido trifluoro-acético al 0.05 por ciento), para proporcionar el compuesto del título como un sólido grisáceo.

Ejemplo 128**4-(2-(2-(5-cloro-piridin-3-il)-9-isopropil-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol****Síntesis de 4-(2-(2-yodo-9-isopropil-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol (b):**

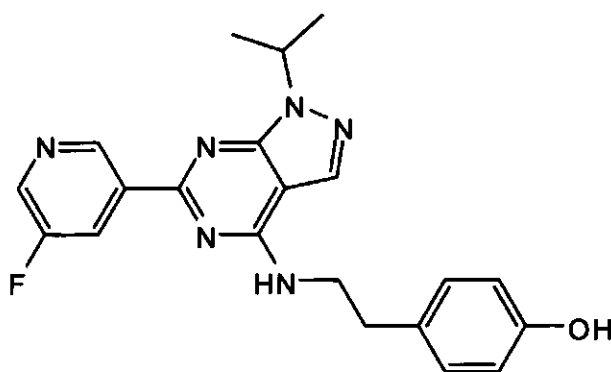
Una mezcla de 6-cloro-2-yodo-9-isopropil-9H-purina (a) (1.0
gramos, 3.1 milimoles), tiramina (0.64 gramos, 4.65 milimoles),
tri-etil-amina (0.63 gramos, 6.2 milimoles), y 2-propanol (30
mililitros), se calentó a 85°C durante 2 horas. La mezcla de reacción
se concentró, y se agregó una solución acuosa saturada de
bicarbonato de sodio. La mezcla se extrajo con acetato de etilo (50
mililitros, 3 veces). Las capas orgánicas combinadas se secaron
sobre sulfato de sodio, se filtraron, y se concentraron. El residuo se
purificó mediante cromatografía en columna sobre gel de sílice
(eluyente del 25 al 75 por ciento de acetato de etilo en hexano),
para proporcionar el compuesto del título como un sólido. MS m/z
424.1 (M + 1).

Síntesis de 4-(2-(2-(5-cloro-piridin-3-il)-9-isopropil-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol (c):

Siguiendo el procedimiento del Ejemplo 15d, el 4-(2-(2-yodo-9-isopropil-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol (b) se hizo reaccionar con ácido 5-cloro-piridin-3-il-borónico. El producto crudo se purificó mediante HPLC de fase inversa (columna C₁₈, eluyendo con ACN-H₂O y ácido trifluoro-acético al 0.05 por ciento), para proporcionar el compuesto del título como un sólido grisáceo.

Ejemplo 134

4-(2-(6-(5-fluoro-piridin-3-il)-1-isopropil-1H-pirazolo-[3,4-d]-pirimidin-4-il-amino)-etil)-fenol



Síntesis de 4-(2-(6-cloro-1-isopropil-1H-pirazolo-[3,4-d]-pirimidin-4-il-amino)-etil)-fenol (b):

Siguiendo el procedimiento del Ejemplo 128b, la 4,6-dicloro-1-isopropil-1H-pirazolo-[3,4-d]-pirimidina (Patente de los Estados Unidos de Norteamérica Número US 3,399,196) (a) (0.184 gramos, 0.795 milimoles) se hizo reaccionar con tiramina. El residuo crudo se

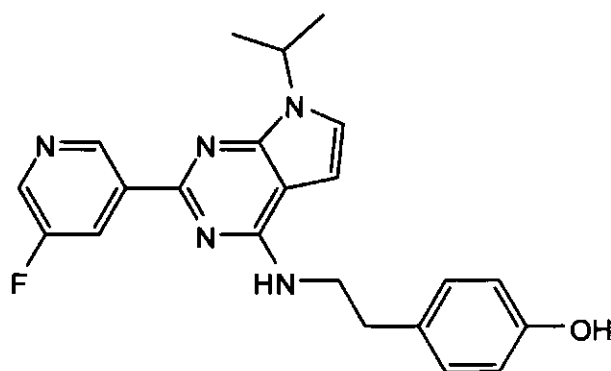
purificó mediante cromatografía en gel de sílice (eluyente del 25 al 75 por ciento de acetato de etilo en hexano), para proporcionar el compuesto del título como un sólido. MS m/z 332.1 ($M + 1$).

Síntesis de 4-(2-(6-(5-fluoro-piridin-3-il)-1-isopropil-1H-pirazolo-[3,4-d]-pirimidin-4-il-amino)-etil)-fenol (c):

Siguiendo el procedimiento del Ejemplo 15d, el 4-(2-(6-cloro-1-isopropil-1H-pirazolo-[3,4-d]-pirimidin-4-il-amino)-etil)-fenol (b) se hizo reaccionar con ácido 5-fluoro-piridin-3-il-borónico. El residuo crudo se purificó mediante HPLC de fase inversa (columna C_{18} , eluyendo con ACN- H_2O y ácido trifluoro-acético al 0.05 por ciento), para proporcionar el compuesto del título como un sólido grisáceo.

Ejemplo 141

4-(2-(2-(5-fluoro-piridin-3-il)-7-isopropil-7H-pirrolo-[2,3-d]-pirimidin-4-il-amino)-etil)-fenol



Síntesis de 2,4-dicloro-7-isopropil-7H-pirrolo-[2,3-d]-pirimidina (b):

Siguiendo el procedimiento del Ejemplo 15b, la 2,4-dicloro-7H-

pirrolo-[2,3-d]-pirimidina (0.5 gramos, 2.67 milimoles) se hizo reaccionar con 2-yodo-propano. El residuo crudo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (eluyente del 15 al 25 por ciento de acetato de etilo en hexano), para proporcionar el compuesto del título como un sólido. MS m/z 230.2 ($M + 1$).

Síntesis de 4-(2-(2-cloro-7-isopropil-7H-pirrolo-[2,3-d]-pirimidin-4-il-amino)-etil)-fenol (c):

Siguiendo el procedimiento del Ejemplo 128b, la 2,4-dicloro-7-isopropil-7H-pirrolo-[2,3-d]-pirimidina (b) (0.278 gramos, 1.21 milimoles) se hizo reaccionar con tiramina. El residuo crudo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (eluyente del 25 al 75 por ciento de acetato de etilo en hexano), para proporcionar el compuesto del título como un sólido. MS m/z 331.1 ($M + 1$).

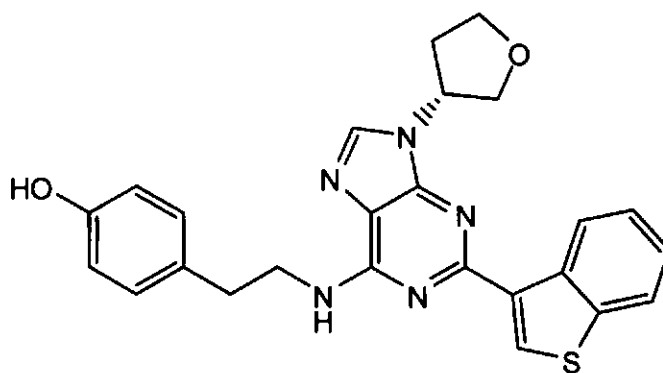
Síntesis de 4-(2-(2-(5-fluoro-piridin-3-il)-7-isopropil-7H-pirrolo-[2,3-d]-pirimidin-4-il-amino)-etil)-fenol (d):

Siguiendo el procedimiento del Ejemplo 15d, el 4-(2-(2-cloro-7-isopropil-7H-pirrolo-[2,3-d]-pirimidin-4-il-amino)-etil)-fenol (20 miligramos, 0.06 milimoles) se hizo reaccionar con ácido 5-fluoro-piridin-3-il-borónico. El residuo crudo se purificó mediante HPLC de fase inversa (columna C_{18} , eluyendo con ACN- H_2O y ácido trifluoroacético al 0.05 por ciento), para proporcionar el compuesto del título como un sólido grisáceo.

Ejemplo 153

(R)-4-(2-(2-(benzo-[b]-tiofen-3-il)-9-(tetrahidrofuran-3-il)-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol

5



Síntesis de (R)-2,6-dicloro-9-(tetrahidrofuran-3-il)-9H-purina (b):

10

Una solución de 5,7- 2,6-dicloro-9H-purina (400 miligramos, 2.12 milimoles), (S)-tetrahidrofuran-3-ol (88 miligramos, 2.5 milimoles), y trifenil-fosfina (1.0 gramos, 3.8 milimoles) en tetrahidrofurano anhidro (30 mililitros) se trató a -78°C con azodicarboxilato de di-isopropilo (856 miligramos, 4.23 milimoles).

15

La reacción se dejó calentar a temperatura ambiente, y se agitó durante 16 horas. Se agregó una solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio, y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. Las capas orgánicas se combinaron, se secaron sobre sulfato de sodio, y se concentraron. El residuo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (eluyente del 10 al 80 por ciento de acetato de etilo en hexano), para proporcionar un sólido blanco, el cual consistió en el compuesto del título contaminado con fosfóxido de trifenilo. MS m/z 258.0 ($M + 1$).

20

Síntesis de (R)-4-(2-(2-cloro-9-(tetrahidrofuran-3-il)-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol (c):

25

Siguiendo el procedimiento del Ejemplo 128b, la (R)-2,6-dicloro-9-(tetrahidrofuran-3-il)-9H-purina (b) se hizo reaccionar con tiramina. La mezcla de reacción cruda se purificó mediante HPLC de preparación en fase inversa. MS *m/z* 360.1 (M + 1).

5 **Síntesis de (R)-4-(2-(2-(benzo-[b]-tiofen-3-il)-9-(tetrahidrofuran-3-il)-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol:**

Siguiendo el procedimiento del Ejemplo 15d, el (R)-4-(2-(2-cloro-9-(tetrahidrofuran-3-il)-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol (c) se hizo reaccionar con ácido benzo-[b]-tiofen-3-il-borónico (22.3 miligramos, 0.125 milimoles). El residuo crudo se purificó mediante HPLC de preparación en fase inversa, para proporcionar el compuesto del título como un sólido grisáceo.

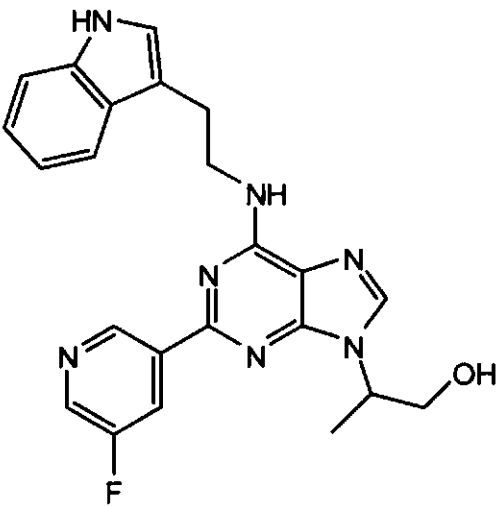
Ejemplo 157

15 **2-(6-(2-(1H-indol-3-il)-etil-amino)-2-(5-fluoro-piridin-3-il)-9H-purin-9-il)-propan-1-ol**

15

20

25



Síntesis de 2-(2,6-dicloro-9H-purin-9-il)-propanoato de metilo (b):

Una mezcla de 2,6-dicloro-9H-purina (5.0 gramos, 26.5 milimoles), 2-bromo-propanoato de metilo (5.3 gramos, 31.7 milimoles), y carbonato de potasio (11.0 gramos, 79.4 milimoles) en N,N-dimetil-formamida anhidra (100 mililitros), se calentó a 100°C durante 15 horas. Se agregó una solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio y la reacción se extrajo con acetato de etilo (150 mililitros, 3 veces). Las capas orgánicas se combinaron, se lavaron con salmuera, se secaron sobre sulfato de sodio, y se concentraron. El residuo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (eluyente del 10 al 80 por ciento de acetato de etilo en hexano), para proporcionar el compuesto del título como un sólido blanco. MS m/z 275.0 ($M + 1$).

Síntesis de 2-(6-(2-(1H-indol-3-il)-etil-amino)-2-cloro-9H-purin-9-il)-propanoato de metilo (c):

Una mezcla de 2-(2,6-dicloro-9H-purin-9-il)-propanoato de metilo (b) (600 miligramos, 2.2 milimoles), triptamina (420 miligramos, 2.6 milimoles), y 2-propanol (30 mililitros), se calentó a 85°C en un tubo sellado durante 16 horas. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente, y se concentró. El residuo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (eluyente del 10 al 80 por ciento de acetato de etilo en hexano), para proporcionar el compuesto del título como un sólido blanco. MS m/z 360.1 ($M + 1$).

Síntesis de 2-(6-(2-(1H-indol-3-il)-etil-amino)-2-(5-fluoro-piridin-

3-il)-9H-purin-9-il)-propanoato de metilo (d):

Un tubo de presión de 150 mililitros se cargó con 2-(6-(2-(1H-indol-3-il)-etil-amino)-2-cloro-9H-purin-9-il)-propanoato de metilo (c) (300 miligramos, 0.75 milimoles), ácido 5-fluoro-piridin-3-il-borónico (159 miligramos, 1.1 milimoles), tetraquis-(trifenil-fosfina)-paladio(0) (87 miligramos, 0.075 milimoles), K_3PO_4 (638 miligramos, 3.0 milimoles), y dioxano anhidro (15 mililitros). El tubo de presión se salpicó con nitrógeno y se selló; entonces la mezcla de reacción se calentó a 130°C durante 6 horas con agitación. Se agregó agua a la mezcla enfriada, y la mezcla se extrajo con acetato de etilo (50 mililitros, 3 veces). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre sulfato de sodio, y se concentraron. El residuo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (eluyente del 10 al 80 por ciento de acetato de etilo en hexano), para proporcionar el compuesto del título contaminado con una pequeña cantidad de óxido de trifenil-fosfina. MS m/z 460.1 ($M + 1$).

Síntesis de 2-(6-(2-(1H-indol-3-il)-etil-amino)-2-(5-fluoro-piridin-3-il)-9H-purin-9-il)-propan-1-ol:

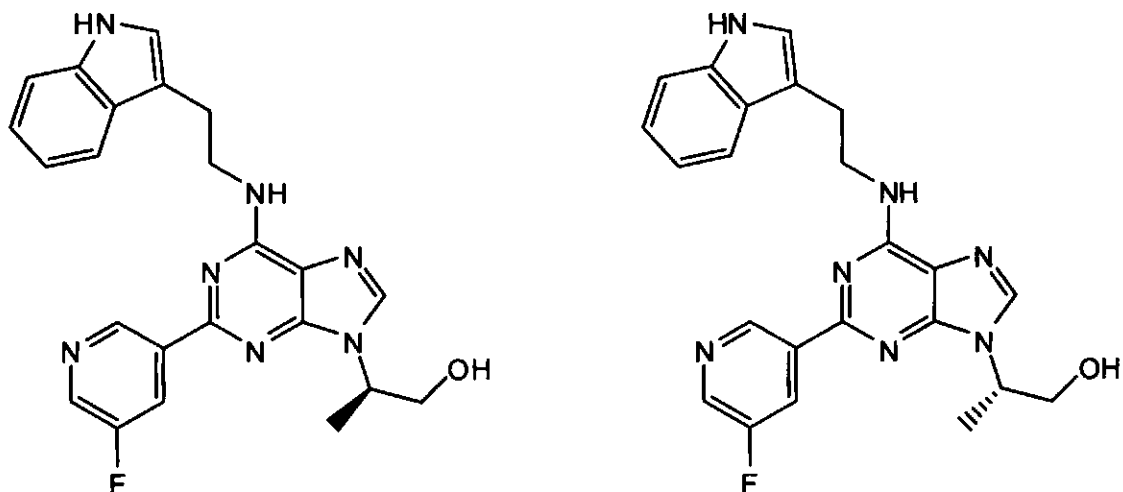
Se agregó hidruro de litio y aluminio (230 miligramos, 6.1 milimoles) en porciones a una solución a 0°C de 2-(6-(2-(1H-indol-3-il)-etil-amino)-2-(5-fluoro-piridin-3-il)-9H-purin-9-il)-propanoato de metilo (282 miligramos, 0.61 milimoles) en tetrahidrofurano anhidro (15 mililitros). La mezcla de reacción agitada se dejó calentar a temperatura ambiente durante 2 horas, y entonces se le agregó agua cuidadosamente. La mezcla se extrajo con EtOAc (50 mililitros, 3

veces). Las fracciones orgánicas se combinaron, se lavaron con salmuera, se secaron sobre sulfato de sodio, y se concentraron. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (del 0 al 5 por ciento de solvente B en dicloro-metano; solvente B = amoníaco 2M en metanol), para proporcionar el producto del título parcialmente purificado. Éste se purificó adicionalmente mediante cromatografía de capa delgada de preparación (5 por ciento de solvente B en dicloro-metano), para proporcionar el compuesto del título como un sólido blanco.

Ejemplos 157R y 157S

(R)-2-(6-(2-(1H-indol-3-il)-etil-amino)-2-(5-fluoro-piridin-3-il)-9H-purin-9-il)-propan-1-ol y

(S)-2-(6-(2-(1H-indol-3-il)-etil-amino)-2-(5-fluoro-piridin-3-il)-9H-purin-9-il)-propan-1-ol

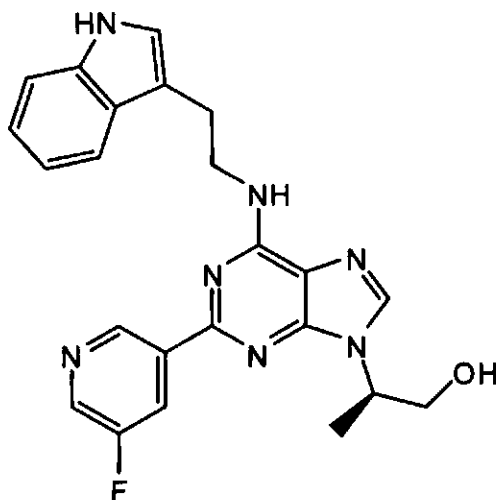


El (R/S)-2-(6-(2-(1H-indol-3-il)-etil-amino)-2-(5-fluoro-piridin-3-

il)-9H-purin-9-il)-propan-1-ol se separó en los enantiómeros individuales utilizando HPLC de preparación quiral sobre una columna quiral Lux-Cellulose-2 (Phenomenex) de 21 x 250 milímetros. Se preparó una solución de 3 miligramos/mililitro del racemato en metanol, y se cargó sobre la columna con 0.5 mililitros de solución por inyección. La columna se eluyó con 85/7.5/7.5 de hexano/etanol/metanol a una velocidad de flujo de 20 mililitros/minuto durante 25 minutos. Los picos 1 y 2 se eluyeron a los 20 minutos y a los 22.5 minutos, respectivamente. La cromatografía analítica se llevó a cabo sobre una columna quiral Lux-Cellulose-2 (Phenomenex) de 4.6 x 100 milímetros, eluyendo con 90/5/5 de hexano/etanol/metanol a 1 mililitro/minuto durante 20 minutos. Los picos 1 y 2 se eluyeron a los 17.45 y a los 18.14 minutos, respectivamente.

Ejemplo 157R

(R)-2-(6-(2-(1H-indol-3-il)-etil-amino)-2-(5-fluoro-piridin-3-il)-9H-purin-9-il)-propan-1-ol



Síntesis de (R)-N-(2-(1H-indol-3-il)-etil)-9-(1-(benciloxi)propan-2-il)-2-(5-fluoro-piridin-3-il)-9H-purin-6-amina (b):

5 Siguiendo, en sucesión, los procedimientos del Ejemplo 153b (utilizando 2,6-dicloro-9H-purina y (S)-1-(benciloxi)-propan-2-ol como reactivos), del Ejemplo 153c (utilizando triptamina como reactivo), y del Ejemplo 153d (utilizando ácido 5-fluoro-piridin-3-il-borónico como reactivo), se obtuvo el compuesto del título.

10 **Síntesis de (R)-2-(6-(2-(1H-indol-3-il)-etil-amino)-2-(5-fluoro-piridin-3-il)-9H-purin-9-il)-propan-1-ol (c):**

Una solución de (R)-N-(2-(1H-indol-3-il)-etil)-9-(1-(benciloxi)-propan-2-il)-2-(5-fluoro-piridin-3-il)-9H-purin-6-amina (b) (0.15 gramos, 0.29 milimoles) en dicloro-metano (10 mililitros) se trató con BCl₃ (1M, 2.9 mililitros, 2.9 milimoles) en dicloro-metano (10 mililitros) a -78°C durante 2 horas. se agregó una solución acuosa de hidróxido de sodio 1N, y la mezcla se extrajo con dicloro-metano. Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron, y se concentraron, y el residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente de metanol al 5 por ciento en dicloro-metano), para proporcionar el compuesto del título. MS *m/z* 432.2 (M + 1).

15

20

Ejemplo 157S

(S)-2-(6-(2-(1H-indol-3-il)-etil-amino)-2-(5-fluoro-piridin-3-il)-9H-purin-9-il)-propan-1-ol

25

(b):

Siguiendo el procedimiento del Ejemplo 15b, la 4,6-dicloro-1H-imidazo-[4,5-c]-piridina (J. Het. Chem. 1965, 196-201) (0.19 gramos, 1.0 milimoles) se hizo reaccionar con 2-yodo-propano. El residuo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (eluyente del 25 al 35 por ciento de acetato de etilo en hexano), para proporcionar el compuesto del título como un sólido. MS m/z 230.2 ($M + 1$).

Síntesis de 4-(2-(6-cloro-1-isopropil-1H-imidazo-[4,5-c]-piridin-4-il-amino)-etil)-fenol (c):

Una mezcla de 4,6-dicloro-1-isopropil-1H-imidazo-[4,5-c]-piridina (b) (40 miligramos, 0.17 milimoles), tiramina (120 miligramos, 0.86 milimoles), y 2-butanol (2 mililitros) se calentó bajo irradiación con microondas a 140°C durante 8 horas. La mezcla se concentró y el residuo se purificó mediante HPLC de fase inversa (columna C_{18} , eluyendo con ACN- H_2O y ácido trifluoro-acético al 0.05 por ciento), para proporcionar el compuesto del título como un sólido grisáceo. MS m/z 331.1 ($M + 1$).

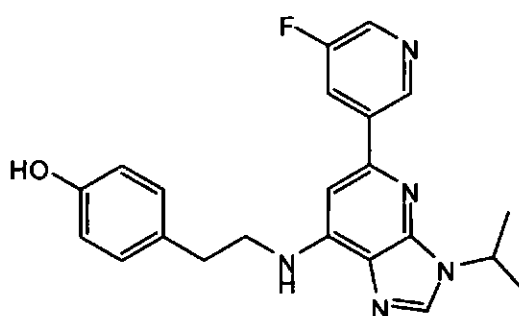
Síntesis de 4-(2-(6-(5-fluoro-piridin-3-il)-1-isopropil-1H-imidazo-[4,5-c]-piridin-4-il-amino)-etil)-fenol (d):

Un frasco de reacción para microondas de 5 mililitros se cargó con el 4-(2-(6-cloro-1-isopropil-1H-imidazo-[4,5-c]-piridin-4-il-amino)-etil)-fenol (c) (17 miligramos, 0.051 milimoles), ácido 5-fluoro-piridin-3-il-borónico (72 miligramos, 0.51 milimoles), y tetraquis-(trifenil-fosfina)-paladio(0) (36 miligramos, 0.031 milimoles). A esta mezcla se le agregaron tolueno (1 mililitro), etanol (0.5 mililitros), y una

solución acuosa de carbonato de sodio (2M, 0.5 mililitros). El frasco se selló, y la mezcla de reacción se agitó a 140°C bajo irradiación con microondas durante 2 horas. Se agregó agua a la mezcla enfriada, la cual se extrajo con acetato de etilo (5 mililitros, 3 veces). Las fracciones orgánicas se combinaron, se secaron sobre sulfato de sodio, y se concentraron. El residuo se purificó mediante HPLC de fase inversa (columna C₁₈, eluyendo con ACN-H₂O y ácido trifluoro-acético al 0.05 por ciento), para proporcionar el compuesto del título como un sólido grisáceo.

Ejemplo 177

4-(2-(5-(5-fluoro-piridin-3-il)-3-isopropil-3H-imidazo-[4,5-b]-piridin-7-il-amino)-etil)-fenol



Síntesis de 5,7-dicloro-3-isopropil-3H-imidazo-[4,5-b]-piridina (b):

Siguiendo el procedimiento del Ejemplo 15b, la 5,7-dicloro-3H-imidazo-[4,5-b]-piridina (J. Med. Chem., 2007, 50, 828–834) (0.118 gramos, 0.624 milimoles) se hizo reaccionar con 2-yodo-propano. La mezcla del producto crudo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (eluyente del 25 al 35 por ciento de acetato de etilo en hexano), para proporcionar una mezcla del compuesto del título

(mayor), y un producto isomérico como un sólido. MS m/z 230.2 ($M + 1$).

Síntesis de 4-(2-(5-cloro-3-isopropil-3H-imidazo-[4,5-b]-piridin-7-il-amino)-etil)-fenol (c):

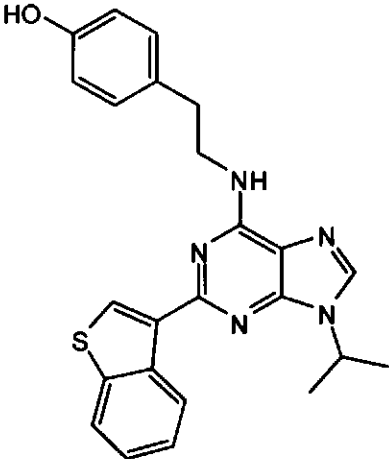
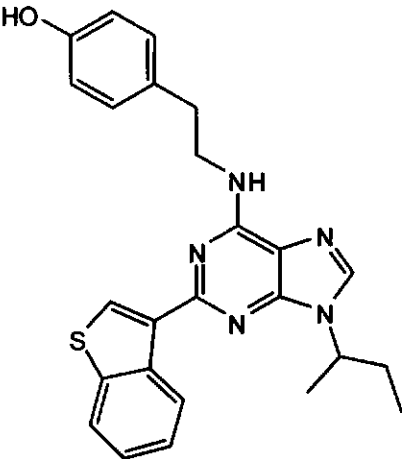
5 La mezcla del producto que contenía 5,7-dicloro-3-isopropil-3H-imidazo-[4,5-b]-piridina (b) (40 miligramos, 0.17 milimoles), tiramina (120 miligramos, 0.87 milimoles), y 2-propanol (2 mililitros), se calentó en un frasco sellado a 140°C durante 72 horas. La mezcla se concentró, y el residuo se purificó mediante cromatografía de
10 capa delgada de preparación (eluyente de 1:2 de hexanos/acetato de etilo), para proporcionar el compuesto del título como un sólido grisáceo. MS m/z 331.1 ($M + 1$).

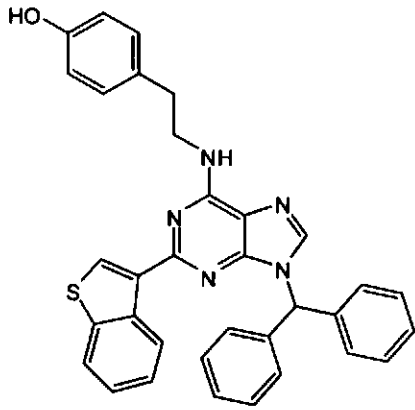
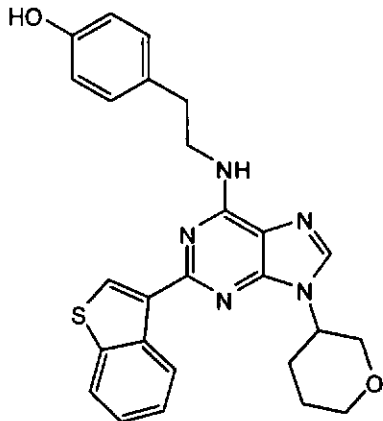
Síntesis de 4-(2-(5-(5-fluoro-piridin-3-il)-3-isopropil-3H-imidazo-[4,5-b]-piridin-7-il-amino)-etil)-fenol (d):

15 Siguiendo el procedimiento del Ejemplo 161d, el 4-(2-(5-cloro-3-isopropil-3H-imidazo-[4,5-b]-piridin-7-il-amino)-etil)-fenol (c) (15 miligramos, 0.047 milimoles) se hizo reaccionar con ácido 5-fluoro-piridin-3-il-borónico. El residuo crudo se purificó mediante cromatografía de capa delgada de preparación (eluyente de 1:1 de
20 hexanos/acetato de etilo), para proporcionar el compuesto del título como un sólido grisáceo.

 Repitiendo los procedimientos descritos en los ejemplos anteriores, utilizando los materiales de partida apropiados, se obtienen los siguientes compuestos de la fórmula I, como se
25 identifican en la Tabla 1.

Tabla 1

Ej. No.	Estructura	Datos Físicos ¹ H RMN y/o MS	EC ₅₀ (%CD34) μM
1		¹ H RMN (500 MHz, CDCl ₃): δ = 9.20 (d, 1H), 8.58 (s, 1H), 8.00-7.80 (m, 2H), 7.55-7.38 (m, 3H), 7.11 (d, 2H), 6.72 (d, 2H), 6.18 (br, 1H), 5.01-4.68 (m, 1H), 4.02 (br, 2H), 3.00 (t, 2H), 1.68 (d, 6H); HRMS (EI) m/z 430.1698 (M+1)	0.12
2		¹ H RMN (500 MHz, CDCl ₃): δ = 9.22 (d, 1H), 8.53 (s, 1H), 7.92 (d, 1H), 7.80 (s, 1H), 7.52-7.33 (m, 3H), 7.13 (d, 2H), 6.74 (d, 2H), 6.08 (br, 1H), 4.80-4.62 (m, 1H), 4.02 (br, 2H), 3.01 (t,	0.03

Ej. No.	Estructura	Datos Físicos ¹ H RMN y/o MS	EC ₅₀ (%CD34) μM
5		2H), 2.20-1.90 (m, 2H), 1.77 (d, 3H), 0.92 (t, 3H); HRMS (EI) <i>m/z</i> 444.1857 (M+1)	
10 3		HRMS (EI) <i>m/z</i> 554.2005 (M+1)	0.15
20 4		HRMS (EI) <i>m/z</i> 472.1807 (M+1)	1.49

25

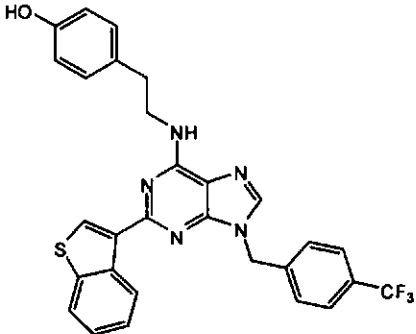
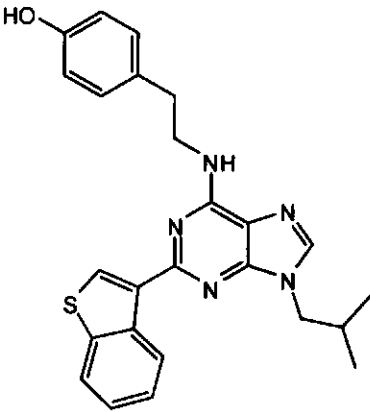
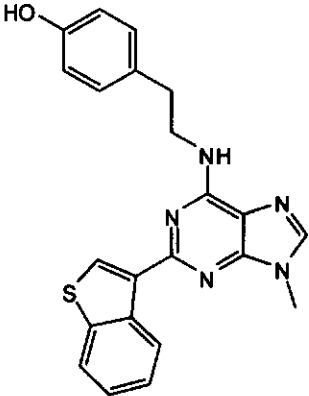
5

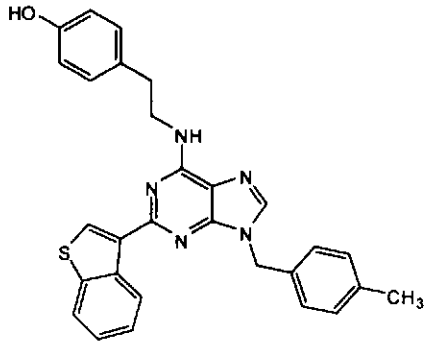
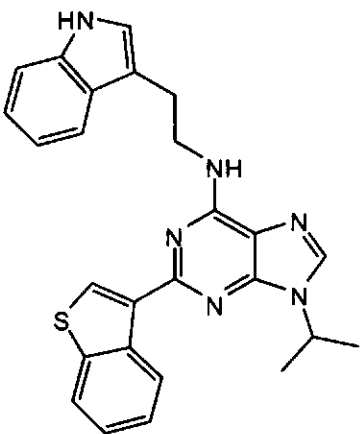
10

15

20

25

Ej. No.	Estructura	Datos Físicos ¹ H RMN y/o MS	EC ₅₀ (%CD34) μM
5		HRMS (EI) <i>m/z</i> 546.1571 (M+1)	2.08
6		HRMS (EI) <i>m/z</i> 444.1857 (M+1)	2.53
7		HRMS (EI) <i>m/z</i> 402.1385 (M+1)	7.2

Ej. No.	Estructura	Datos Físicos ¹ H RMN y/o MS	EC ₅₀ (%CD ₃ D) μM
8		HRMS (EI) <i>m/z</i> 492.1856 (M+1)	6.03
9		¹ H RMN (500 MHz, CDCl ₃): δ = 9.21 (d, 1H), 8.48 (s, 1H), 8.02 (br, 1H), 7.89 (d, 1H), 7.79 (s, 1H), 7.70 (d, 1H), 7.50-7.07 (m, 6H), 5.82 (br, 1H), 5.00-4.88 (m, 1H), 4.13 (br, 2H), 3.22 (t, 2H), 1.69 (d, 6H); HRMS (EI) <i>m/z</i> 453.1857 (M+1)	0.02

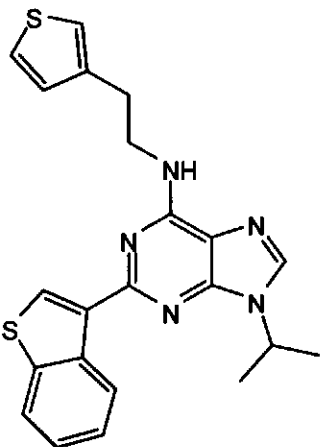
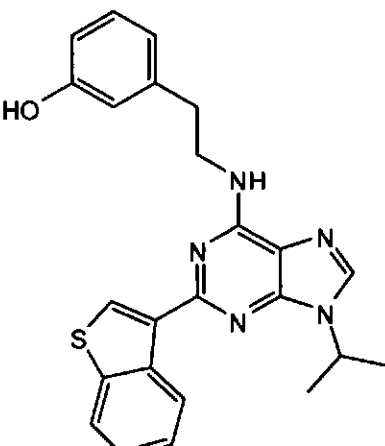
5

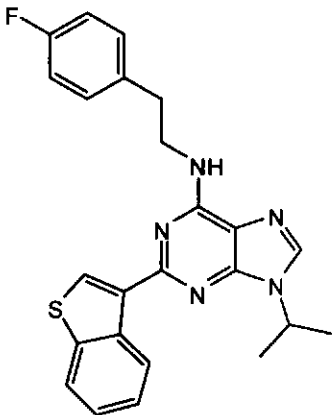
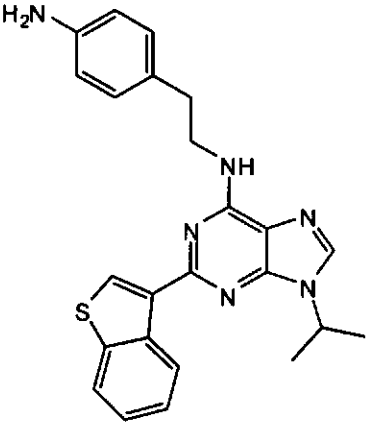
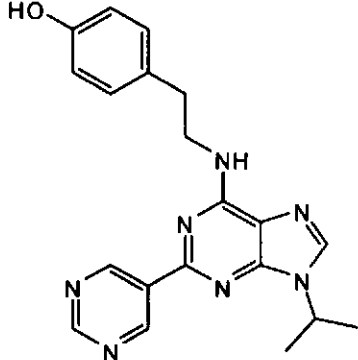
10

15

20

25

Ej. No.	Estructura	Datos Físicos ¹ H RMN y/o MS	EC ₅₀ (%CD34') μM
10		HRMS (EI) <i>m/z</i> 420.1315 (M+1)	1.38
11		HRMS (EI) <i>m/z</i> 430.1697 (M+1)	1.45

Ej. No.	Estructura	Datos Físicos ¹ H RMN y/o MS	EC ₅₀ (%CD34) μM
12		HRMS (EI) <i>m/z</i> 432.1655 (M+1)	1.76
13		HRMS (EI) <i>m/z</i> 429.1853 (M+1)	5.75
14		HRMS (EI) <i>m/z</i> 376.1881 (M+1)	0.17

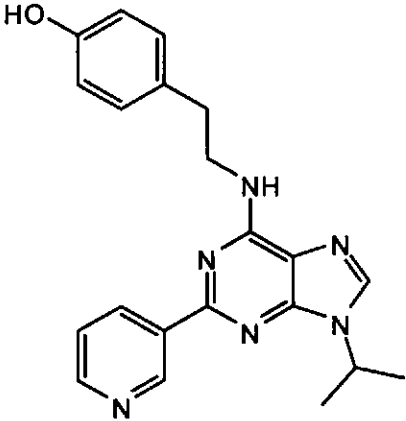
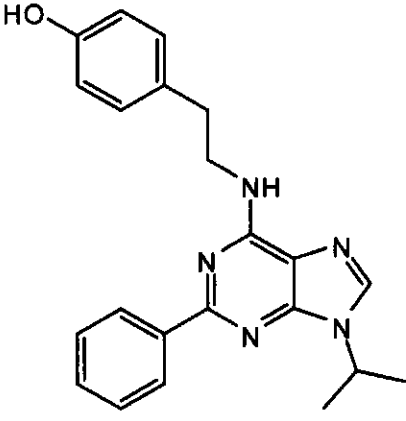
5

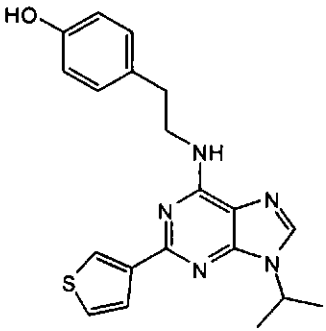
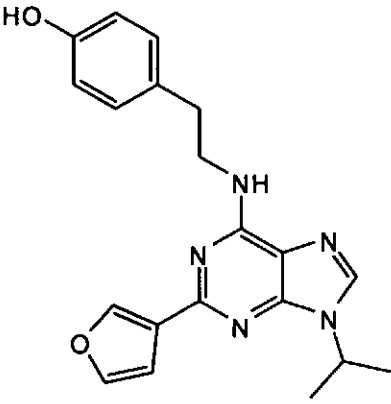
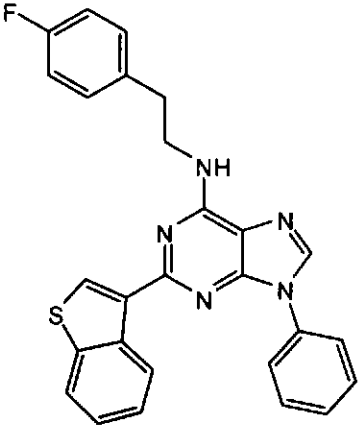
10

15

20

25

Ej. No.	Estructura	Datos Físicos ¹ H RMN y/o MS	EC ₅₀ (%CD34) μM
15		¹ H RMN (400 MHz, CD ₃ OD) δ 9.57 (d, 1H), 8.85-8.83 (m, 1H), 8.59 (q, 1H), 8.16 (s, 1H), 7.57 (q, 1H), 7.13 (d, 2H), 6.72(d, 2H), 4.98-4.91 (m, 1H), 3.91 (bs, 2H), 2.98 (t, 2H), 1.68 (d, 6H); HRMS (EI) <i>m/z</i> 375.1928 (M+1)	0.19
16		HRMS (EI) <i>m/z</i> 374.1976 (M+1)	0.46

Ej. No.	Estructura	Datos Físicos ¹ H RMN y/o MS	EC ₅₀ (%CD34) μM
17		HRMS (EI) <i>m/z</i> 380.1544 (M+1)	0.97
18		HRMS (EI) <i>m/z</i> 364.1769 (M+1)	3.9
19		HRMS (EI) <i>m/z</i> 466.1493 (M+1)	1.1

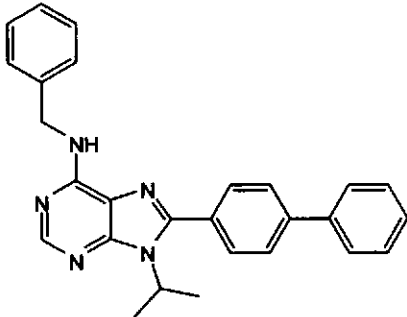
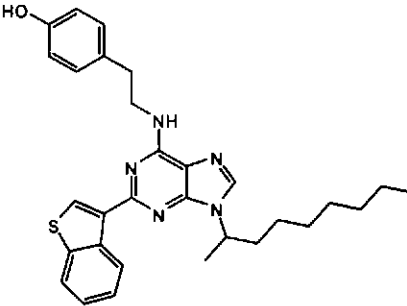
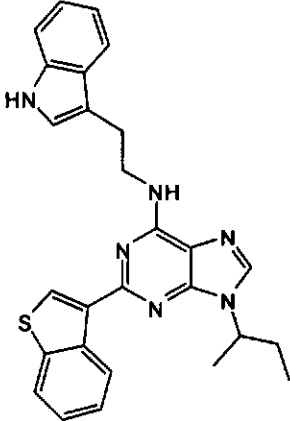
5

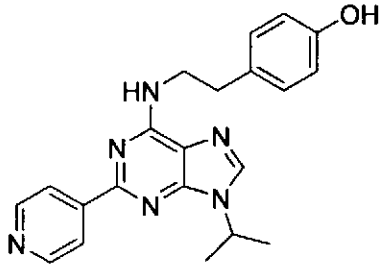
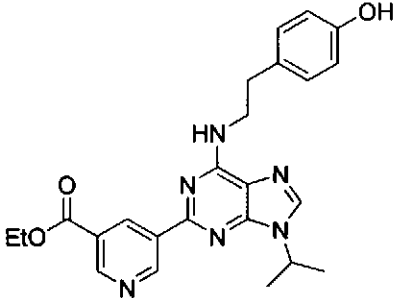
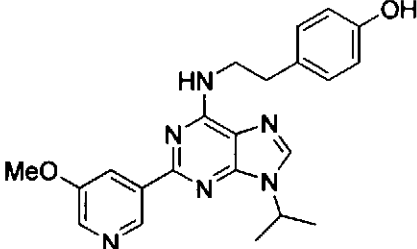
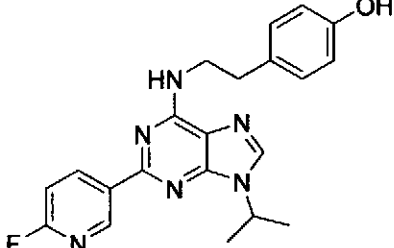
10

15

20

25

Ej. No.	Estructura	Datos Físicos ¹ H RMN y/o MS	EC ₅₀ (%CD34') μM
20		HRMS (EI) <i>m/z</i> 420.2184 (M+1)	7.8
21		HRMS (EI) <i>m/z</i> 514.2638 (M+1)	0.13
23		HRMS (EI) <i>m/z</i> 467.2013 (M+1)	0.019

Ej. No.	Estructura	Datos Físicos ¹ H RMN y/o MS	EC ₅₀ (%CD34) μM
31		MS <i>m/z</i> 375.2 (M + 1)	0.66
32		MS <i>m/z</i> 447.2 (M + 1)	5.6
33		MS <i>m/z</i> 405.2 (M + 1)	0.27
34		MS <i>m/z</i> 393.2 (M + 1)	0.16

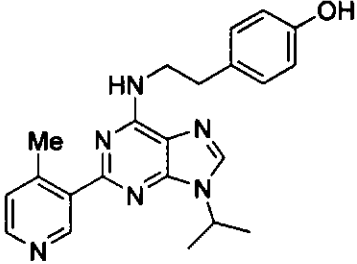
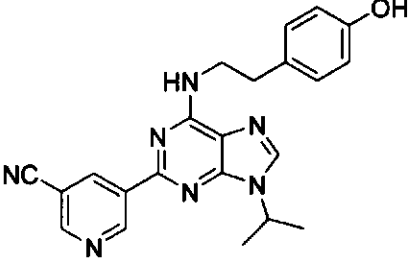
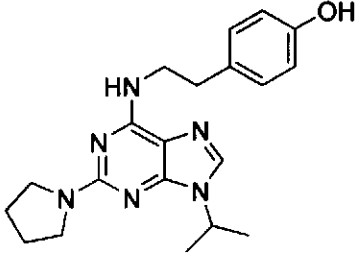
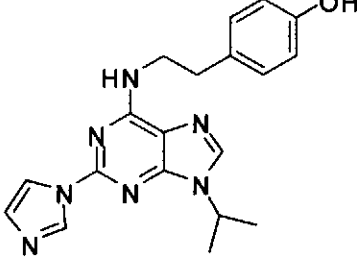
5

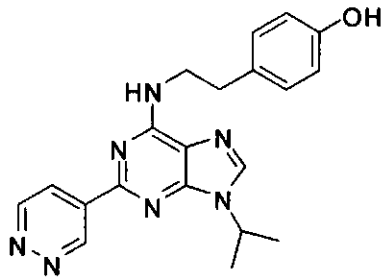
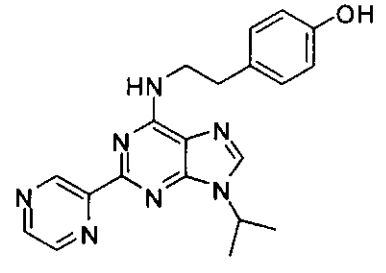
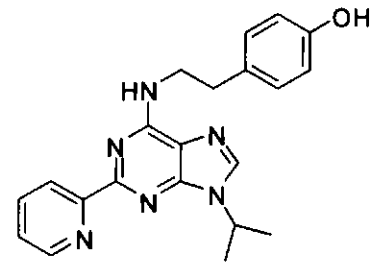
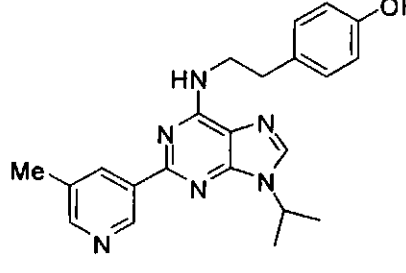
10

15

20

25

Ej. No.	Estructura	Datos Físicos ¹ H RMN y/o MS	EC ₅₀ (%CD34) μM
35		MS <i>m/z</i> 389.2 (M + 1)	0.34
37		MS <i>m/z</i> 400.2 (M + 1)	0.024
38		MS <i>m/z</i> 367.2 (M + 1)	1.6
40		MS <i>m/z</i> 364.2 (M + 1)	0.26

Ej. No.	Estructura	Datos Físicos ¹ H RMN y/o MS	EC ₅₀ (%CD34 ^h) μM
42		MS <i>m/z</i> 376.2 (M + 1)	0.64
43		MS <i>m/z</i> 376.2 (M + 1)	2.4
44		MS <i>m/z</i> 375.2 (M + 1)	1.7
45		MS <i>m/z</i> 389.2 (M + 1)	0.063

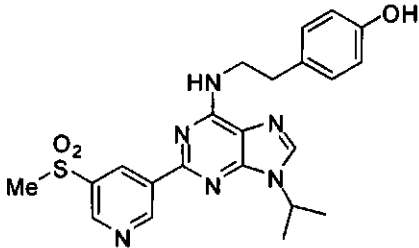
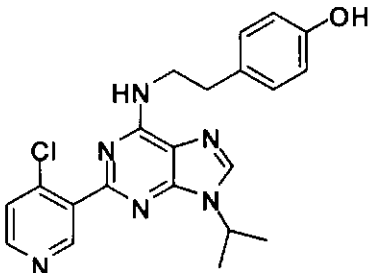
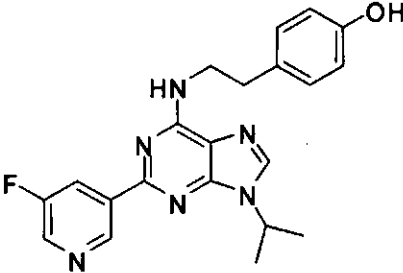
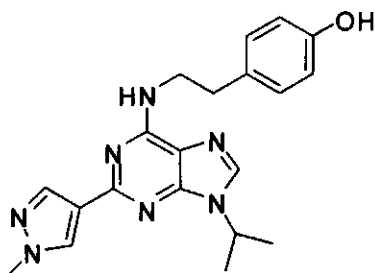
5

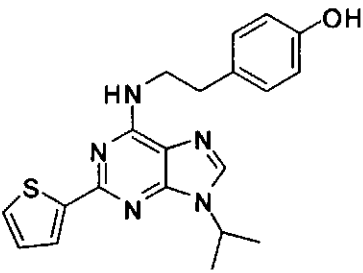
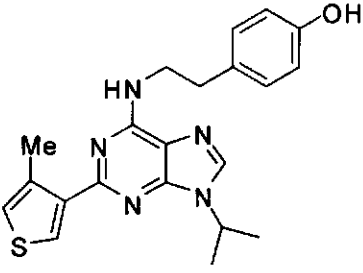
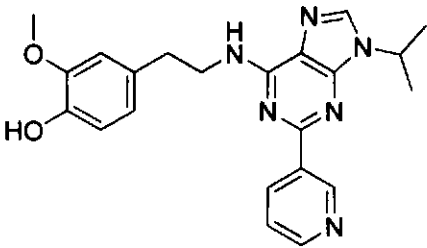
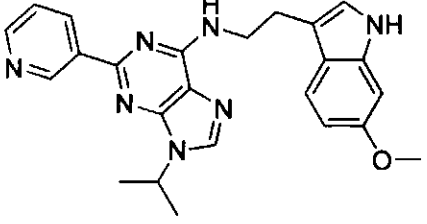
10

15

20

25

Ej. No.	Estructura	Datos Físicos ¹ H RMN y/o MS	EC ₅₀ (%CD34*) μM
46		MS <i>m/z</i> 453.2 (M + 1)	0.65
48		MS <i>m/z</i> 409.2 (M + 1)	0.51
50		MS <i>m/z</i> 393.2 (M + 1)	0.034
52		MS <i>m/z</i> 378.2 (M + 1)	

Ej. No.	Estructura	Datos Físicos ¹ H RMN y/o MS	EC ₅₀ (%CD34) μM
55		MS <i>m/z</i> 380.2 (M + 1)	1.3
58		MS <i>m/z</i> 394.2 (M + 1)	0.24
60		MS <i>m/z</i> 405.1 (M + 1)	3.2
61		MS <i>m/z</i> 428.1 (M + 1)	0.13

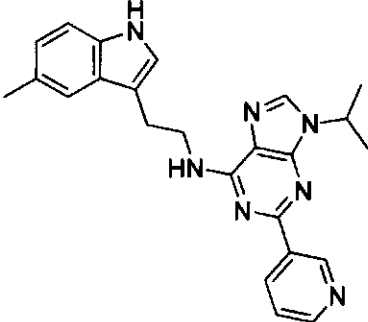
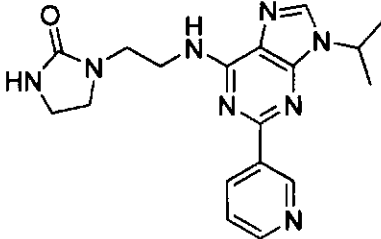
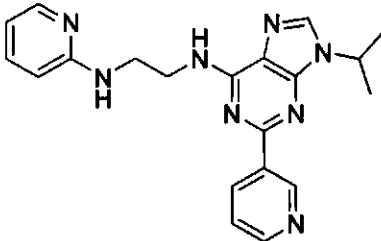
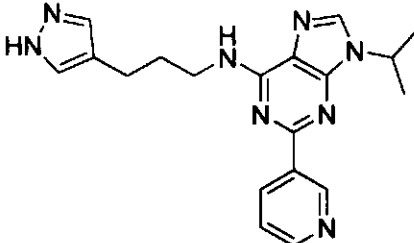
5

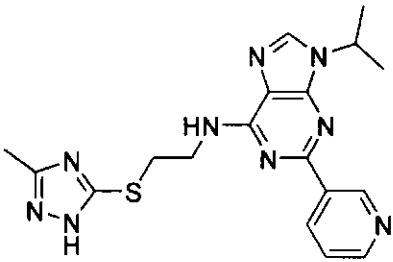
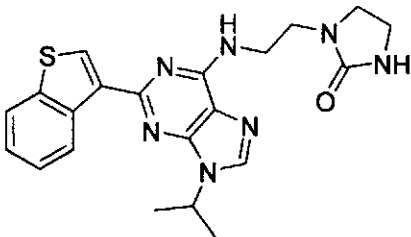
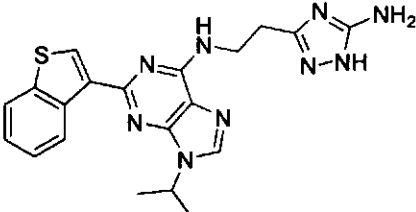
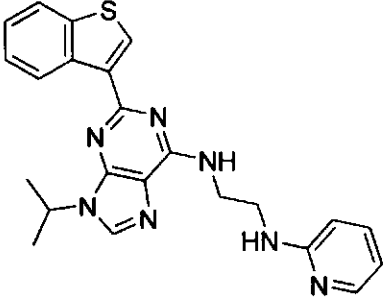
10

15

20

25

Ej. No.	Estructura	Datos Físicos ¹ H RMN y/o MS	EC ₅₀ (%CD34') μM
62		MS <i>m/z</i> 412.1 (M + 1)	0.72
70		MS <i>m/z</i> 367.2 (M + 1)	2.7
72		MS <i>m/z</i> 375.2 (M + 1)	6.3
73		MS <i>m/z</i> 363.2 (M + 1)	8.2

Ej. No.	Estructura	Datos Físicos ¹ H RMN y/o MS	EC ₅₀ (%CD34) μM
5 76		MS <i>m/z</i> 396.2 (M + 1)	6.0
10 81		MS <i>m/z</i> 422.1 (M + 1)	2.7
15 82		MS <i>m/z</i> 420.1 (M + 1)	7.9
20 83		MS <i>m/z</i> 430.1 (M + 1)	7.1

25

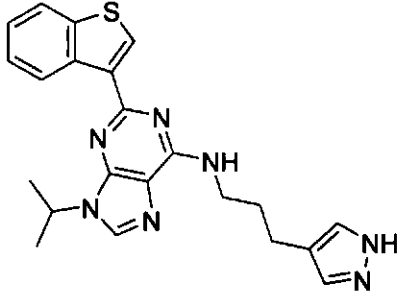
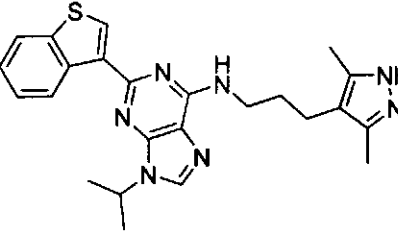
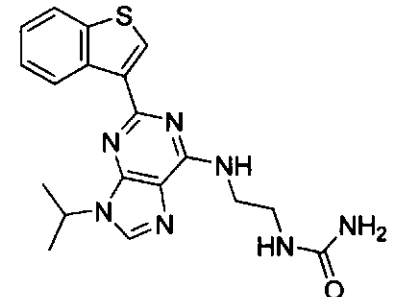
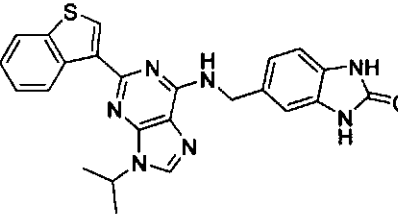
5

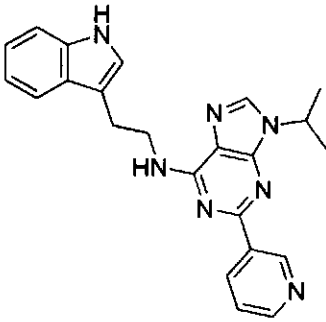
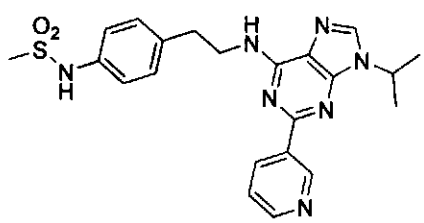
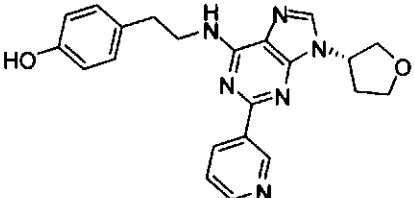
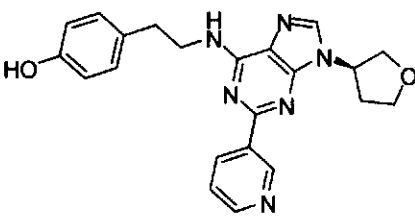
10

15

20

25

Ej. No.	Estructura	Datos Físicos ¹ H RMN y/o MS	EC ₅₀ (%CD34') μM
84		MS <i>m/z</i> 418.1 (M + 1)	5.4
88		MS <i>m/z</i> 446.10 (M + 1)	2.6
89		MS <i>m/z</i> 396.10 (M + 1)	1.4
90		MS <i>m/z</i> 456.2 (M + 1)	3.3

Ej. No.	Estructura	Datos Físicos ¹ H RMN y/o MS	EC ₅₀ (%CD ₃ D) μM
91		MS <i>m/z</i> 398.1 (M + 1)	0.029
92		MS <i>m/z</i> 452.2 (M + 1)	7.1
93S		MS <i>m/z</i> 403.1 (M + 1)	1.1
93R		MS <i>m/z</i> 403.1 (M + 1)	0.52

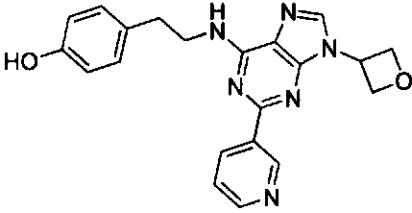
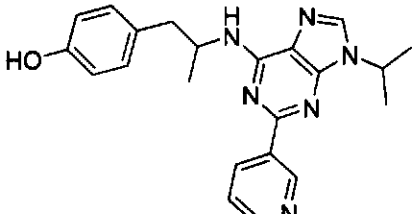
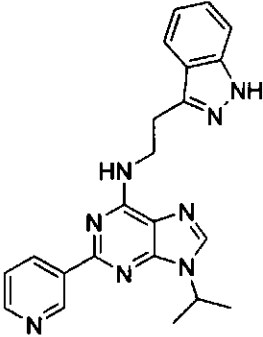
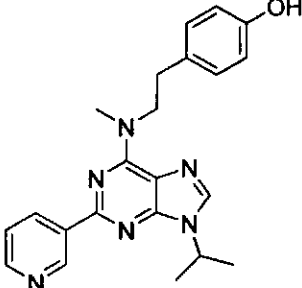
5

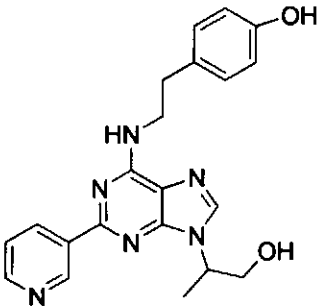
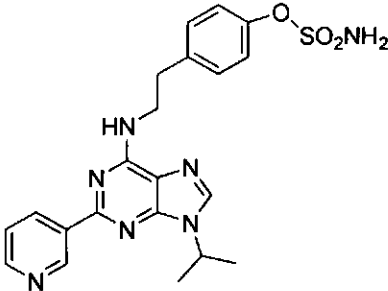
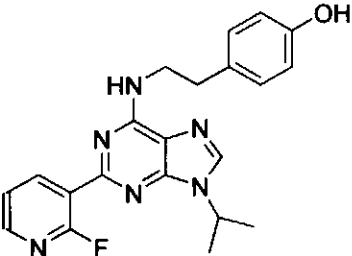
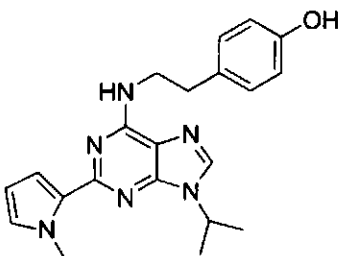
10

15

20

25

Ej. No.	Estructura	Datos Físicos ¹ H RMN y/o MS	EC ₅₀ (%CD34) μM
94		MS <i>m/z</i> 389.1 (M + 1)	0.97
95		MS <i>m/z</i> 389.1 (M + 1)	2.3
98		MS <i>m/z</i> 399.2 (M + 1)	8.2
99		MS <i>m/z</i> 389.2 (M + 1)	7.5

Ej. No.	Estructura	Datos Físicos ¹ H RMN y/o MS	EC ₅₀ (%CD34) μM
113		MS <i>m/z</i> 391.2 (M + 1)	0.54
114		MS <i>m/z</i> 454.1 (M + 1)	1.1
118		MS <i>m/z</i> 393.2 (M + 1)	0.45
119		MS <i>m/z</i> 377.2 (M + 1)	1.4

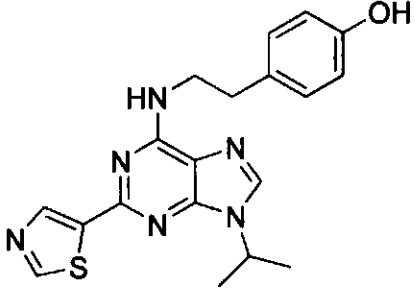
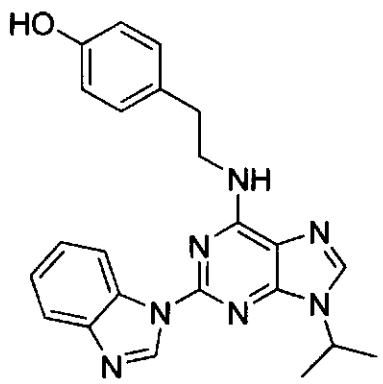
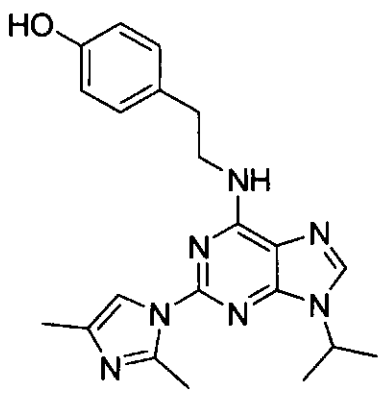
5

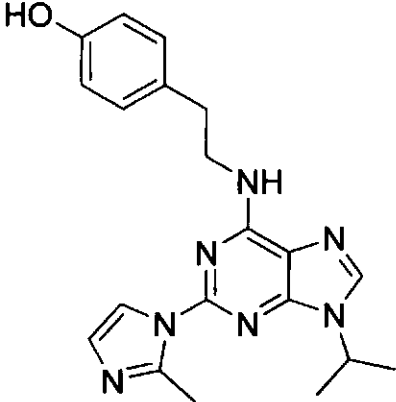
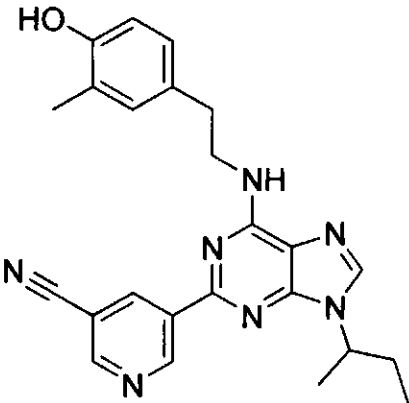
10

15

20

25

Ej. No.	Estructura	Datos Físicos ¹ H RMN y/o MS	EC ₅₀ (%CD34) μM
120		MS <i>m/z</i> 381.2 (M + 1)	1.4
121		MS <i>m/z</i> 414.2 (M + 1)	0.086
122		MS <i>m/z</i> 414.2 (M + 1)	0.42

Ej. No.	Estructura	Datos Físicos ¹ H RMN y/o MS	EC ₅₀ (%CD ₃ CD ₃) μM
123		¹ H RMN (400 MHz, DMSO): δ = 9.21(br, 1H), 8.57 (t, 1H), 8.36 (s, 1H), 8.23 (d, 1H), 7.70 (d, 1H), 7.04 (d, 2H), 6.66 (d, 2H), 4.84-4.72 (m, 1H), 3.67 (q, 2H), 2.99 (s, 3H), 2.83 (t, 2H), 1.56 (d, 6H); MS <i>m/z</i> 378.2 (M + 1)	0.066
124		MS <i>m/z</i> 428.2 (M + 1)	0.003

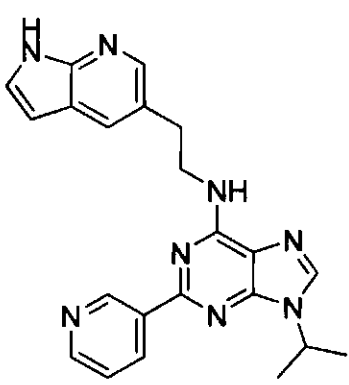
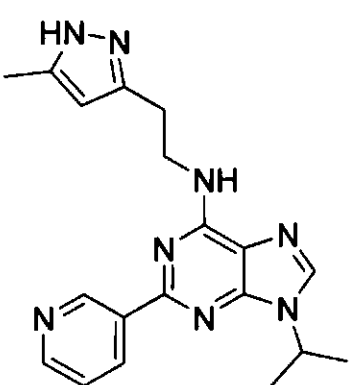
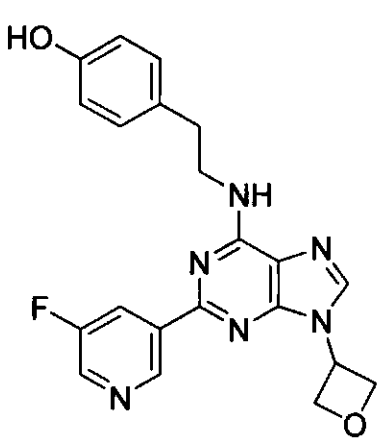
5

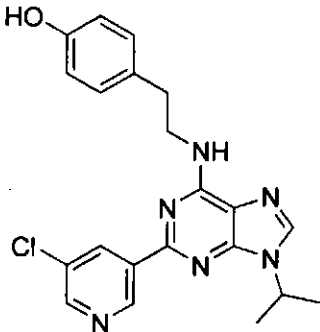
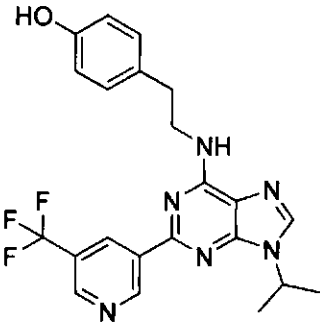
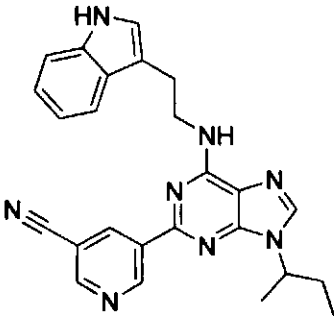
10

15

20

25

Ej. No.	Estructura	Datos Físicos ¹ H RMN y/o MS	EC ₅₀ (%CD34') μM
125		MS <i>m/z</i> 399.2 (M + 1)	
126		MS <i>m/z</i> 363.2 (M + 1)	5.0
127		MS <i>m/z</i> 407.3 (M + 1)	0.47

Ej. No.	Estructura	Datos Físicos ¹ H RMN y/o MS	EC ₅₀ (%CD34) μM
128		¹ H RMN (400 MHz, DMSO): δ = 9.47 (s, 1H), 8.71 (s, 1H), 8.67 (s, 1H), 8.32 (s, 1H), 8.04 (t, 1H), 7.10 (d, 2H), 6.69 (d, 2H), 4.91-4.81 (m, 1H), 3.80-3.70 (m, 2H), 2.86 (t, 2H), 1.58 (d, 6H); MS m/z 409.2 (M + 1)	0.019
129		MS m/z 443.2 (M + 1)	0.12
130		¹ H RMN (400 MHz, DMSO): δ = 10.82 (s, 1H), 9.74 (s, 1H), 9.10 (s, 1H), 8.99 (s, 1H), 8.32 (s, 1H), 8.13 (t, 1H),	0.001

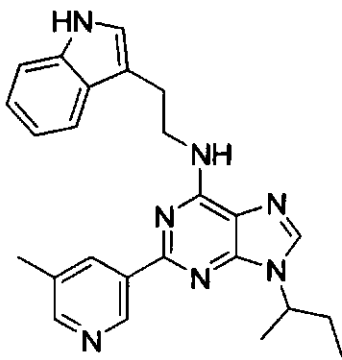
5

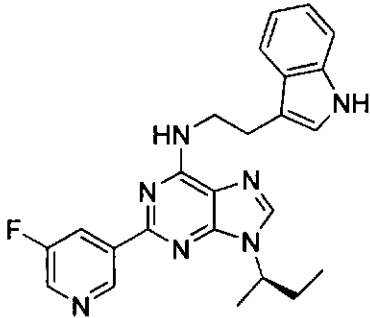
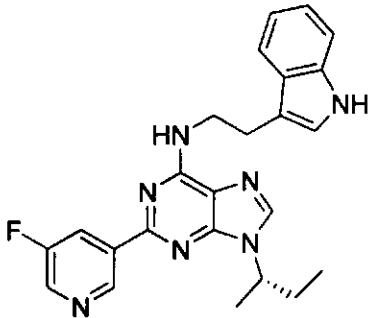
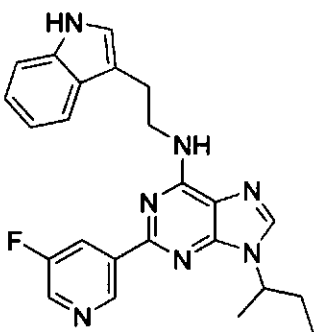
10

15

20

25

Ej. No.	Estructura	Datos Físicos ¹ H RMN y/o MS	EC ₅₀ (%CD34) μM
		7.65 (d, 1H), 7.32 (d, 1H), 7.22 (s, 1H), 7.06 (t, 1H), 6.99 (t, 1H), 4.72-4.60 (m, 1H), 3.96-3.85 (m, 2H), 3.08 (t, 2H), 2.08-1.88 (m, 2H), 1.58 (d, 3H), 0.77 (t, 3H); MS <i>m/z</i> 437.2 (M + 1)	
131		¹ H RMN (400 MHz, DMSO): δ = 10.83 (s, 1H), 9.40 (s, 1H), 8.97(s, 1H), 8.76 (s, 1H), 8.35(s, 1H), 8.18 (t, 1H), 7.62 (d, 1H), 7.33 (d, 1H), 7.23 (s, 1H), 7.06 (t, 1H), 6.97 (t, 1H), 4.72-4.60 (m, 1H), 3.96-3.82 (m, 2H), 3.10 (t, 2H), 2.53 (s, 3H), 2.09-1.89 (m, 2H), 1.58 (d, 3H), 0.77 (t, 3H); MS	0.004

Ej. No.	Estructura	Datos Fisicos ¹ H RMN y/o MS	EC ₅₀ (%CD34) μM
5		m/z 426.2 (M + 1)	
10	131R 	MS m/z 430.2 (M + 1)	0.001
15	131S 	MS m/z 430.2 (M + 1)	0.002
20	132 	¹ H RMN (400 MHz, DMSO): δ = 10.83 (s, 1H), 9.42 (s, 1H), 8.66 (s, 1H), 8.41 (d, 1H), 8.31 (s, 1H), 8.09 (t, 1H), 7.64 (d, 1H), 7.34 (d, 1H), 7.22 (s, 1H), 7.07 (t, 1H), 6.97(t, 1H), 4.68-	0.003
25			

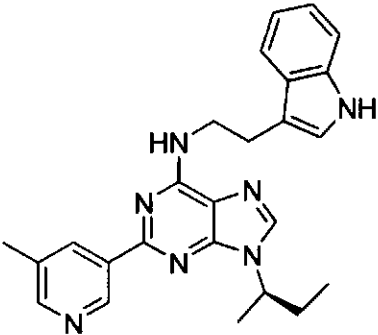
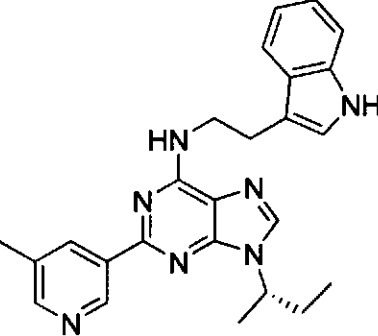
5

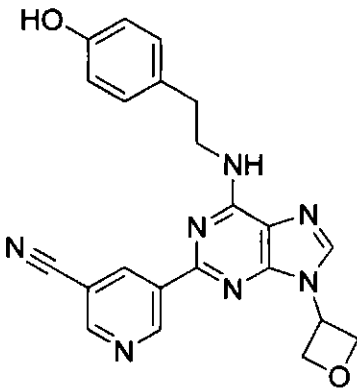
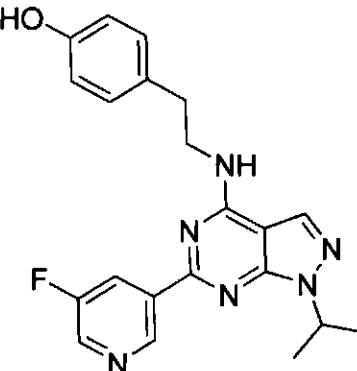
10

15

20

25

Ej. No.	Estructura	Datos Físicos ¹ H RMN y/o MS	EC ₅₀ (%CD34) μM
		4.60 (m, 1H), 3.92-3.84 (m, 2H), 3.08 (t, 2H), 2.08-1.90 (m, 2H), 1.58 (d, 3H), 0.77 (t, 3H); MS m/z 430.2 (M + 1)	
132R		MS m/z 426.2 (M + 1)	0.003
132S		MS m/z 426.2 (M + 1)	0.003

Ej. No.	Estructura	Datos Físicos ¹ H RMN y/o MS	EC ₅₀ (%CD34 ⁿ) μM
133		MS <i>m/z</i> 414.2 (M + 1)	0.18
134		¹ H RMN (400 MHz, DMSO): δ = 9.44 (s, 1H), 9.21 (s, 1H), 8.69 (d, 1H), 8.56 (t, 1H), 8.47 (d, 1H), 8.14 (s, 1H), 7.09 (d, 2H), 6.69 (d, 2H), 5.17-5.09 (m, 1H), 3.80-3.75 (m, 2H), 2.87 (t, 2H), 1.48 (d, 6H); MS <i>m/z</i> 393.2 (M + 1)	0.20

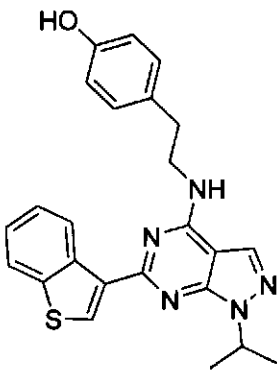
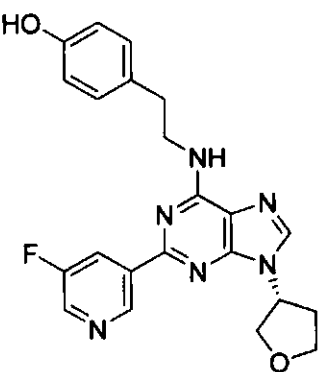
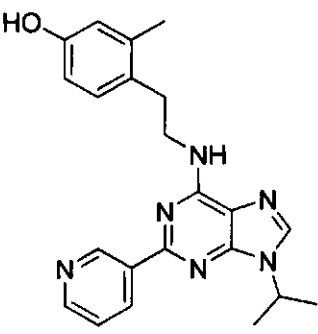
5

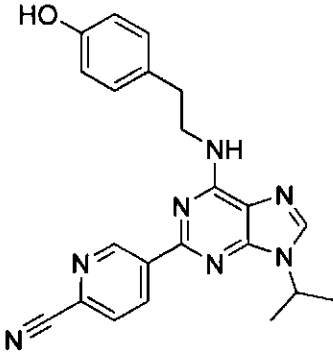
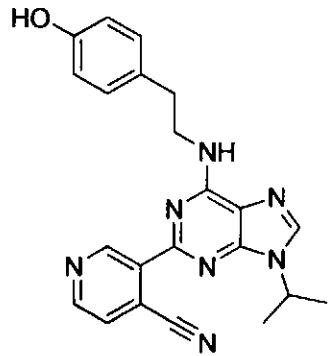
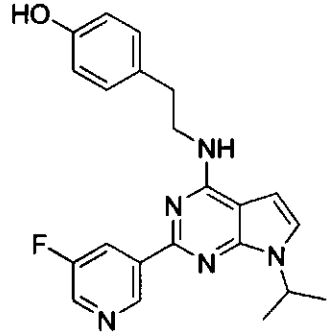
10

15

20

25

Ej. No.	Estructura	Datos Físicos ¹ H RMN y/o MS	EC ₅₀ (%CD34) μM
135		MS <i>m/z</i> 430.2 (M + 1)	0.38
137		MS <i>m/z</i> 421.1 (M + 1)	
138		MS <i>m/z</i> 389.2 (M + 1)	0.40

Ej. No.	Estructura	Datos Físicos ¹ H RMN y/o MS	EC ₅₀ (%CD34) μM
139		MS <i>m/z</i> 400.2 (M + 1)	1.3
140		MS <i>m/z</i> 400.2 (M + 1)	0.091
141		¹ H RMN (400 MHz, DMSO): δ = 9.42 (s, 1H), 8.63 (d, 1H), 8.42 (d, 1H), 7.79 (t, 1H), 7.35 (d, 1H), 7.09 (d, 2H), 6.70 (d, 2H), 6.61 (d, 1H), 5.08-5.00 (m, 1H), 3.76-3.70 (m, 2H), 2.87 (t,	0.16

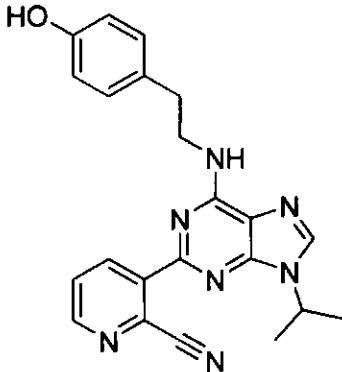
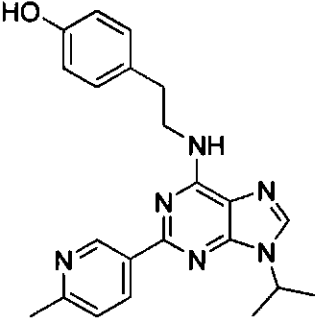
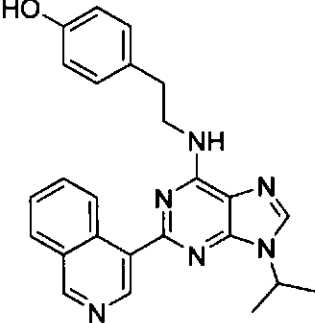
5

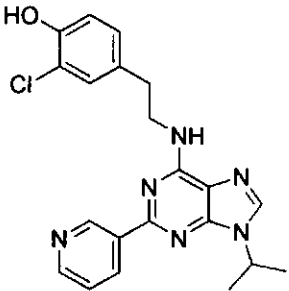
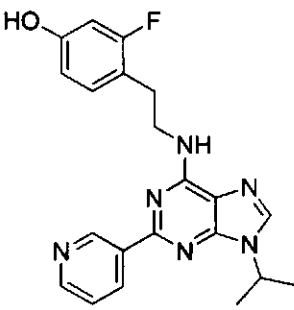
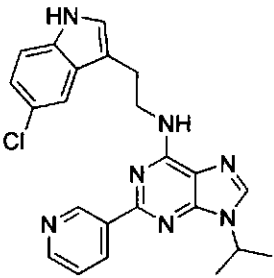
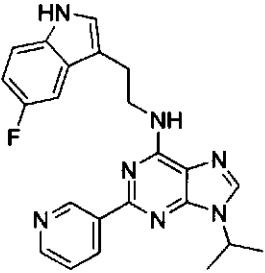
10

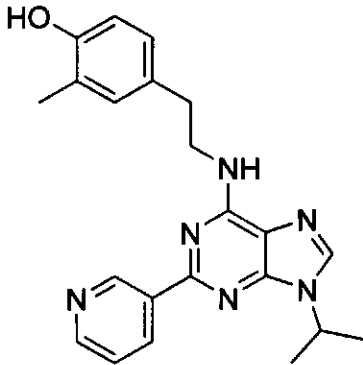
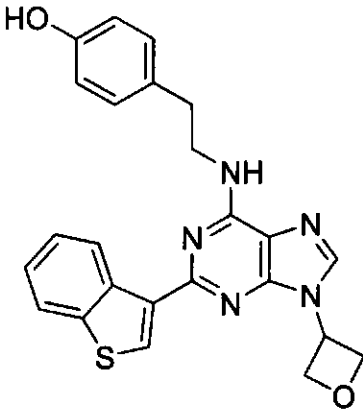
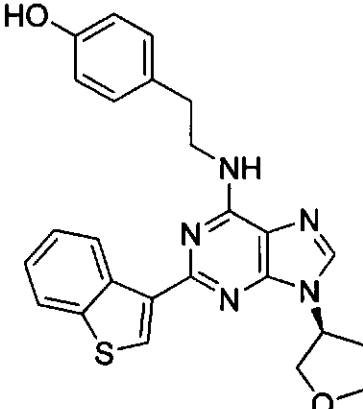
15

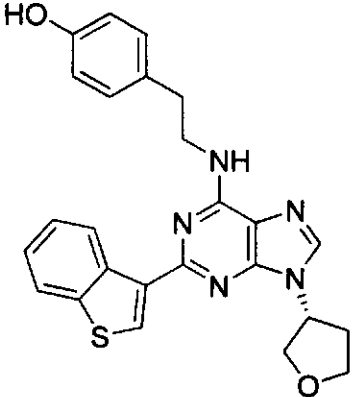
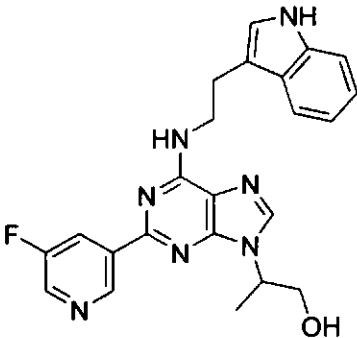
20

25

Ej. No.	Estructura	Datos Físicos ¹ H RMN y/o MS	EC ₅₀ (%CD34') μM
		2H), 1.47 (d, 6H); MS <i>m/z</i> 392.2 (M + 1)	
143		MS <i>m/z</i> 400.2 (M + 1)	4.3
144		MS <i>m/z</i> 389.2 (M + 1)	0.16
145		MS <i>m/z</i> 425.2 (M + 1)	5.4

Ej. No.	Estructura	Datos Fisicos ¹ H RMN y/o MS	EC ₅₀ (%CD34) μM
146		MS <i>m/z</i> 409.1 (M + 1)	0.24
147		MS <i>m/z</i> 393.2 (M + 1)	0.092
148		MS <i>m/z</i> 432.2 (M + 1)	0.75
149		MS <i>m/z</i> 416.2 (M + 1)	0.52

Ej. No.	Estructura	Datos Físicos ¹ H RMN y/o MS	EC ₅₀ (%CD34') μM
150		MS <i>m/z</i> 389.2 (M + 1)	0.057
151		MS <i>m/z</i> 444.1 (M + 1)	0.17
152		MS <i>m/z</i> 458.2 (M + 1)	0.35

Ej. No.	Estructura	Datos Físicos ¹ H RMN y/o MS	EC ₅₀ (%CD34) μM
153		¹ H RMN (400 MHz, CD ₃ OD): δ = 9.14 (s, 1H), 8.55 (s, 1H), 8.33 (s, 1H), 7.96 (d, 1H), 7.44 (t, 1H), 7.15 (d, 2H), 6.73 (d, 2H), 5.46-5.43 (m, 1H), 4.27-3.94 (m, 6H), 2.98 (t, 2H), 2.73-2.64 (m, 1H), 2.46-2.39 (m, 1H); MS <i>m/z</i> 458.2 (M + 1)	0.22
157		¹ H RMN (400 MHz, CD ₃ OD): δ = 9.40 (s, 1H), 8.53-8.48(m, 2H), 8.23 (s, 1H), 7.65 (d, 1H), 7.31 (d, 1H), 7.11 (s, 1H), 7.08-7.04 (m, 1H), 7.01-6.97 (m, 1H), 4.08-4.03 (m, 3H), 3.94 (dd, 1H), 3.35-3.30 (m,	0.005

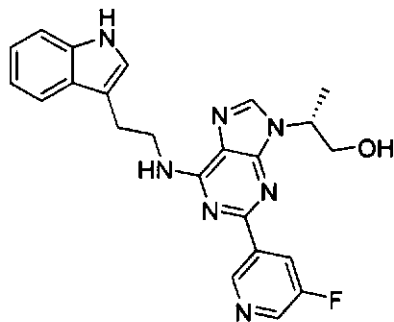
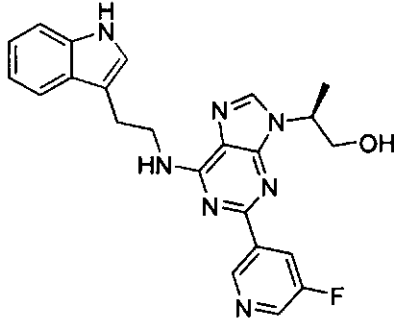
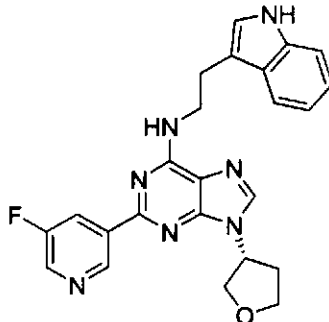
5

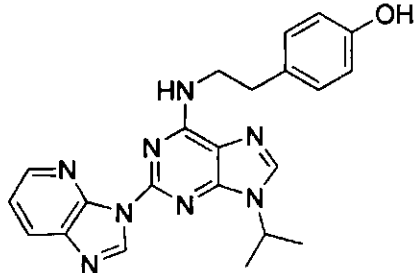
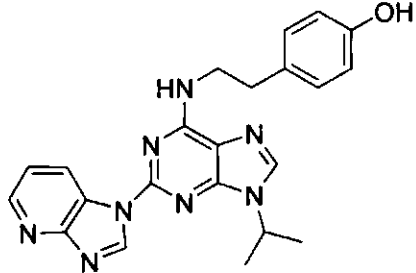
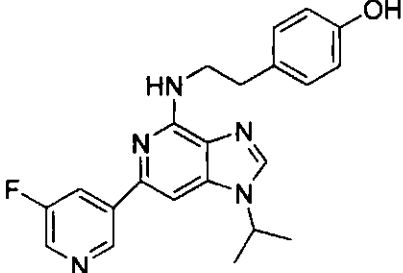
10

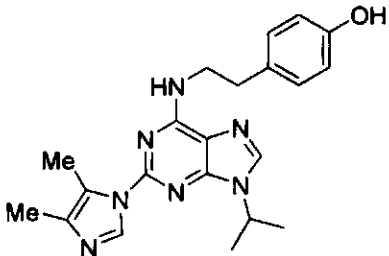
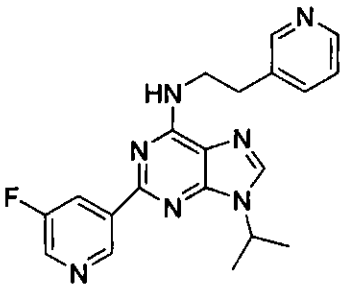
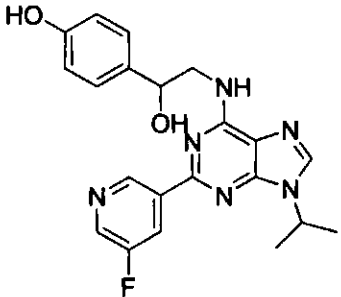
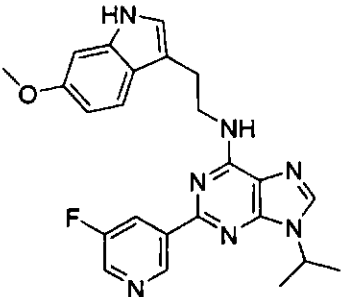
15

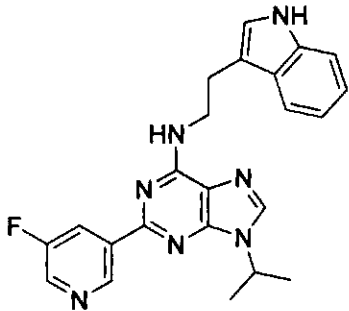
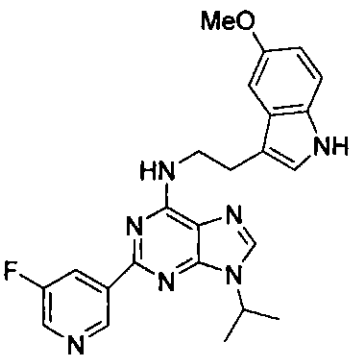
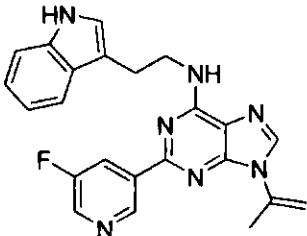
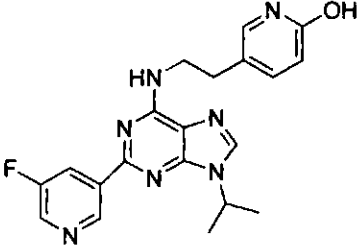
20

25

Ej. No.	Estructura	Datos Físicos ¹ H RMN y/o MS	EC ₅₀ (%CD34') μM
		1H), 3.19 (t, 2H), 1.68 (d, 3H); MS <i>m/z</i> 432.2 (M + 1)	
157R		MS <i>m/z</i> 432.2 (M + 1).	0.008
157S		MS <i>m/z</i> 432.2 (M + 1)	0.003
158		MS <i>m/z</i> 444.2 (M + 1)	0.012

Ej. No.	Estructura	Datos Físicos ¹ H RMN y/o MS	EC ₅₀ (%CD34*) μM
159		MS <i>m/z</i> 415.2 (M + 1)	0.59
160		MS <i>m/z</i> 415.2 (M + 1)	1.9
161		¹ H RMN (400 MHz, DMSO): δ = 9.11 (s, 1H), 8.64 (s, 1H), 8.51 (s, 1H), 8.30 (d, 1H), 7.74 (s, 1H), 7.09 (d, 2H), 6.69 (d, 2H), 4.88-4.76 (m, 1H), 3.88-3.78 (m, 2H), 2.88 (t, 2H), 1.56 (d, 6H); MS <i>m/z</i> 392.2 (M + 1)	0.17

Ej. No.	Estructura	Datos Físicos ¹ H RMN y/o MS	EC ₅₀ (%CD34) μM
5 162		MS <i>m/z</i> 392.2 (M + 1)	0.14
10 166		MS <i>m/z</i> 378.1 (M + 1)	7.5
15 167		MS <i>m/z</i> 409.2 (M + 1)	0.29
20 169		MS <i>m/z</i> 446.2 (M + 1)	0.044

Ej. No.	Estructura	Datos Físicos ¹ H RMN y/o MS	EC ₅₀ (%CD34) μM
170		MS <i>m/z</i> 416.2 (M + 1)	0.006
172		MS <i>m/z</i> 446.2 (M + 1)	0.42
173		MS <i>m/z</i> 414.1 (M + 1)	0.012
174		MS <i>m/z</i> 394.2 (M + 1)	2.2

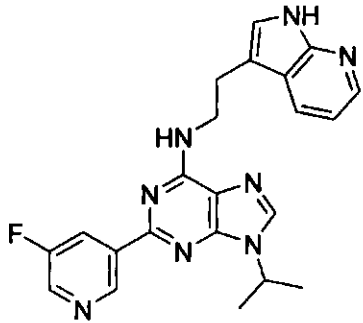
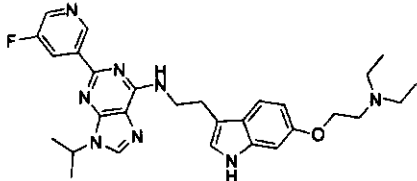
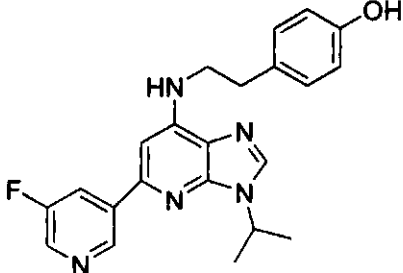
5

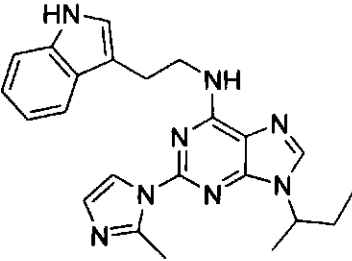
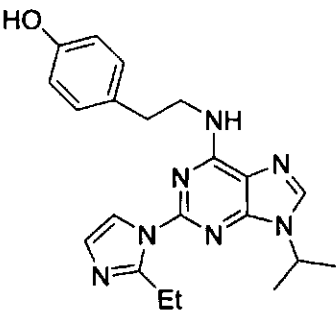
10

15

20

25

Ej. No.	Estructura	Datos Físicos ¹ H RMN y/o MS	EC ₅₀ (%CD34) μM
175		MS <i>m/z</i> 417.2 (M + 1)	0.42
176		MS <i>m/z</i> 531.3 (M + 1)	1.1
177		¹ H RMN (400 MHz, DMSO): δ = 9.18 (s, 1H), 9.15 (s, 1H), 8.57 (d, 1H), 8.29 (d, 1H), 8.26 (s, 1H), 7.11 (d, 2H), 7.01 (s, 1H), 6.79 (t, 1H), 6.95 (d, 2H), 4.92-4.84 (m, 1H), 3.72-3.62 (m, 2H), 2.83 (t, 2H), 1.56 (d, 6H); MS <i>m/z</i> 392.2 (M + 1)	0.14

Ej. No.	Estructura	Datos Físicos ¹ H RMN y/o MS	EC ₅₀ (%CD34) μM
178		¹ H RMN (400 MHz, DMSO): δ = 10.83 (s, 1H), 8.67 (t, 1H), 8.37 (s, 1H), 8.15 (d, 1H), 7.71 (d, 1H), 7.57 (d, 1H), 7.33 (d, 1H), 7.20 (s, 1H), 7.06 (t, 1H), 6.96 (t, 1H), 4.60-4.48 (m, 1H), 3.86-3.76 (m, 2H), 3.06 (t, 2H), 2.96 (s, 3H), 2.05-1.85 (m, 2H), 1.56 (d, 3H), 0.76 (t, 3H); MS <i>m/z</i> 415.2 (M + 1)	0.003
180		MS <i>m/z</i> 392.2 (M + 1)	0.13

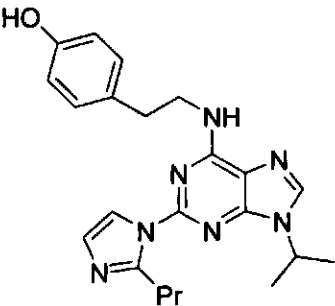
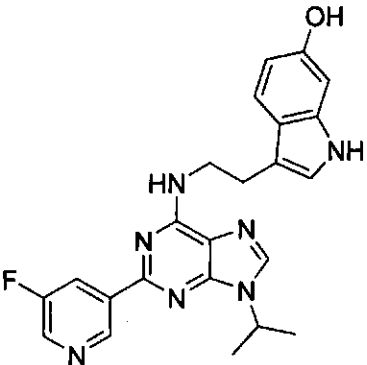
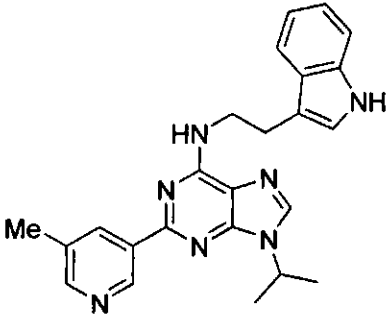
5

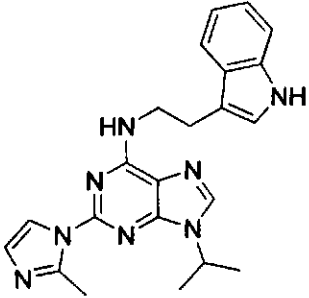
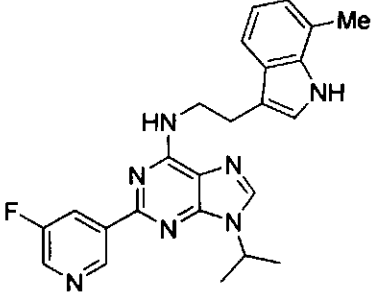
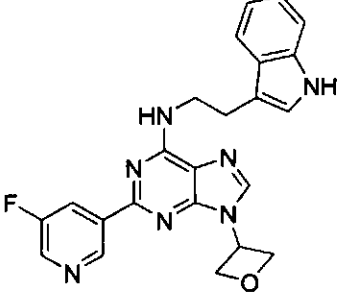
10

15

20

25

Ej. No.	Estructura	Datos Físicos ¹ H RMN y/o MS	EC ₅₀ (%CD34*) μM
181		MS <i>m/z</i> 406.2 (M + 1)	2.5
182		MS <i>m/z</i> 432.2 (M + 1)	5.1
183		¹ H RMN (400 MHz, DMSO): δ = 10.84 (s, 1H), 9.37 (s, 1H), 8.52 (s, 1H), 8.50 (s, 1H), 8.29 (s, 1H), 8.01 (t, 1H), 7.66 (d, 1H), 7.34 (d, 1H), 7.23 (m, 1H), 7.07 (t, 1H), 6.98 (t, 1H), 4.89-4.83 (m, 1H), 3.95-	0.01

Ej. No.	Estructura	Datos Físicos ¹ H RMN y/o MS	EC ₅₀ (%CD34) μM
5		3.85 (m, 2H), 3.09 (t, 2H), 2.41 (s, 3H), 1.58 (d, 6H); MS <i>m/z</i> 412.2 (M + 1)	
10	184 	MS <i>m/z</i> 401.2 (M + 1)	0.008
15	185 	MS <i>m/z</i> 430.2 (M + 1)	0.024
20	186 	MS <i>m/z</i> 430.2 (M + 1)	0.007
25			

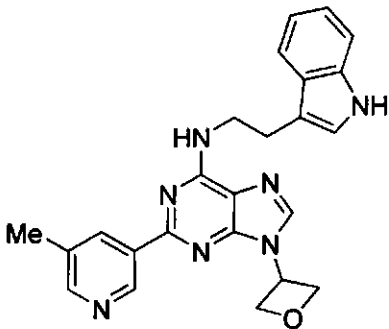
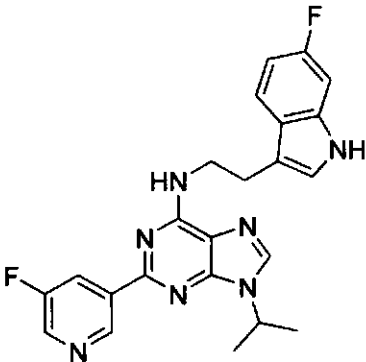
5

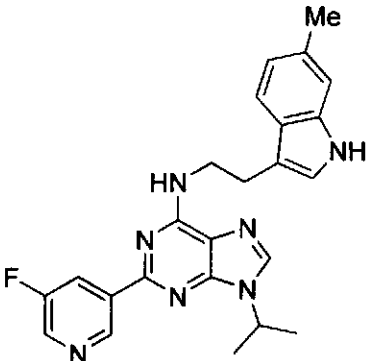
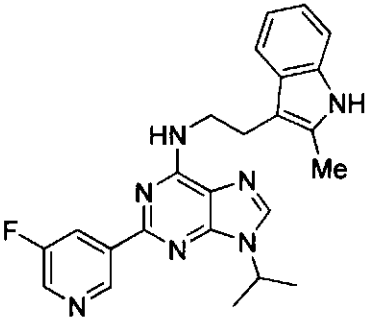
10

15

20

25

Ej. No.	Estructura	Datos Físicos ¹ H RMN y/o MS	EC ₅₀ (%CD34) μM
187		¹ H RMN (400 MHz, DMSO): δ = 10.84 (s, 1H), 9.38 (s, 1H), 8.49 (m, 1H), 8.47 (s, 1H), 8.10 (t, 1H), 7.67 (d, 1H), 7.35 (d, 1H), 7.22 (m, 1H), 7.07 (t, 1H), 6.98 (t, 1H), 5.85-5.78 (m, 1H), 5.17 (t, 2H), 5.03 (t, 2H), 3.84-3.84 (m, 2H), 3.09 (t, 2H), 2.40 (s, 3H); MS <i>m/z</i> 426.2 (M + 1)	0.034
188		MS <i>m/z</i> 434.2 (M + 1)	0.005

Ej. No.	Estructura	Datos Físicos ¹ H RMN y/o MS	EC ₅₀ (%CD34) μM
189		¹ H RMN (400 MHz, DMSO): δ = 10.65 (s, 1H), 9.42 (s, 1H), 8.68 (m, 1H), 8.41 (d, 1H), 8.34 (s, 1H), 8.08 (t, 1H), 7.53 (d, 1H), 7.12 (m, 2H), 6.81 (d, 1H), 4.90-4.81 (m, 1H), 3.93-3.80 (m, 2H), 3.05 (t, 2H), 2.38 (s, 3H), 1.58 (d, 6H); MS <i>m/z</i> 432.0 (M + 1)	0.026
190		¹ H RMN (400 MHz, DMSO): δ = 10.71 (s, 1H), 9.42 (s, 1H), 8.67 (d, 1H), 8.38 (dd, 1H), 8.32 (s, 1H), 8.05 (t, 1H), 7.55 (d, 1H), 7.21 (d, 1H), 6.98 (t, 1H), 6.93 (t, 1H), 4.92-4.83 (m, 1H),	0.005

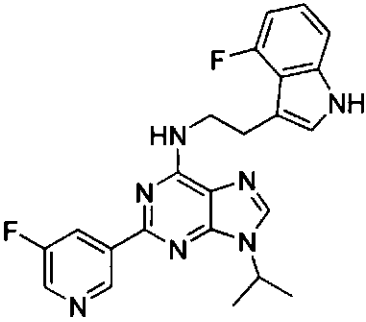
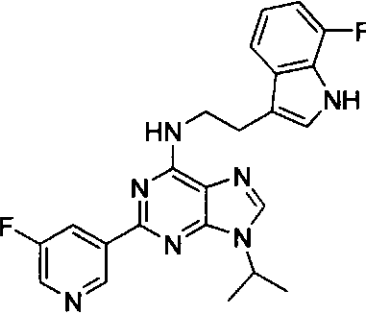
5

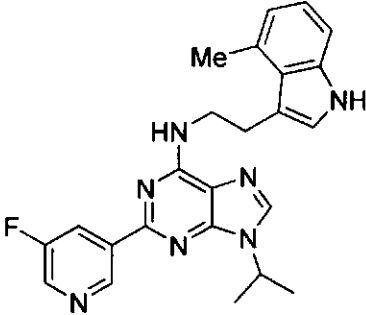
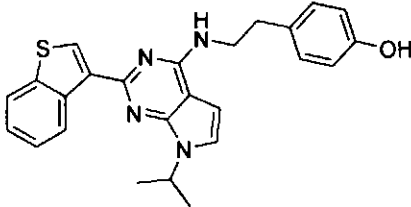
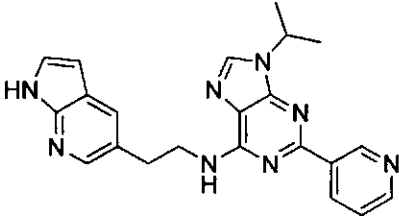
10

15

20

25

Ej. No.	Estructura	Datos Físicos ¹ H RMN y/o MS	EC ₅₀ (%CD34') μM
		3.78-3.71 (m, 2H), 2.99 (t, 2H), 2.33(s, 3H), 1.59(d, 6H); MS m/z 430.2 (M + 1)	
195		HPLC-MS calculada MS m/z 434.2 (M + 1)	0.003
196		MS m/z 434.2 (M + 1)	0.002

Ej. No.	Estructura	Datos Físicos ¹ H RMN y/o MS	EC ₅₀ (%CD34) μM
197		¹ H RMN (400 MHz, DMSO): δ = 10.79 (s, 1H), 9.37 (s, 1H), 8.64 (d, 1H), 8.39 (d, 1H), 8.31 (s, 1H), 8.06 (t, 1H), 7.15 (s, 1H), 7.13 (d, 1H), 6.90(t, 1H), 6.69 (d, 1H), 4.90-4.83 (m, 1H), 3.83-3.87 (m, 2H), 3.24 (t, 2H), 2.65(s, 3H), 1.57(d, 6H); MS m/z 430.2 (M + 1)	0.011
198		MS m/z 429.1 (M + 1)	1.1
199		MS m/z 399.2 (M + 1)	1.6

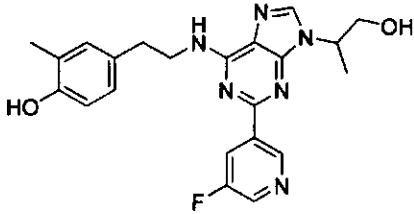
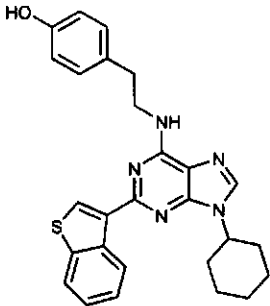
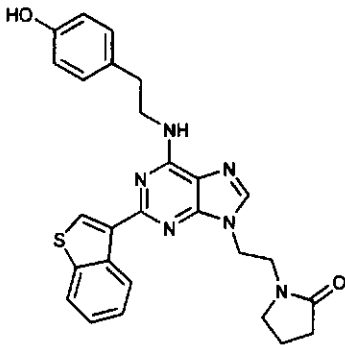
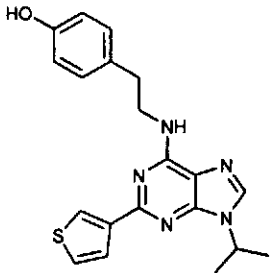
5

10

15

20

25

Ej. No.	Estructura	Datos Físicos ¹ H RMN y/o MS	EC ₅₀ (%CD34') μM
200		MS <i>m/z</i> 423.2 (M + 1)	0.001
201			
202			
203			

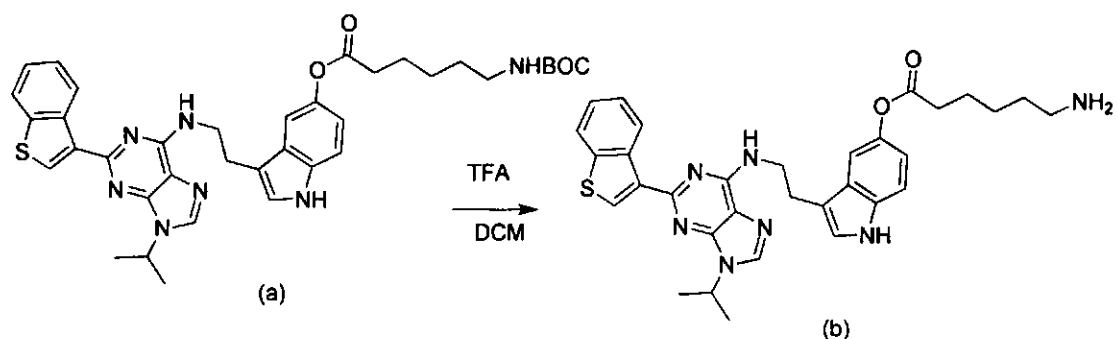
También se pueden preparar compuestos de sonda de afinidad relacionados con los compuestos de la invención, como se describen en los siguientes ejemplos.

5

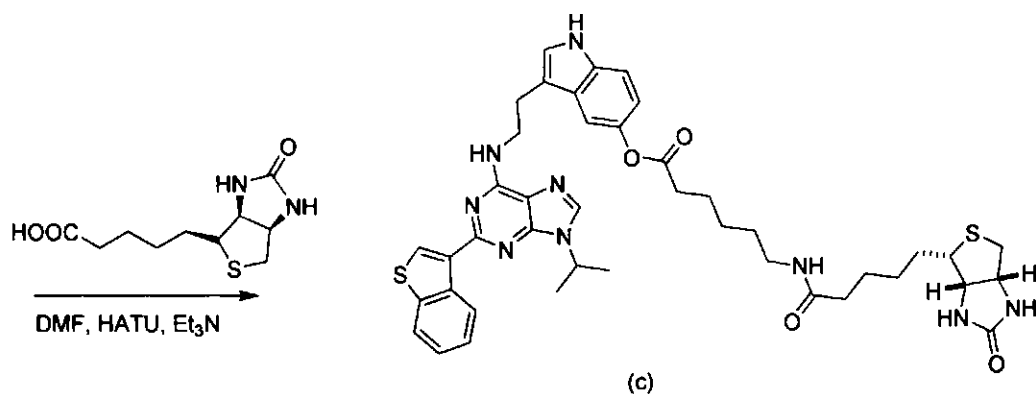
Ejemplo 210

6-(5-((3aS,4S,6aR)-2-oxo-hexahidro-1H-tieno-[3,4-d]-imidazol-4-il)-pentanamido)-hexanoato de 3-(2-(2-(benzo-[b]-tiofen-3-il)-9-isopropil-9H-purin-6-il-amino)-etil)-1H-indol-5-ilo

10



15



20

Síntesis de 6-amino-hexanoato de 3-(2-(2-(benzo-[b]-tiofen-3-il)-9-isopropil-9H-purin-6-il-amino)-etil)-1H-indol-5-ilo (e):

25

A una solución de 6-(terbutoxi-carbonil-amino)-hexanoato de 3-(2-(2-(benzo-[b]-tiofen-3-il)-9-isopropil-9H-purin-6-il-amino)-etil)-1H-indol-5-ilo (a) (80 miligramos, 0.117 milimoles) en dicloro-metano (20 mililitros), se le agregó ácido trifluoro-acético (5 mililitros). La
5 reacción se agitó a temperatura ambiente durante 3 horas. Se concentró. Se agregó una solución acuosa de carbonato de sodio, y la mezcla se extrajo con dicloro-metano. Las fracciones orgánicas se combinaron, se secaron sobre sulfato de sodio, y se concentraron, para proporcionar el producto como un aceite. MS m/z 582.2 ($M + 1$).

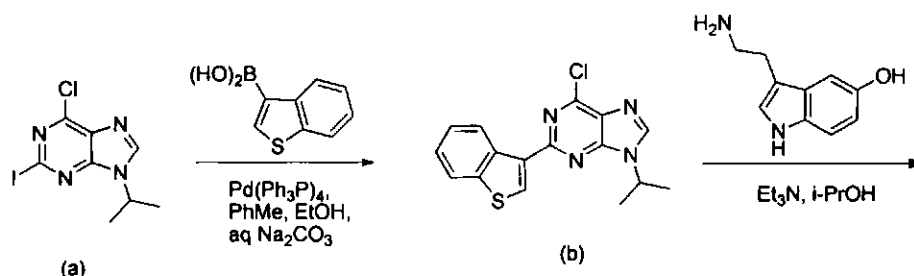
10 **Síntesis de 6-(5-((3aS,4S,6aR)-2-oxo-hexahidro-1H-tieno-[3,4-d]-imidazol-4-il)-pentanamido)-hexanoato de 3-(2-(2-(benzo-[b]-tiofen-3-il)-9-isopropil-9H-purin-6-il-amino)-etil)-1H-indol-5-ilo:**

A una solución de (+)-biotina (35 miligramos, 0.14 milimoles), y Et_3N (36 miligramos, 0.35 milimoles) en N,N-dimetil-formamida (1
15 mililitro), se le agregó HATU (90 miligramos, 0.24 milimoles). La mezcla se agitó durante 10 minutos, y entonces se agregó a una solución de (6-amino-hexanoato de 3-(2-(2-(benzo-[b]-tiofen-3-il)-9-isopropil-9H-purin-6-il-amino)-etil)-1H-indol-5-ilo (b) (68 miligramos, 0.12 milimoles) en N,N-dimetil-formamida (1 mililitro). La mezcla de
20 reacción se agitó durante 16 horas a temperatura ambiente, y entonces se concentró. El residuo se purificó mediante HPLC de fase inversa (columna C_{18} , eluyendo con $\text{MeOH-H}_2\text{O}$ y ácido trifluoro-acético al 0.05 por ciento), para proporcionar el compuesto del título como un sólido grisáceo. El Ejemplo 210 mostró un valor
25 de EC_{50} en el ensayo de porcentaje de CD34^+ de 2.1 μM .

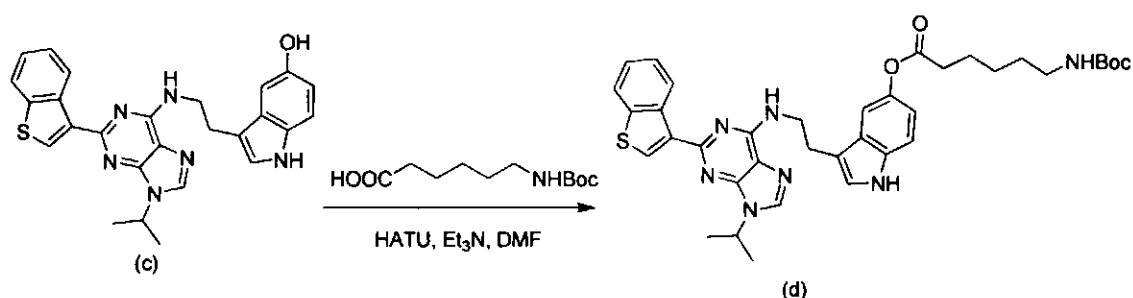
Ejemplo 211

6-(terbutoxi-carbonil-amino)-hexanoato de 3-(2-(2-(benzo-[b]-tiofen-3-il)-9-isopropil-9H-purin-6-il-amino)-etil)-1H-indol-5-ilo

5



10



15

Síntesis de 2-(benzo-[b]-tiofen-3-il)-6-cloro-9-isopropil-9H-purina
(b):

20 Siguiendo el procedimiento del Ejemplo 15d, la 6-cloro-2-yodo-9-isopropil-9H-purina (3.31 gramos, 0.0103 moles) se hizo reaccionar con ácido benzo-[b]-tiofen-3-il-borónico. El producto crudo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (del 20 al 50 por ciento de acetato de etilo en hexano), para proporcionar el compuesto del título como un sólido. MS m/z 329.0 ($M + 1$). ^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6): δ = 9.15 (d, 1H), 8.85 (s, 2H), 8.17 (d, 1H), 7.62 (t, 1H), 7.53 (t, 1H), 5.06 (m, 1H), 1.71 (d, 6H).

Síntesis de 3-(2-(2-(benzo-[b]-tiofen-3-il)-9-isopropil-9H-purin-6-il-amino)-etil)-1H-indol-5-ol (c):

Siguiendo el procedimiento del Ejemplo 15e, la 2-(benzo-[b]-tiofen-3-il)-6-cloro-9-isopropil-9H-purina (b) (80 miligramos, 0.243 milimoles) se hizo reaccionar con serotonina. La mezcla de reacción se concentró, y entonces se agregó una solución acuosa de bicarbonato de sodio. La mezcla se extrajo con acetato de etilo. Las fracciones orgánicas se combinaron, se secaron sobre sulfato de sodio, y se concentraron. El residuo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (eluyente del 0 al 5 por ciento de metanol en dicloro-metano), para proporcionar el compuesto del título como un sólido grisáceo. MS m/z 469.2 ($M + 1$).

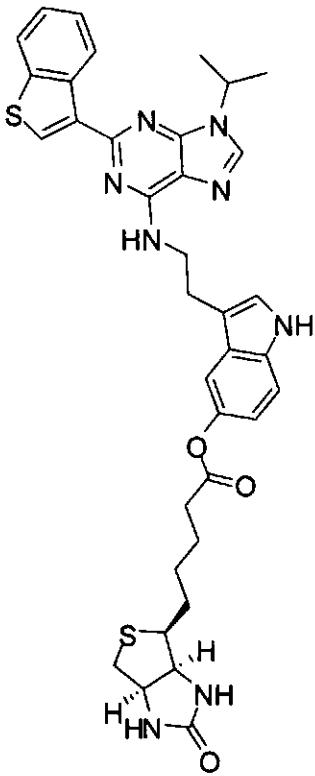
Síntesis de 6-(terbutoxi-carbonil-amino)-hexanoato de 3-(2-(2-(benzo-[b]-tiofen-3-il)-9-isopropil-9H-purin-6-il-amino)-etil)-1H-indol-5-ilo (d):

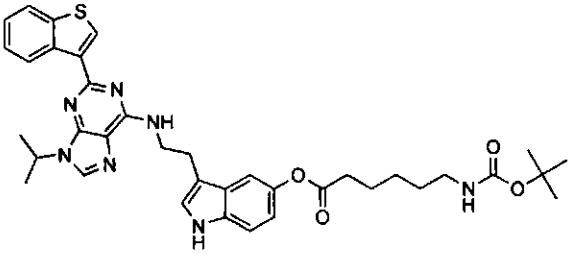
A una solución de 3-(2-(2-(benzo-[b]-tiofen-3-il)-9-isopropil-9H-purin-6-il-amino)-etil)-1H-indol-5-ol (55.5 miligramos, 0.119 milimoles), y ácido 6-(terbutoxi-carbonil-amino)-hexanoico (30 miligramos, 0.113 milimoles) en N,N-dimetil-formamida (3 mililitros), se le agregó Et_3N (24 miligramos, 0.237 milimoles), y HATU (90 miligramos, 0.237 milimoles). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 16 horas, y entonces se concentró. Se agregó agua, y la mezcla de reacción se extrajo con acetato de etilo. Las fracciones orgánicas se combinaron, se secaron sobre sulfato de sodio, y se concentraron. El residuo se purificó mediante

cromatografía en gel de sílice (eluyente del 0 al 5 por ciento de metanol en dicloro-metano), para proporcionar el compuesto del título como un sólido grisáceo.

Repitiendo los procedimientos descritos en los ejemplos anteriores, utilizando los materiales de partida apropiados, se obtienen las siguientes sondas de afinidad, como se identifican en la Tabla 2:

Tabla 2

Ejemplo Número	Estructura	Datos Físicos ¹ H RMN y/o MS
26		HRMS (EI) <i>m/z</i> 695.2585 (M + 1)

Ejemplo Número	Estructura	Datos Físicos ¹ H RMN y/o MS
		1H), 8.06 (d, 1H), 7.94 (bs, 1H), 7.77 (t, 1H), 7.39-7.48 (m, 2H), 7.28-7.34 (m, 3H), 6.79 (dd, 1H), 6.42 (bs, 1H), 4.85- 4.93 (m, 1H), 4.24- 4.28 (m, 1H), 4.07- 4.10 (m, 1H), 3.88- 3.92 (m, 2H), 3.01- 3.11 (m, 5H), 2.77 (dd, 1H), 2.53-2.57 (m, 1H), 2.00 (t, 2H), 1.63 (d, 6H), 1.23- 1.60 (m, 12H); MS <i>m/z</i> 808.3 (M + 1)
211		MS <i>m/z</i> 682.2 (M + 1).

Ejemplo Número	Estructura	Datos Físicos ¹ H RMN y/o MS
212		MS <i>m/z</i> 809.4 (M + 1)
213		MS <i>m/z</i> 758.4 (M + 1)
214		MS <i>m/z</i> 807.4 (M + 1)

Ensayos

Los siguientes ensayos se utilizan para evaluar la actividad de los compuestos de la invención con el objeto de facilitar la expansión de las células madre hematopoiéticas (HSC).

Las células madre hematopoiéticas humanas CD34⁺ adultas primarias (células madre hematopoiéticas) se cultivan y se rastrean para identificar los compuestos de la invención que faciliten la expansión de las células madre hematopoiéticas. Las células se
5 analizan para determinar la presencia del fenotipo deseado (la expresión de CD34). Los compuestos de la invención promueven la expansión de las células madre hematopoiéticas de una manera dependiente de la dosis.

Medio de cultivo: El medio StemSpan SFEM es un medio
10 sin suero (StemCell Technologies, Vancouver, BC) complementado con las siguientes citoquinas recombinantes humanas: trombopoietina, interleucina-6, ligando de Flt-3, y el factor de células madre (todos de R&D Systems, Minneapolis, MN), cada uno en una concentración final de 50 nanogramos/mililitro, con vehículo
15 (sulfóxido de dimetilo) o con un compuesto de la invención.

Cultivo de células humanas: La sangre periférica humana fresca de factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF) pasada por leucoforesis, movilizada a partir de donadores normales, las células CD34⁺ a partir de médula ósea adulta, y las células de
20 sangre de cordón humano CD34⁺ crioconservadas se adquieren en AllCells (Berkeley, CA). Las células CD34⁺ humanas se enriquecen a partir de la sangre periférica de factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF) pasada por leucoforesis, movilizada utilizando clasificación celular magnética (MACS, Direct CD34 Progenitor Cell
25 Isolation Kit, Miltenyi Biotec, Bergisch Gladbach, Alemania), y se

crioconservan. La pureza de las células CD34⁺, verificada mediante citometría de flujo, es mayor del 90 por ciento. Después de la congelación, la viabilidad celular probada mediante exclusión con azul de tripano, es mayor del 70 por ciento. Las células

5 descongeladas se centrifugan y se vuelven a suspender con el medio StemSpan antes de ponerse en alícuotas para el cultivo inmediato. Las células se aplican a 10⁴ células/mililitro en una placa de 384 pozos (Greiner Bio-one, Monroe, Carolina del Norte) con 50 microlitros del medio por pozo durante 7 días. Cada 7 días, las

10 células se transfieren a placas de pozos más grandes, y se agrega medio fresco para mantener la densidad celular entre 10⁴ y 5 × 10⁵ células/mililitro. Las células se cultivaron a 37°C en CO₂ al 5 por ciento. Para el trasplante, las células se cultivaron en matraces de 75 cm² antes de trasplantar las células en ratones. En una

15 concentración de 1 micromolar, el 4-(2-(2-(benzo-[b]-tiofen-3-il)-9-isopropil-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol (Compuesto 1, Tabla 1; Ejemplo 1), el 4-(2-(2-(benzo-[b]-tiofen-3-il)-9-sec-butil-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol (Compuesto 2, Tabla 1), y la N-(2-(1H-indol-3-il)-etil)-2-(benzo-[b]-tiofen-3-il)-9-isopropil-9H-purin-6-amina

20 (Compuesto 9, Tabla 1), cada uno da lugar a un aumento mayor de 10 veces en el número de células CD34⁺CD45RA⁻ derivadas a partir de 1,000 células madre hematopoiéticas CD34⁺ de mPB después de 21 días, comparándose con el vehículo. Los compuestos de la invención se ensayaron en un formato de respuesta a la dosis (de

25 1nM a 10μM), para determinar la concentración efectiva que

produjera el efecto deseado en el 50 por ciento de las células (EC₅₀). Los compuestos de la invención aumentaron el número total y/o el porcentaje de células CD34⁺ con una EC₅₀ de menos de 10µM. Los resultados se muestran en la Tabla 1 y en los Ejemplos anteriores.

Unidades formadoras de colonias en el ensayo de cultivo

(CFU-C): Las células mononucleares a 1,000 por mililitro para el cultivo de sangre de cordón de 5 semanas y para el cultivo de mPB de 3 semanas, y a 100 células por mililitro para el cultivo de CB de 3 semanas y para el cultivo de mPB de 1 semana, se agregaron al medio de metil-celulosa sin suero MethoCult SF H4436 que contenía metil-celulosa en MDM de Iscove, albúmina de suero bovino, 2-mercapto-etanol, L-glutamina, transferrina humana (saturada de hierro), insulina humana recombinante, y citoquinas humanas recombinantes: factor de células madre, GM-CSF, IL-3, IL-6, G-CSF, y eritropoietina (StemCell Technologies). El MethoCult se complementa con las siguientes citoquinas recombinantes humanas: trombopoietina y ligando de Flt-3 (R&D Systems), cada uno en una concentración final de 50 nanogramos/mililitro. Después de la agitación, la mezcla se divide en tres platos de 35 milímetros. Los platos se incuban durante 14 días a 37°C en una atmósfera humidificada de CO₂ al 5 por ciento en aire. Al final del período de incubación, se cuentan las colonias mieloides y eritroides bajo un microscopio invertido a una amplificación 40X. El contenido de CFU-C del cultivo de expansión se calcula como sigue: número colonias

marcadas por tres platos x número total de células mononucleares /
número de células introducidas. Hasta una semana, las células
mononucleares totales se determinan multiplicando el número de
células por mililitro x el volumen del cultivo. A partir de la semana 1
5 en adelante, también se toma en cuenta el número de pasadas. Los
cultivos tratados con el 4-(2-(2-(benzo-[b]-tiofen-3-il)-9-isopropil-9H-
purin-6-il-amino)-etil)-fenol (Compuesto 1, Tabla 1; Ejemplo 1) en
una concentración de 1 micromolar, generaron un aumento mayor de
10 veces en el número de células formadoras de colonias después
10 de 21 días de cultivo de células mPB CD34⁺, comparándose con el
vehículo. Utilizando 1 x 10³ células CB CD34⁺ tratadas con el 4-(2-
(2-(benzo-[b]-tiofen-3-il)-9-isopropil-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol
(Compuesto 1, Tabla 1; Ejemplo 1) en una concentración de 1
micromolar, tomadas a partir del cultivo de la semana 5, se mostró
15 un aumento >10 veces en las unidades formadoras de colonias,
comparándose con el control. Las células tratadas con el 4-(2-(2-
(benzo-[b]-tiofen-3-il)-9-isopropil-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol
(Compuesto 1, Tabla 1; Ejemplo 1) generaron más colonias mixtas
asociadas con un aumento de >10 veces en las colonias de
20 eritrocitos, un aumento de >10 veces en las colonias de
granulocitos/macrófagos, y un aumento de >10 veces en las colonias
de macrófagos. Las células tratadas con el 4-(2-(2-(benzo-[b]-tiofen-
3-il)-9-isopropil-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol (Compuesto 1, Tabla
1; Ejemplo 1) también dan lugar a colonias mixtas de granulocitos /
25 eritrocitos / monocitos / macrófagos, las cuales no se observan en

las colonias derivadas a partir de los cultivos no tratados.

Ensayos de células formadoras de áreas de guijarros (CAFC): Las células estromales FBMD-1 se mantienen en matraces de 25 cm² y se tripsinizan después de una confluencia de 1/3. A medida que esta línea no transformada envejece, y por consiguiente, pierde gradualmente su potencial para soportar el crecimiento de las células formadoras de áreas de guijarros (CAFC) en las etapas posteriores, se utilizan todos los alimentadores debajo del pasaje 20. Para soportar el crecimiento de las células formadoras de áreas de guijarros (CAFC) en las placas de 96 pozos, se siembran 1×10^3 células estromales por pozo. Los cultivos se mantienen en un medio de Iscove complementado con suero fetal de becerro al 10 por ciento (FCS), suero de caballo al 2.5 por ciento (HS), L-glutamina al 1 por ciento, penicilina-estreptomicina al 1 por ciento, e hidrocortisona 1×10^{-5} M a 37°C, en una atmósfera humidificada de CO₂ al 5 por ciento en aire. Después de que las capas estromales alcanzan la confluencia, se inoculan con células madre hematopoiéticas CD34⁺ que se han cultivado durante 5 días con vehículo o con un compuesto de la invención. Las células mononucleares se agregan a 8 diluciones de 1:3 en serie (empezando a 25,000 células/pozo), con 10 pozos para cada dosis de células. Las diluciones con los pozos con cuando menos un clon hematopoiético en fase oscura (área de guijarros) de cuando menos cinco células detrás de la capa estromal, se determinan en la semana 4. En una concentración de prueba de 1 micromolar, el 4-(2-(2-(benzo-[b]-tiofen-3-il)-9-isopropil-

9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol (Compuesto 1, Tabla 1; Ejemplo 1), estimula un aumento mayor de 2 veces en el número de células formadoras de áreas de gujarros derivadas a partir de células madre hematopoiéticas mPB CD34⁺ después de 5 días de cultivo, comparándose con los cultivos de control que se tratan con sulfóxido de dimetilo solamente.

Análisis de antígeno superficial: Las células se lavan con el medio de tñido (solución de sal balanceada de Hanks que contiene suero bovino fetal (al 2 por ciento) y EDTA (2 mM)), y se tiñen (a 4°C durante 30 minutos) con los anticuerpos conjugados primarios indicados. Las células se lavan en el regulador anteriormente descrito, y se analizan utilizando un citómetro de flujo BD LSR II (Becton Dickinson, San José, CA). Las células se pasan a una velocidad de hasta 1,000 células/segundo, utilizando haces de láser de argón de 488 nanómetros y de HeNe de 633 nanómetros como la fuente de luz para la excitación. La emisión de 10⁴ células se mide utilizando amplificación logarítmica, y se analiza utilizando el software FlowJo (TreeStar Inc. Ashland, OR). Las células teñidas con los anticuerpos de control de isotipo conjugados primarios se utilizan para determinar la fluorescencia del fondo.

Determinación de subconjuntos de células CD34⁺: Los porcentajes de los subconjuntos de células CD34⁺ se determinan a partir de alícuotas del cultivo celular. Las células se tiñeron con APC anti-Thy1.1, PerCP anti-CD34, PECy7 anti-CD45RA, FITC anti-CD38, y PE anti-CD133 para la determinación de las células CD34⁺Thy1.1⁺,

CD34⁺CD45RA⁻, CD34⁺CD38⁻, CD133⁺CD38⁻ y CD34⁺CD133⁺. Los anticuerpos para CD34, CD38, Thy1.1 y CD45RA se adquirieron en Becton Dickinson, y los anticuerpos para CD133 se adquirieron en Miltenyi Biotec. Los resultados del análisis FACS de estos subconjuntos se dan como un porcentaje de la población total. El número absoluto de cada población de células en el cultivo se calcula a partir del número total de células multiplicado por el porcentaje de cada población. Empezando con las células CB CD34⁺, después de cinco semanas, el número total de células en los cultivos aumenta en promedio más de 2 veces en las células tratadas con el 4-(2-(2-(benzo-[b]-tiofen-3-il)-9-isopropil-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol (Compuesto 1, Tabla 1; Ejemplo 1) 1 micromolar, comparándose con los cultivos de control. De manera más importante, >50 por ciento de las células cultivadas con el 4-(2-(2-(benzo-[b]-tiofen-3-il)-9-isopropil-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol (Compuesto 1, Tabla 1; Ejemplo 1) fueron CD34⁺, comparándose con <10 por ciento de las células cultivadas con vehículo, dando como resultado una expansión mayor de 10 veces de las células CD34⁺, comparándose con el control, y una expansión mayor de 10,000 veces, comparándose con las células introducidas. En adición, la presencia del 4-(2-(2-(benzo-[b]-tiofen-3-il)-9-isopropil-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol 1 micromolar (Compuesto 1, Tabla 1; Ejemplo 1) aumentó tanto el porcentaje como los números totales de las subpoblaciones de CD34⁺: CD34⁺CD45RA⁻, CD34⁺CD38⁻, CD133⁺CD38⁻, y CD34⁺CD133⁺, dando como resultado una expansión neta de más

de 30 veces para cada subconjunto.

Trasplante de células CD34⁺ humanas en ratones NOD.CB17-Prkdc^{scid} (NOD/SCID): Para evaluar la capacidad de repoblación *in vivo* de las células CD34⁺ y su progenie cultivada, las células CD34⁺ no cultivadas, o las progenies de las células CD34⁺ cultivadas después de 4 días (mPB) o de 21 días (CB) con vehículo o con un compuesto de prueba, se inyectaron intravenosamente por medio de la vía retro-orbital en ratones NOD/SCID (para los experimentos de células madre hematopoiéticas mPB) o NOD/SCIDgc^{-/-} (para los experimentos de células madre hematopoiéticas CB) de 8 a 10 semanas de edad, sub-letalmente irradiados (3.0 Gy). Con el objeto de monitorear el injerto, se extrajo sangre semanalmente por la vía retro-orbital, y se trató con solución de lisis de eritrocitos (Qiagen, Valencia, CA), para remover los glóbulos rojos sanguíneos, se lavó con el medio de tñido, y se analizó mediante citometría de flujo. El injerto se midió mediante la detección de las células CD45⁺ anti-humano en la sangre. Los ratones se sacrifican a las 10 semanas después del trasplante; las BM se recolectan a partir de ambos fémures y tibias. Las células BM se lavan en el medio de tñido, y se tiñen con los anticuerpos anti-humano. En seguida de la incubación, la suspensión se trata con solución de lisis de eritrocitos (Qiagen, Valencia, CA) para remover los glóbulos rojos sanguíneos, se lava con el medio de tñido, y se analiza mediante citometría de flujo, como se describe anteriormente. Las células madre hematopoiéticas derivadas tanto

de mPB como de CB, cultivadas con el 4-(2-(2-(benzo-[b]-tiofen-3-il)-9-isopropil-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol (Compuesto 1, Tabla 1; Ejemplo 1) en una concentración de 1 micromolar, dan lugar a un aumento estadísticamente significativo en el porcentaje de células humanas 10 semanas después del injerto.

Identificación de Objetivo

Con el fin de identificar el mecanismo mediante el cual un compuesto de la invención expande las células madre hematopoiéticas en un estado no diferenciado, se hace una perfilación de transcripción de todo el genoma de las células CD34⁺ derivadas de mPB tratadas durante 24 horas con el Ejemplo 1, y con un análogo menos activo (aproximadamente 20 veces) del Ejemplo 1 (2-(benzo-[b]-tiofen-3-il)-N-(3-(3,5-dimetil-1H-pirazol-4-il)-propil)-9-isopropil-9H-purin-6-amina). De los >50,000 conjuntos de sonda analizados, solamente se sobre-regularon 5 genes más de 3 veces después del tratamiento con el Ejemplo 1, y la mayoría también fueron inducidos hasta algún grado mediante el análogo inactivo. En adición, 5 genes se sub-regularon por >70 por ciento después del tratamiento con 1 μ M del Ejemplo 1. Todos fueron sub-regulados de una forma dependiente de la dosis, y ninguno fue significativamente afectado por el análogo inactivo. Los dos genes que fueron los más altamente reprimidos mediante el tratamiento con el Ejemplo 1 (citocromo P450 1B1 [CYP1B1] y el represor del receptor de hidrocarburo de arilo [AHRR]) son regulados transcripcionalmente por el receptor de hidrocarburo de arilo (AHR). Por consiguiente, los

compuestos de la invención podrían estar actuando como un antagonista de la señalización del receptor de hidrocarburo de arilo.

Además, se determinó la capacidad del Ejemplo 1 para bloquear la expresión del ARNm de CYP1B1 mediada por la 2,3,7,8-
5 tetracloro-dibenzo-p-dioxina (TCDD, dioxina) mediante qPCR en las células CD34⁺ derivadas de mPB. El tratamiento con la 2,3,7,8-tetracloro-dibenzo-p-dioxina (3 nM) causó un aumento de 4.5 veces en el nivel de ARNm de CYP1B1, comparándose con el control de vehículo (tolueno al 0.01 por ciento). Este aumento fue inhibido por
10 el Ejemplo 1 de una manera dependiente de la dosis, indicando que los compuestos de la invención pueden antagonizar la señalización del receptor de hidrocarburo de arilo. Con el objeto de determinar los efectos del Ejemplo 1 sobre la transcripción del receptor de hidrocarburo de arilo, se probó la capacidad del Ejemplo 1 para
15 inhibir un ensayo de gen reportero de luciferasa dependiente del receptor de hidrocarburo de arilo inducido por dioxina. La inclusión del Ejemplo 1 (1 μ M) abolió completamente la transcripción dependiente del receptor de hidrocarburo de arilo inducido por dioxina cuando se utilizó sobre células que expresaban el receptor
20 de hidrocarburo de arilo humano. La titulación del Ejemplo 1 reveló una EC₅₀ de 127 nM, demostrando que el Ejemplo 1 es un potente antagonista del receptor de hidrocarburo de arilo. Es interesante que el Ejemplo 1 solamente inhibió de una forma débil la transcripción inducida por dioxina en las células de murino, y no tuvo actividad
25 alguna sobre las células de rata, sugiriendo que el Ejemplo 1 inhibe

de una manera preferencial el receptor de hidrocarburo de arilo humano. Esto se correlaciona con una falta de actividad del Ejemplo 1 sobre las células madre hematopoiéticas de murino, y puede explicar la selectividad de la especie del Ejemplo 1. Finalmente, el

5 Ejemplo 1 solamente tuvo una actividad agonista débil sobre las células de murino o de rata, y fracasó para inducir la transcripción dependiente del receptor de hidrocarburo de arilo en las células humanas.

Para explorar adicionalmente el papel de la señalización del

10 receptor de hidrocarburo de arilo en las células madre hematopoiéticas, se probaron otros dos antagonistas del receptor de hidrocarburo de arilo (alfa-naftoflavona y CH-223191). Ambos compuestos conducen a aumentos dependientes de la dosis en el número de células CD34⁺ cuando se cultivan con células CD34⁺

15 derivadas de mPB durante 7 días: La inclusión de CH223191 1µM proporcionó una expansión de 2.2 veces de las células CD34⁺; la α-naftoflavona 0.75 µM proporcionó una expansión de 1.9 veces de las células CD34⁺, mientras que el Ejemplo 1 0.75 µM proporcionó una expansión de 3.4 veces de las células CD34⁺ totales. Para mostrar

20 un papel directo para el receptor de hidrocarburo de arilo en la expansión de las células madre hematopoiéticas inducida por el Ejemplo 1, las células madre hematopoiéticas CD34⁺ derivadas de CB humanas se trataron con partículas lentivirales que contenían un receptor de hidrocarburo de arilo dirigido hacia el shARN, que co-

25 expresaba la GFP o el virus de control. Cuarenta y ocho horas en

seguida de la transducción, las células CD34⁺GFP⁺ se purificaron mediante selección de células, y se determinaron los niveles del receptor de hidrocarburo de arilo mediante qPCR. Ambos shARNs dirigidos al receptor de hidrocarburo de arilo condujeron a disminuciones en la expresión del receptor de hidrocarburo de arilo en seguida de la transducción (81 por ciento con sh111 y 51 por ciento con sh242). Estas disminuciones no se vieron en las células que carecían de GFP ni en las células transducidas con el virus de control. Las células CD34⁺ derivadas de CB con una expresión reducida del receptor de hidrocarburo de arilo exhibieron un fenotipo similar a las células tratadas con el Ejemplo 1 con una expresión sostenida de CD34⁺. Estos datos muestran que la inhibición de la actividad del receptor de hidrocarburo de arilo mediante un compuesto de la invención es suficiente para promover la expansión *ex-vivo* de las células madre hematopoiéticas.

Método para expandir las células madre hematopoiéticas a partir de sangre neonatal de cordón umbilical humano

El medio de cultivo utilizado es StemSpan SFEM (StemCell Technologies, Cat. #09650) complementado con las siguientes citoquinas humanas recombinantes: TPO, IL6, ligando de Flt3, y SCF, cada uno en una concentración final de 50 nanogramos/mililitro. El medio de cultivo se prepara fresco el día de su uso.

Dilución del compuesto en el medio: Se utiliza un concentrado de 10,000x de un compuesto de la invención para las diluciones. La adición del compuesto al medio de cultivo ocurre en

dos pasos. El primer paso es una dilución de 1:100 (10 microlitros de concentrado 10,000x en 990 microlitros del medio de cultivo completo (que contiene citoquinas) en un tubo Eppendorf de 1.5 mililitros [USA Scientific, Cat #1615-5500]) para generar una
5 solución 100x del compuesto en el medio de cultivo. El segundo paso es una dilución de 1:100 en el medio de cultivo, que se utilizará para iniciar el cultivo celular. El volumen del cultivo es variable dependiendo del número de células CD34⁺ de sangre de cordón (CB) introducidas. Por ejemplo, se siembran 1x10⁶ células
10 CD34⁺ de sangre de cordón en 20 mililitros del medio (5x10⁴ células/mililitro). En este caso, se agregan 200 microlitros de la solución del Ejemplo 1 100x a los 20 mililitros del medio, en un tubo cónico de 50 mililitros (Becton Dickinson, Cat #352098) para alcanzar la concentración final (véase la Tabla 3).

15 **Inicio de cultivo celular:** Se utilizan células CD34⁺ de sangre de cordón humano purificadas para los experimentos de expansión *ex vivo*. Después de la descongelación, la viabilidad celular, probada mediante exclusión de azul de tripano, es mayor del 50 por ciento. Las células descongeladas se diluyen 5 veces con el
20 medio de cultivo (sin citoquinas ni compuestos de la invención, tal como el Ejemplo 1), y se centrifugan a 300 g a 25°C durante 8 minutos. Después de aspirar el sobrenadante, el gránulo se vuelve a suspender con el volumen apropiado de medio de cultivo (5 x 10⁴ células/mililitro, Tabla 3) antes de inyectarse (aguja calibre 22, Air-
25 Tite Products; jeringa de 20 mililitros, BD cat # 309661) en bolsas de

AFC (Tabla 5) para su cultivo inmediato. Las células se cultivan a 37°C en CO₂ al 5 por ciento.

Adición del medio al cultivo celular: Para volúmenes del medio de hasta 80 mililitros, se emplea el procedimiento anterior (dilución del compuesto en el medio). Para volúmenes del medio mayores de 80 mililitros, la primera dilución a 1:100 se lleva a cabo en tubos cónicos de 10 mililitros (Corning, Cat #430052, Tabla 4). El segundo paso es una dilución a 1:100 en el medio de cultivo, en recipientes estériles (BD Falcon, Cat #354015), la cual se agrega a la bolsa de AFC (aguja calibre 22, Air-Tite Products; jeringa de 60 mililitros, BD cat # 309653).

Tabla 3
Diluciones del Ejemplo 1 para la expansión de las células CD34⁺ de partida derivadas de sangre de cordón

Número de células CD34 ⁺ derivadas de sangre de cordón (x 10 ⁶)	Volumen inicial del medio de cultivo (mL)	Volumen del Ejemplo 1 100x (µL) necesario	Volumen del Ejemplo 1 100x para preparar (mL)	Volumen del Ejemplo 1 10,000x necesario (µL)
0.25	5	50	1	10
0.50	10	100	1	10

	Número de células CD34 ⁺ derivadas de sangre de cordón (x 10 ⁶)	Volumen inicial del medio de cultivo (mL)	Volumen del Ejemplo 1 100x (µL) necesario	Volumen del Ejemplo 1 100x para preparar (mL)	Volumen del Ejemplo 1 10,000x necesario (µL)
5	0.75	15	150	1	10
	1.00	20	200	1	10
10	1.25	25	250	1	10
	1.50	30	300	1	10
15	1.75	35	350	1	10
	2.00	40	400	1	10
20	2.50	50	500	1	10
	3.00	60	600	1	10
25	4.00	80	800	1	10

Tabla 4

Diluciones del Ejemplo 1 en el medio de adición para la expansión de la células CD34⁺ derivadas de sangre de cordón

5	Volumen del medio a agregar (mL)	Volumen del Ejemplo 1 100x (µL) necesario	Volumen del Ejemplo 1 100x para preparar (mL)	Volumen del Ejemplo 1 10,000x necesario (µL)
	10.00	100	1	10
10	20.00	200	1	10
	30.00	300	1	10
	40.00	400	1	10
15	50.00	500	1	10
	60.00	600	1	10
	70.00	700	1	10
20	80.00	800	1	10
	100.00	1,000	5	50
	120.00	1,200	5	50
25	160.00	1,600	5	50

5

10

Volumen del medio a agregar (mL)	Volumen del Ejemplo 1 100x (µL) necesario	Volumen del Ejemplo 1 100x para preparar (mL)	Volumen del Ejemplo 1 10,000x necesario (µL)
250.00	2,500	5	50
500.00	5,000	10	100
750.00	7,500	10	100
1,000.00	10,000	10	100

Tabla 5

Restricciones de volumen para las bolsas de American Fluoroseal Corporation

15

20

25

Número de catálogo de bolsa de AFC	Volumen para una expansión óptima (mL)	Volumen máximo de la bolsa (mL)
1PF-0007	7	7
2PF-0032	32	32
2PF-0072	71	130
2PF-0118	118	245

	Número de catálogo de bolsa de AFC	Volumen para una expansión óptima (mL)	Volumen máximo de la bolsa (mL)
5	2PF-0197	179	580
	2PF-0225	225	665
	2PF-0270	270	960
10	2PF-750C	750	

Se puede emplear el mismo protocolo empezando a partir de células de sangre periférica movilizada de un paciente para trasplante de injerto autólogo.

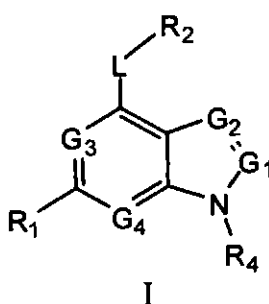
15 También se puede preparar una composición que comprenda una población de las células con células madre hematopoiéticas expandidas apropiadas para administración intravenosa como una infusión. Para preparar las células para infusión, las células cultivadas se granulan mediante centrifugación durante 10 minutos a
20 300 g, y se vuelven a suspender en el regulador de infusión, el cual consiste en albúmina de suero humano al 5 por ciento (Baxter) en una concentración de entre 10⁶ y 10⁸ células/mililitro.

Se entiende que los Ejemplos y las modalidades descritas en la presente son para propósitos ilustrativos solamente, y que se
25 sugerirán diferentes modificaciones o cambios a la luz de las

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de la fórmula I:

5



en donde:

10

G_1 se selecciona a partir de N y CR_3 ;

G_2 , G_3 y G_4 se seleccionan independientemente a partir de CH y N; con la condición de que cuando menos uno de G_3 y G_4 es N; con la condición de que G_1 y G_2 no son ambos N;

15

L se selecciona a partir de $-NR_{5a}(CH_2)_{0-3}-$, $-NR_{5a}CH(C(O)OCH_3)CH_2-$, $-NR_{5a}(CH_2)_2NR_{5b}-$, $-NR_{5a}(CH_2)_2S-$, $-NR_{5a}CH_2CH(CH_3)CH_2-$, $-NR_{5a}CH_2CH(OH)-$ y $-NR_{5a}CH(CH_3)CH_2-$; en donde R_{5a} y R_{5b} se seleccionan independientemente a partir de hidrógeno y alquilo de 1 a 4 átomos de carbono;

20

R_1 se selecciona a partir de hidrógeno, fenilo, tiofenilo, furanilo, 1H-benzo-imidazolilo, isoquinolinilo, 1H-imidazo-piridinilo, benzo-tiofenilo, pirimidinilo, 1H-pirazolilo, piridinilo, 1H-imidazolilo, pirrolidinilo, pirazinilo, piridazinilo, 1H-pirrolilo y tiazolilo; en donde estos fenilo, tiofenilo, furanilo, 1H-benzo-imidazolilo, isoquinolinilo, 1H-imidazo-piridinilo, benzo-tiofenilo, pirimidinilo, 1H-pirazolilo, piridinilo, 1H-imidazolilo, pirrolidinilo, pirazinilo, piridazinilo, 1H-

25

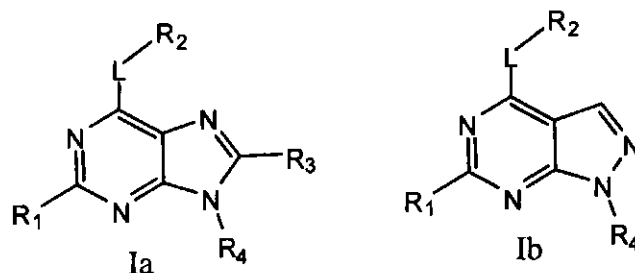
pirrolilo o tiazolilo de R_1 pueden estar opcionalmente sustituidos por 1 a 3 radicales seleccionados independientemente a partir de ciano, hidroxilo, alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, alcoxilo de 1 a 4 átomos de carbono, halógeno, alquilo de 1 a 4 átomos de carbono sustituido por halógeno, alcoxilo de 1 a 4 átomos de carbono sustituido por halógeno, hidroxilo, amino, $-C(O)R_{8a}$, $-S(O)_{0-2}R_{8a}$, $-C(O)OR_{8a}$ y $-C(O)NR_{8a}R_{8b}$; en donde R_{8a} y R_{8b} se seleccionan independientemente a partir de hidrógeno y alquilo de 1 a 4 átomos de carbono; con la condición de que R_1 y R_3 no son ambos hidrógeno;

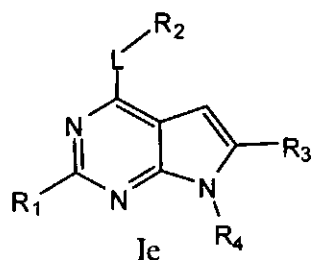
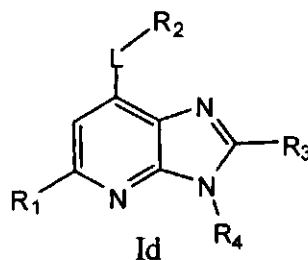
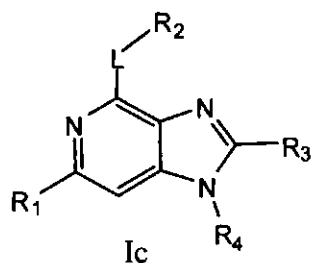
R_2 se selecciona a partir de $-S(O)_2NR_{6a}R_{6b}$, $-NR_{9a}C(O)R_{9b}$, $-NR_{6a}C(O)NR_{6b}R_{6c}$, fenilo, 1H-pirrolo-piridin-3-ilo, 1H-indolilo, tiofenilo, piridinilo, 1H-1,2,4-triazolilo, 2-oxo-imidazolidinilo, 1H-pirazolilo, 2-oxo-2,3-dihidro-1H-benzo-imidazolilo y 1H-indazolilo; en donde R_{6a} , R_{6b} y R_{6c} se seleccionan independientemente a partir de hidrógeno y alquilo de 1 a 4 átomos de carbono; en donde estos fenilo, 1H-pirrolo-piridin-3-ilo, 1H-indolilo, tiofenilo, piridinilo, 1H-1,2,4-triazolilo, 2-oxo-imidazolidinilo, 1H-pirazolilo, 2-oxo-2,3-dihidro-1H-benzo-imidazolilo o 1H-indazolilo de R_2 están opcionalmente sustituidos con 1 a 3 radicales seleccionados independientemente a partir de hidroxilo, halógeno, metilo, metoxilo, amino, $-O(CH_2)_nNR_{7a}R_{7b}$, $-S(O)_2NR_{7a}R_{7b}$, $-OS(O)_2NR_{7a}R_{7b}$ y $-NR_{7a}S(O)_2R_{7b}$; en donde R_{7a} y R_{7b} se seleccionan independientemente a partir de hidrógeno y alquilo de 1 a 4 átomos de carbono;

R_3 se selecciona a partir de hidrógeno, alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, y bifenilo; y

R_4 se selecciona a partir de alquilo de 1 a 10 átomos de carbono, prop-1-en-2-ilo, ciclohexilo, ciclopropilo, 2-(2-oxo-pirrolidin-1-il)-etilo, oxetan-3-ilo, benzhidrilo, tetrahidro-2H-piran-3-ilo, tetrahidro-2H-piran-4-ilo, fenilo, tetrahidrofuran-3-ilo, bencilo, (4-pentil-fenil)-(fenil)-metilo y 1-(1-(2-oxo-6,9,12-trioxa-3-aza-tetradecan-14-il)-1H-1,2,3-triazol-4-il)-etilo; en donde estos alquilo, ciclopropilo, ciclohexilo, 2-(2-oxo-pirrolidin-1-il)-etilo, oxetan-3-ilo, oxetan-2-ilo, benzhidrilo, tetrahidro-2H-piran-2-ilo, tetrahidro-2H-piran-3-ilo, tetrahidro-2H-piran-4-ilo, fenilo, tetrahidrofuran-3-ilo, tetrahidrofuran-2-ilo, bencilo, (4-pentil-fenil)-(fenil)-metilo, o 1-(1-(2-oxo-6,9,12-trioxa-3-aza-tetradecan-14-il)-1H-1,2,3-triazol-4-il)-etilo pueden estar opcionalmente sustituidos con 1 a 3 radicales seleccionados independientemente a partir de hidroxilo, alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, y alquilo de 1 a 4 átomos de carbono sustituido por halógeno; o una sal del mismo.

2. El compuesto de la reivindicación 1, seleccionado a partir de las fórmulas Ia, Ib, Ic, Id y Ie:





en donde:

L se selecciona a partir de $-NR_{5a}(CH_2)_{0-3}-$, $-NR_{5a}CH(C(O)OCH_3)CH_2-$, $-NR_{5a}(CH_2)_2NR_{5b}-$, $-NR_{5a}(CH_2)_2S-$, $-NR_{5a}CH_2CH(CH_3)CH_2-$, $-NR_{5a}CH_2CH(OH)-$ y $-NR_{5a}CH(CH_3)CH_2-$; en donde R_{5a} y R_{5b} se seleccionan independientemente a partir de hidrógeno y alquilo de 1 a 4 átomos de carbono;

R_1 se selecciona a partir de hidrógeno, fenilo, tiofen-2-ilo, tiofen-3-ilo, furan-3-ilo, 1H-benzo-[d]-imidazol-1-ilo, isoquinolin-4-ilo, 1H-imidazo-[4,5-b]-piridin-1-ilo, benzo-[b]-tiofen-3-ilo, pirimidin-5-ilo, 1H-pirazol-4-ilo, piridin-2-ilo, piridin-4-ilo, 1H-imidazol-1-ilo, pirrolidin-1-ilo, pirazin-2-ilo, piridin-3-ilo, piridazin-4-ilo, 1H-pirrol-2-ilo y tiazol-5-ilo; en donde estos fenilo, tiofen-2-ilo, tiofen-3-ilo, furan-3-ilo, 1H-benzo-[d]-imidazol-1-ilo, isoquinolin-4-ilo, 1H-imidazo-[4,5-b]-piridin-1-ilo, benzo-[b]-tiofen-3-ilo, pirimidin-5-ilo, piridinil-2-ilo, piridin-4-ilo, 1H-imidazol-1-ilo, pirrolidin-1-ilo, pirazin-

2-ilo, piridinil-3-ilo, piridazin-4-ilo, 1H-pirrol-2-ilo o tiazol-5-ilo de R₁ pueden estar opcionalmente sustituidos por 1 a 3 radicales seleccionados independientemente a partir de ciano, hidroxilo, alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, alcoxilo de 1 a 4 átomos de carbono, halógeno, alquilo de 1 a 4 átomos de carbono sustituido por halógeno, -S(O)₀₋₂R_{8a} y -C(O)OR_{8a}; en donde R_{8a} y R_{8b} se seleccionan independientemente a partir de hidrógeno y alquilo de 1 a 4 átomos de carbono; con la condición de que R₁ y R₃ no son ambos hidrógeno;

10 R_2 se selecciona a partir de $-NR_{6a}C(O)NR_{6b}R_{6c}$, fenilo, 1H-pirrolo-[2,3-b]-piridin-3-ilo, 1H-pirrolo-[2,3-b]-piridin-5-ilo, 1H-indol-3-ilo, tiofen-3-ilo, piridin-2-ilo, piridin-3-ilo, piridin-4-ilo, 1H-1,2,4-triazol-5-ilo, 2-oxo-imidazolidin-1-ilo, 1H-pirazol-3-ilo, 1H-pirazol-4-ilo, 2-oxo-2,3-dihidro-1H-benzo-[d]-imidazol-5-ilo y 1H-indazol-3-ilo; en donde R_{6a} , R_{6b} y R_{6c} se seleccionan independientemente a partir de hidrógeno y alquilo de 1 a 4 átomos de carbono; en donde estos fenilo, 1H-pirrolo-[2,3-b]-piridin-3-ilo, 1H-pirrolo-[2,3-b]-piridin-5-ilo, 1H-indol-3-ilo, tiofen-3-ilo, piridin-2-ilo, piridin-3-ilo, piridin-4-ilo, 1H-1,2,4-triazol-5-ilo, 2-oxo-imidazolidin-1-ilo, 1H-pirazol-3-ilo, 1H-pirazol-4-ilo, 2-oxo-2,3-dihidro-1H-benzo-[d]-imidazol-5-ilo o 1H-indazol-3-ilo de R_2 están opcionalmente sustituidos con 1 a 3 radicales seleccionados independientemente a partir de hidroxilo, halógeno, metoxilo, amino, $-OS(O)_2NR_{7a}R_{7b}$ y $-NR_{7a}S(O)_2R_{7b}$; en donde R_{7a} y R_{7b} se seleccionan independientemente a partir de hidrógeno y alquilo de 1 a 4 átomos

de carbono;

R_3 se selecciona a partir de hidrógeno, alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, y bifenilo; y

R_4 se selecciona a partir de isopropilo, metilo, etilo, prop-1-en-2-ilo, isobutilo, ciclohexilo, butilo secundario, (S)-butilo secundario, (R)-butilo secundario, 1-hidroxi-propan-2-ilo, (S)-1-hidroxi-propan-2-ilo, (R)-1-hidroxi-propan-2-ilo, nonan-2-ilo, 2-(2-oxo-pirrolidin-1-il)-etilo, oxetan-3-ilo, oxetan-2-ilo, benzhidrilo, tetrahydro-2H-piran-2-ilo, fenilo, tetrahydrofuran-3-ilo y bencilo; en donde estos ciclohexilo, 2-(2-oxo-pirrolidin-1-il)-etilo, oxetan-3-ilo, oxetan-2-ilo, benzhidrilo, tetrahydro-2H-piran-4-ilo, fenilo, tetrahydrofuran-3-ilo o bencilo pueden estar opcionalmente sustituidos con 1 a 3 radicales seleccionados independientemente a partir de alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, y alquilo de 1 a 4 átomos de carbono sustituido por halógeno.

3. Los compuestos de la reivindicación 2, en donde L se selecciona a partir de $-NR_{5a}(CH_2)_{0-3}-$, $-NR_{5a}CH(C(O)OCH_3)CH_2-$, $-NR_{5a}(CH_2)_2NR_{5b}-$, $-NR_{5a}(CH_2)_2S-$, $-NR_{5a}CH_2CH(CH_3)CH_2-$, $-NR_{5a}CH(CH_3)CH_2-$ y $-NR_{5a}CH_2CH(OH)-$; en donde R_{5a} y R_{5b} se seleccionan independientemente a partir de hidrógeno y metilo; y R_1 se selecciona a partir de hidrógeno, fenilo, tiofen-2-ilo, tiofen-3-ilo, furan-3-ilo, 1H-benzo-[d]-imidazol-1-ilo, isoquinolin-4-ilo, 1H-imidazo-[4,5-b]-piridin-1-ilo, benzo-[b]-tiofen-3-ilo, pirimidin-5-ilo, 1H-pirazol-4-ilo, piridin-2-ilo, piridin-4-ilo, 1H-imidazol-1-ilo, pirrolidin-1-ilo, pirazin-2-ilo, piridin-3-ilo, piridazin-4-ilo, 1H-pirrol-2-

ilo y tiazol-5-ilo; en donde estos fenilo, tiofen-2-ilo, tiofen-3-ilo, furan-3-ilo, 1H-benzo-[d]-imidazol-1-ilo, isoquinolin-4-ilo, 1H-imidazo-[4,5-b]-piridin-1-ilo, benzo-[b]-tiofen-3-ilo, pirimidin-5-ilo, piridinil-2-ilo, piridin-4-ilo, 1H-imidazol-1-ilo, pirrolidin-1-ilo, pirazin-
 5 2-ilo, piridinil-3-ilo, piridazin-4-ilo, 1H-pirrol-2-ilo o tiazol-5-ilo de R_1 pueden estar opcionalmente sustituidos por 1 a 3 radicales seleccionados independientemente a partir de ciano, hidroxilo, alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, alcóxido de 1 a 4 átomos de carbono, halógeno, alquilo de 1 a 4 átomos de carbono sustituido
 10 por halógeno, $-S(O)_{0-2}R_{8a}$ y $-C(O)OR_{8a}$; en donde R_{8a} y R_{8b} se seleccionan independientemente a partir de hidrógeno y alquilo de 1 a 4 átomos de carbono; con la condición de que R_1 y R_3 no son ambos hidrógeno.

4. Los compuestos de la reivindicación 3, en donde L se
 15 selecciona a partir de $-NR_{5a}(CH_2)_{1-3}-$, $-NR_{5a}CH(C(O)OCH_3)CH_2-$, $-NR_{5a}(CH_2)_2NR_{5b}-$, $-NR_{5a}(CH_2)_2S-$, $-NR_{5a}CH_2CH(CH_3)CH_2-$, $-NR_{5a}CH(CH_3)CH_2-$ y $-NR_{5a}CH_2CH(OH)-$; en donde R_{5a} y R_{5b} se seleccionan independientemente a partir de hidrógeno y metilo.

5. El compuesto de la reivindicación 4, en donde R_2 se
 20 selecciona a partir de urea, fenilo, 1H-indol-2-ilo, 1H-indol-3-ilo, tiofen-3-ilo, piperidin-1-ilo, piridin-2-ilo, piridin-3-ilo, piridin-4-ilo, 1H-1,2,4-triazol-3-ilo, 1H-1,2,4-triazol-5-ilo, 2-oxo-imidazolidin-1-ilo, 1H-pirazol-3-ilo, 1H-pirazol-4-ilo, 2-oxo-2,3-dihidro-1H-benzo-[d]-imidazol-5-ilo, 1H-benzo-[d]-imidazol-5-ilo y 1H-imidazol-4-ilo; en
 25 donde estos fenilo, 1H-indol-2-ilo, 1H-indol-3-ilo, tiofen-3-ilo,

piperidin-1-ilo, piridin-2-ilo, piridin-3-ilo, piridin-4-ilo, 1H-1,2,4-triazol-3-ilo, 1H-1,2,4-triazol-5-ilo, 2-oxo-imidazolidin-1-ilo, 1H-pirazol-3-ilo, 1H-pirazol-4-ilo, 2-oxo-2,3-dihidro-1H-benzo-[d]-imidazol-5-ilo o 1H-benzo-[d]-imidazol-5-ilo de R₂ están
5 opcionalmente sustituidos con hidroxilo, metoxilo, metilo, halógeno, amino y amino-sulfonilo.

6. El compuesto de la reivindicación 5, en donde R₃ se selecciona a partir de hidrógeno, metilo y bifenilo; y R₄ se selecciona a partir de isopropilo, metilo, etilo, prop-1-en-2-ilo,
10 isobutilo, ciclohexilo, butilo secundario, (S)-butilo secundario, (R)-butilo secundario, 1-hidroxi-propan-2-ilo, (S)-1-hidroxi-propan-2-ilo, (R)-1-hidroxi-propan-2-ilo, nonan-2-ilo, 2-(2-oxo-pirrolidin-1-il)-etilo, oxetan-3-ilo, oxetan-2-ilo, benzhidrilo, tetrahidro-2H-piran-2-ilo, fenilo, tetrahidrofuran-3-ilo y bencilo; en donde estos ciclohexilo, 2-
15 (2-oxo-pirrolidin-1-il)-etilo, oxetan-3-ilo, oxetan-2-ilo, benzhidrilo, tetrahidro-2H-piran-4-ilo, fenilo, tetrahidrofuran-3-ilo o bencilo pueden estar opcionalmente sustituidos con 1 a 3 radicales seleccionados independientemente a partir de metilo y trifluorometilo.

20 7. El compuesto de la reivindicación 6, seleccionado a partir de: 4-(2-(2-(benzo-[b]-tiofen-3-il)-9-isopropil-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol; 4-(2-(2-(benzo-[b]-tiofen-3-il)-9-sec-butil-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol; 4-(2-(9-benzhidril-2-(benzo-[b]-tiofen-3-il)-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol; 4-(2-(2-(benzo-[b]-tiofen-3-il)-9-(tetra-
25 hidro-2H-piran-3-il)-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol; 4-(2-(9-isopropil-

2-(tiofen-2-il)-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol; 4-(2-(2-(benzo-[b]-
 tiofen-3-il)-9-(4-(trifluoro-metil)-bencil)-9H-purin-6-il-amino)-etil)-
 fenol; 4-(2-(2-(benzo-[b]-tiofen-3-il)-9-isobutil-9H-purin-6-il-amino)-
 etil)-fenol; 4-(2-(2-(benzo-[b]-tiofen-3-il)-9-metil-9H-purin-6-il-
 5 amino)-etil)-fenol; 4-(2-(2-(benzo-[b]-tiofen-3-il)-9-(4-metil-bencil)-
 9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol; N-(2-(1H-indol-3-il)-etil)-2-(benzo-
 [b]-tiofen-3-il)-9-isopropil-9H-purin-6-amina; 2-(benzo-[b]-tiofen-3-il)-
 9-isopropil-N-(2-(tiofen-3-il)-etil)-9H-purin-6-amina; 3-(2-(2-(benzo-
 [b]-tiofen-3-il)-9-isopropil-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol; 2-(benzo-
 10 [b]-tiofen-3-il)-N-(4-fluoro-fenetil)-9-isopropil-9H-purin-6-amina; N-
 (4-amino-fenetil)-2-(benzo-[b]-tiofen-3-il)-9-isopropil-9H-purin-6-
 amina; 4-(2-(9-isopropil-2-(pirimidin-5-il)-9H-purin-6-il-amino)-etil)-
 fenol; 4-(2-(9-isopropil-2-(piridin-3-il)-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol;
 4-(2-(9-isopropil-2-fenil-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol; 4-(2-(9-
 15 isopropil-2-(tiofen-3-il)-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol; 4-(2-(2-
 (furan-3-il)-9-isopropil-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol; 2-(benzo-[b]-
 tiofen-3-il)-N-(4-fluoro-fenetil)-9-fenil-9H-purin-6-amina; N-bencil-8-
 (bifenil-4-il)-9-isopropil-9H-purin-6-amina; 4-(2-(2-(benzo-[b]-tiofen-
 3-il)-9-(nonan-2-il)-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol; N-(2-(1H-indol-3-
 20 il)-etil)-2-(benzo-[b]-tiofen-3-il)-9-sec-butil-9H-purin-6-amina; 5-
 ((3aS,4S,6aR)-2-oxo-hexahidro-1H-tieno-[3,4-d]-imidazol-4-il)-
 pentanoato de 3-(2-(2-(benzo-[b]-tiofen-3-il)-9-isopropil-9H-purin-6-
 il-amino)-etil)-1H-indol-5-ilo; N-(2-(2-(2-(2-(4-(1-(2-(benzo-[b]-tiofen-
 3-il)-6-(4-hidroxi-fenetil-amino)-9H-purin-9-il)-etil)-1H-1,2,3-triazol-1-
 25 il)-etoxi)-etoxi)-etoxi)-etil)-acetamida; 4-(2-(9-isopropil-2-(piridin-4-

il)-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol; 5-(6-(4-hidroxi-fenetil-amino)-9-
 isopropil-9H-purin-2-il)-nicotinato de etilo; 5-(6-(4-hidroxi-fenetil-
 amino)-9-isopropil-9H-purin-2-il)-nicotinato de etilo; 4-(2-(2-(6-
 fluoro-piridin-3-il)-9-isopropil-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol; 4-(2-(9-
 5 isopropil-2-(4-metil-piridin-3-il)-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol; 5-(6-
 (4-hidroxi-fenetil-amino)-9-isopropil-9H-purin-2-il)-nicotinonitrilo; 4-
 (2-(9-isopropil-2-(pirrolidin-1-il)-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol; 4-(2-
 (2-(1H-imidazol-1-il)-9-isopropil-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol; 4-(2-
 (9-isopropil-2-(piridazin-4-il)-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol; 4-(2-(9-
 10 isopropil-2-(pirazin-2-il)-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol; 4-(2-(9-iso-
 propil-2-(piridin-2-il)-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol; 4-(2-(9-iso-
 propil-2-(5-(metil-sulfonil)-piridin-3-il)-9H-purin-6-il-amino)-etil)-
 fenol; 4-(2-(9-isopropil-2-(5-metil-piridin-3-il)-9H-purin-6-il-amino)-
 etil)-fenol; 4-(2-(2-(4-cloro-piridin-3-il)-9-isopropil-9H-purin-6-il-
 15 amino)-etil)-fenol; 4-(2-(2-(5-fluoro-piridin-3-il)-9-isopropil-9H-purin-
 6-il-amino)-etil)-fenol; 4-(2-(9-isopropil-2-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-
 9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol; 4-(2-(9-isopropil-2-(piridin-3-il)-9H-
 purin-6-il-amino)-etil)-2-metoxi-fenol; 4-(2-(9-isopropil-2-(piridin-3-
 il)-9H-purin-6-il-amino)-etil)-2-metoxi-fenol; N-[2-(6-metoxi-1H-indol-
 20 3-il)-etil]-9-(propan-2-il)-2-(piridin-3-il)-9H-purin-6-amina; N-[2-(5-
 metil-1H-indol-3-il)-etil]-9-(propan-2-il)-2-(piridin-3-il)-9H-purin-6-
 amina; 1-(2-([9-(propan-2-il)-2-(piridin-3-il)-9H-purin-6-il]-amino)-
 etil)-imidazolidin-2-ona; N-(2-([9-(propan-2-il)-2-(piridin-3-il)-9H-
 purin-6-il]-amino)-etil)-piridin-2-amina; 9-(propan-2-il)-N-[3-(1H-
 25 pirazol-4-il)-propil]-2-(piridin-3-il)-9H-purin-6-amina; N-{2-[(3-metil-

1H-1,2,4-triazol-5-il)-sulfanil]-etil}-9-(propan-2-il)-2-(piridin-3-il)-9H-
 purin-6-amina; 1-(2-{{2-(1-benzo-tiofen-3-il)-9-(propan-2-il)-9H-purin-
 6-il]-amino}-etil)-imidazolidin-2-ona; N-[2-(5-amino-1H-1,2,4-triazol-
 3-il)-etil]-2-(1-benzo-tiofen-3-il)-9-(propan-2-il)-9H-purin-6-amina; N-
 5 (2-{{2-(1-benzo-tiofen-3-il)-9-(propan-2-il)-9H-purin-6-il]-amino}-etil)-
 piridin-2-amina; 2-(1-benzo-tiofen-3-il)-9-(propan-2-il)-N-[3-(1H-
 pirazol-4-il)-propil]-9H-purin-6-amina; 2-(1-benzo-tiofen-3-il)-N-[3-
 (3,5-dimetil-1H-pirazol-4-il)-propil]-9-(propan-2-il)-9H-purin-6-amina;
 (2-{{2-(1-benzo-tiofen-3-il)-9-(propan-2-il)-9H-purin-6-il]-amino}-etil)-
 10 urea; 5-({[2-(1-benzo-tiofen-3-il)-9-(propan-2-il)-9H-purin-6-il]-
 amino}-metil)-2,3-dihidro-1H-1,3-benzo-diazol-2-ona; N-[2-(1H-indol-
 3-il)-etil]-9-(propan-2-il)-2-(piridin-3-il)-9H-purin-6-amina; N-(4-(2-(9-
 isopropil-2-(piridin-3-il)-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenil)-metan-
 sulfonamida; 4-(2-(2-(piridin-3-il)-9-(tetrahidrofuran-3-il)-9H-purin-6-
 15 il-amino)-etil)-fenol; 4-(2-(9-isopropil-2-(piridin-3-il)-9H-purin-6-il-
 amino)-propil)-fenol; 4-(2-(9-(oxetan-3-il)-2-(piridin-3-il)-9H-purin-6-
 il-amino)-etil)-fenol; 5-(6-(4-hidroxi-fenetil-amino)-9-isopropil-9H-
 purin-2-il)-N-metil-nicotinamida; 4-(2-(9-(1-hidroxi-propan-2-il)-2-
 (piridin-3-il)-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol; sulfamato de 4-(2-(9-
 20 isopropil-2-(piridin-3-il)-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenilo; 4-(2-(2-(2-
 fluoro-piridin-3-il)-9-isopropil-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol; 4-(2-(9-
 isopropil-2-(1-metil-1H-pirrol-2-il)-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol; 4-
 (2-(9-isopropil-2-(tiazol-5-il)-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol; 4-(2-(2-
 (1H-benzo-[d]-imidazol-1-il)-9-isopropil-9H-purin-6-il-amino)-etil)-
 25 fenol; 4-(2-(2-(2,4-dimetil-1H-imidazol-1-il)-9-isopropil-9H-purin-6-il-

- amino)-etil)-fenol; 4-(2-(9-isopropil-2-(2-metil-1H-imidazol-1-il)-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol; 5-(9-sec-butil-6-(4-hidroxi-3-metil-fenetil-amino)-9H-purin-2-il)-nicotinonitrilo; N-(2-(1H-pirrol-2-il)-piridin-5-il)-etil)-9-isopropil-2-(piridin-3-il)-9H-purin-6-amina; 9-isopropil-N-(2-(5-metil-1H-pirazol-3-il)-etil)-2-(piridin-3-il)-9H-purin-6-amina; 4-(2-(2-(5-fluoro-piridin-3-il)-9-(oxetan-3-il)-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol; 4-(2-(2-(5-cloro-piridin-3-il)-9-isopropil-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol; 4-(2-(9-isopropil-2-(5-(trifluoro-metil)-piridin-3-il)-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol; 5-(6-(2-(1H-indol-3-il)-etil-amino)-9-sec-butil-9H-purin-2-il)-nicotinonitrilo; N-(2-(1H-indol-3-il)-etil)-9-sec-butil-2-(5-metil-piridin-3-il)-9H-purin-6-amina; (R)-N-(2-(1H-indol-3-il)-etil)-9-sec-butil-2-(5-fluoro-piridin-3-il)-9H-purin-6-amina; (S)-N-(2-(1H-indol-3-il)-etil)-9-sec-butil-2-(5-fluoro-piridin-3-il)-9H-purin-6-amina; N-(2-(1H-indol-3-il)-etil)-9-sec-butil-2-(5-fluoro-piridin-3-il)-9H-purin-6-amina; (R)-N-(2-(1H-indol-3-il)-etil)-9-sec-butil-2-(5-metil-piridin-3-il)-9H-purin-6-amina; (S)-N-(2-(1H-indol-3-il)-etil)-9-sec-butil-2-(5-metil-piridin-3-il)-9H-purin-6-amina; 5-(6-(4-hidroxi-fenetil-amino)-9-(oxetan-3-il)-9H-purin-2-il)-nicotinonitrilo; 4-(2-(6-(5-fluoro-piridin-3-il)-1-isopropil-1H-pirazolo-[3,4-d]-pirimidin-4-il-amino)-etil)-fenol; 4-(2-(6-(benzo-[b]-tiofen-3-il)-1-isopropil-1H-pirazolo-[3,4-d]-pirimidin-4-il-amino)-etil)-fenol; (R)-4-(2-(2-(5-fluoro-piridin-3-il)-9-(tetrahidrofuran-3-il)-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol; 4-(2-(9-isopropil-2-(piridin-3-il)-9H-purin-6-il-amino)-etil)-3-metil-fenol; 5-(6-(4-hidroxi-fenetil-amino)-9-isopropil-9H-purin-2-il)-picolinonitrilo; 3-(6-(4-hidroxi-fenetil-amino)-9-isopropil-9H-purin-2-

il)-isonicotinonitrilo; 4-(2-(2-(5-fluoro-piridin-3-il)-7-isopropil-7H-
 pirrolo-[2,3-d]-pirimidin-4-il-amino)-etil)-fenol; 3-(6-(4-hidroxi-fenetil-
 amino)-9-isopropil-9H-purin-2-il)-picolinonitrilo; 4-(2-(9-isopropil-2-
 (6-metil-piridin-3-il)-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol; 4-(2-(9-isopropil-
 5 2-(isoquinolin-4-il)-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol; 2-cloro-4-(2-(9-
 isopropil-2-(piridin-3-il)-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol; 3-fluoro-4-(2-
 (9-isopropil-2-(piridin-3-il)-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol; N-(2-(5-
 cloro-1H-indol-3-il)-etil)-9-isopropil-2-(piridin-3-il)-9H-purin-6-amina;
 N-(2-(5-fluoro-1H-indol-3-il)-etil)-9-isopropil-2-(piridin-3-il)-9H-purin-
 10 6-amina; 4-(2-(9-isopropil-2-(piridin-3-il)-9H-purin-6-il-amino)-etil)-2-
 metil-fenol; 4-(2-(2-(benzo-[b]-tiofen-3-il)-9-(oxetan-3-il)-9H-purin-6-
 il-amino)-etil)-fenol; (S)-4-(2-(2-(benzo-[b]-tiofen-3-il)-9-
 (tetrahydrofuran-3-il)-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol; (R)-4-(2-(2-
 (benzo-[b]-tiofen-3-il)-9-(tetrahydrofuran-3-il)-9H-purin-6-il-amino)-
 15 etil)-fenol; 2-(6-(2-(1H-indol-3-il)-etil-amino)-2-(5-fluoro-piridin-3-il)-
 9H-purin-9-il)-propan-1-ol; (R)-2-(6-(2-(1H-indol-3-il)-etil-amino)-2-
 (5-fluoro-piridin-3-il)-9H-purin-9-il)-propan-1-ol; (S)-2-(6-(2-(1H-
 indol-3-il)-etil-amino)-2-(5-fluoro-piridin-3-il)-9H-purin-9-il)-propan-1-
 ol; (R)-N-(2-(1H-indol-3-il)-etil)-2-(5-fluoro-piridin-3-il)-9-(tetrahydro-
 20 furan-3-il)-9H-purin-6-amina; 4-(2-(2-(3H-imidazo-[4,5-b]-piridin-3-il)-
 9-isopropil-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol; 4-(2-(2-(1H-imidazo-[4,5-
 b]-piridin-1-il)-9-isopropil-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol; 4-(2-(6-(5-
 fluoro-piridin-3-il)-1-isopropil-1H-imidazo-[4,5-c]-piridin-4-il-amino)-
 etil)-fenol; 4-(2-(2-(4,5-dimetil-1H-imidazol-1-il)-9-isopropil-9H-purin-
 25 6-il-amino)-etil)-fenol; 2-(5-fluoro-piridin-3-il)-9-isopropil-N-(2-

(piridin-3-il)-etil)-9H-purin-6-amina; 4-(2-(2-(5-fluoro-piridin-3-il)-9-isopropil-9H-purin-6-il-amino)-1-hidroxi-etil)-fenol; 2-(5-fluoro-piridin-3-il)-9-isopropil-N-(2-(6-metoxi-1H-indol-3-il)-etil)-9H-purin-6-amina; N-(2-(1H-indol-3-il)-etil)-2-(5-fluoro-piridin-3-il)-9-isopropil-9H-purin-6-amina; 2-(5-fluoro-piridin-3-il)-9-isopropil-N-(2-(5-metoxi-1H-indol-3-il)-etil)-9H-purin-6-amina; N-(2-(1H-indol-3-il)-etil)-2-(5-fluoro-piridin-3-il)-9-(prop-1-en-2-il)-9H-purin-6-amina; 5-(2-(2-(5-fluoro-piridin-3-il)-9-isopropil-9H-purin-6-il-amino)-etil)-piridin-2-ol; N-(2-(1H-pirrolo-[2,3-b]-piridin-3-il)-etil)-2-(5-fluoro-piridin-3-il)-9-isopropil-9H-purin-6-amina; N-(2-(6-(2-(dietil-amino)-etoxi)-1H-indol-3-il)-etil)-2-(5-fluoro-piridin-3-il)-9-isopropil-9H-purin-6-amina; 4-(2-(5-(5-fluoro-piridin-3-il)-3-isopropil-3H-imidazo-[4,5-b]-piridin-7-il-amino)-etil)-fenol; N-(2-(1H-indol-3-il)-etil)-9-sec-butil-2-(2-metil-1H-imidazol-1-il)-9H-purin-6-amina; 4-(2-(2-(2-etil-1H-imidazol-1-il)-9-isopropil-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol; 4-(2-(9-isopropil-2-(2-propil-1H-imidazol-1-il)-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol; 3-(2-(2-(5-fluoro-piridin-3-il)-9-isopropil-9H-purin-6-il-amino)-etil)-1H-indol-6-ol; N-(2-(1H-indol-3-il)-etil)-9-isopropil-2-(5-metil-piridin-3-il)-9H-purin-6-amina; N-(2-(1H-indol-3-il)-etil)-9-isopropil-2-(2-metil-1H-imidazol-1-il)-9H-purin-6-amina; 2-(5-fluoro-piridin-3-il)-9-isopropil-N-(2-(7-metil-1H-indol-3-il)-etil)-9H-purin-6-amina; N-(2-(1H-indol-3-il)-etil)-2-(5-fluoro-piridin-3-il)-9-(oxetan-3-il)-9H-purin-6-amina; N-(2-(1H-indol-3-il)-etil)-2-(5-metil-piridin-3-il)-9-(oxetan-3-il)-9H-purin-6-amina; N-(2-(6-fluoro-1H-indol-3-il)-etil)-2-(5-fluoro-piridin-3-il)-9-isopropil-9H-purin-6-amina; 2-(5-fluoro-piridin-3-il)-9-isopropil-N-(2-

(6-metil-1H-indol-3-il)-etil)-9H-purin-6-amina; 2-(5-fluoro-piridin-3-il)-9-isopropil-N-(2-(2-metil-1H-indol-3-il)-etil)-9H-purin-6-amina; N-(2-(4-fluoro-1H-indol-3-il)-etil)-2-(5-fluoro-piridin-3-il)-9-isopropil-9H-purin-6-amina; N-(2-(7-fluoro-1H-indol-3-il)-etil)-2-(5-fluoro-piridin-3-il)-9-isopropil-9H-purin-6-amina; 2-(5-fluoro-piridin-3-il)-9-isopropil-N-(2-(4-metil-1H-indol-3-il)-etil)-9H-purin-6-amina; 4-(2-(2-(benzo-[b]-tiofen-3-il)-7-isopropil-7H-pirrólo-[2,3-d]-pirimidin-4-il-amino)-etil)-fenol; 9-isopropil-2-(piridin-3-il)-N-(2-(piridin-4-il)-etil)-9H-purin-6-amina; N-(2-(1H-pirrólo-[2,3-b]-piridin-5-il)-etil)-9-isopropil-2-(piridin-3-il)-9H-purin-6-amina; 4-(2-(2-(5-fluoro-piridin-3-il)-9-(1-hidroxi-propan-2-il)-9H-purin-6-il-amino)-etil)-2-metil-fenol; 4-(2-(2-(benzo-[b]-tiofen-3-il)-9-ciclohexil-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol; 4-(2-(9-isopropil-2-(tiofen-3-il)-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol; y 1-(2-(2-(benzo-[b]-tiofen-3-il)-6-(4-hidroxi-fenetil-amino)-9H-purin-9-il)-etil)-pirrolidin-2-ona; o una sal de los mismos.

8. Un método para aumentar el número de células madre y progenitoras; comprendiendo este método poner en contacto las células madre con un agente capaz de antagonizar la actividad y/o la expresión del receptor de hidrocarburo de arilo y/o un efector corriente abajo de la senda del receptor de hidrocarburo de arilo.

9. El método de la reivindicación 8, en donde este agente capaz de antagonizar la actividad y/o la expresión del receptor de hidrocarburo de arilo y/o un efector corriente abajo de la senda del receptor de hidrocarburo de arilo, se selecciona a partir de:

(i) un compuesto orgánico,

(ii) una molécula de ARN de interferencia pequeño que inhibe la expresión del receptor de hidrocarburo de arilo, y

(iii) un oligonucleótido anti-sentido que inhibe la expresión del receptor de hidrocarburo de arilo.

5 10. El método de la reivindicación 8, en donde este agente capaz de antagonizar la actividad y/o expresión del receptor de hidrocarburo de arilo es un compuesto de la reivindicación 1.

 11. El método de la reivindicación 8, en donde el método se lleva a cabo *in vivo*, *in vitro* o *ex vivo*.

10 12. El método de la reivindicación 11, en donde las células madre son humanas.

 13. El método de la reivindicación 12, en donde las células madre se derivan a partir de médula ósea.

 14. El método de la reivindicación 12, en donde las células
15 madre se derivan a partir de sangre de cordón umbilical.

 15. Los métodos de la reivindicación 13 ó 14, en donde las células madre son células madre hematopoiéticas.

 16. Un método para expandir las células madre hematopoiéticas, el cual comprende: (a) proporcionar una población
20 celular de partida que comprenda células madre hematopoiéticas, y
(b) cultivar esta población celular de partida *ex vivo* en la presencia de un agente capaz de antagonizar la actividad y/o la expresión del receptor de hidrocarburo de arilo y/o un efector corriente abajo de la senda del receptor de hidrocarburo de arilo, bajo condiciones
25 adecuadas para expandir las células madre hematopoiéticas.

17. El método de la reivindicación 16, en donde este agente capaz de sub-regular la actividad del receptor de hidrocarburo de arilo se selecciona a partir de:

- (i) un compuesto orgánico,
- 5 (ii) una molécula de ARN de interferencia pequeño que inhibe la expresión del receptor de hidrocarburo de arilo, y
- (iii) un oligonucleótido anti-sentido que inhibe la expresión del receptor de hidrocarburo de arilo.

18. El método de la reivindicación 17, en donde el
10 compuesto orgánico mencionado es el 4-(2-(2-(benzo-[b]-tiofen-3-il)-9-isopropil-9H-purin-6-il-amino)-etil)-fenol.

19. El método de la reivindicación 16, en donde un efector corriente abajo de la senda del receptor de hidrocarburo de arilo se selecciona a partir de Cyp1B1, Cyp1A1, Beta-catenina, AHRR,
15 STAT5 y STAT1.

20. El método de la reivindicación 16, en donde el agente capaz de sub-regular la actividad del receptor de hidrocarburo de arilo mencionado es un compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7.

20 21. El método de la reivindicación 16 ó 18, en donde la población celular de partida mencionada está enriquecida en células CD34⁺.

22. El método de la reivindicación 16 ó 18, en donde la población celular de partida mencionada se deriva a partir de células
25 de sangre de cordón umbilical.

23. El método de la reivindicación 16 ó 18, en donde la población celular de partida mencionada se deriva a partir de una o dos unidades de sangre de cordón umbilical, de preferencia una unidad de sangre de cordón umbilical.

5 24. El método de la reivindicación 16 ó 18, en donde la población celular de partida mencionada se deriva a partir de células de sangre periférica movilizada.

25. El método de la reivindicación 24, en donde las células de sangre periférica movilizada se obtienen a partir de un solo
10 sujeto mamífero.

26. El método de la reivindicación 16 ó 18, en donde esta población celular de partida esencialmente consiste en las células CD34⁺ purificadas a partir de una o dos unidades de sangre de cordón umbilical, de preferencia una unidad de sangre de cordón
15 umbilical.

27. El método de la reivindicación 16 ó 18, en donde esta población celular de partida esencialmente consiste en las células CD34⁺ purificadas a partir de una o dos unidades de sangre de cordón umbilical, utilizando columnas de cromatografía de afinidad o perlas magnéticas, que comprenden fragmentos de anticuerpos de
20 enlace de antígeno CD34.

28. El método de la reivindicación 16 ó 18, en donde las condiciones para la expansión de las células madre hematopoiéticas mencionadas incluyen cultivar esta población celular de partida en la
25 presencia de una cantidad suficiente de IL6, Flt3-L, TPO y SCF, y un

compuesto de la reivindicación 1.

29. El método de la reivindicación 16 ó 18, en donde el compuesto mencionado de la reivindicación 1 se administra en el medio de cultivo celular en una concentración de entre 1pM y 10 μ M, por ejemplo de entre 10 pM y 100 μ M.

30. El método de la reivindicación 16 ó 18, en donde la población celular de partida mencionada consiste esencialmente en las células CD34⁺ purificadas a partir de una o dos unidades de sangre de cordón umbilical, de preferencia una unidad de sangre de cordón umbilical, y esta población celular de partida se cultiva en la presencia de un compuesto de la reivindicación 1 durante aproximadamente 3 días a aproximadamente 90 días, de preferencia entre 7 y 35 días.

31. El método de la reivindicación 16 ó 18, en donde la población celular de partida mencionada se cultiva en la presencia de un compuesto de la reivindicación 1, durante un tiempo suficiente para una expansión de las células CD34⁺ de 10 a 50,000 veces.

32. Un kit para expandir las células madre hematopoiéticas, el cual comprende un compuesto de la reivindicación 1, e instrucciones para utilizarse en un método de la reivindicación 16 y, opcionalmente, uno o más de los siguientes: citoquinas, factores de crecimiento, y medio de cultivo celular.

33. El kit de acuerdo con la reivindicación 32, en donde la una o más citoquinas o factores de crecimiento se seleccionan a partir del grupo que consiste en IL6, Flt3-L, SCF y TPO.

34. Una población celular con células madre hematopoiéticas expandidas, las cuales se pueden obtener, o como se obtienen, mediante el método de la reivindicación 16 ó 18.

5 35. Una composición que comprende la población celular de la reivindicación 34 re-suspendida en un medio farmacéuticamente aceptable adecuado para su administración a un huésped mamífero.

36. Una composición que comprende una población celular con células madre hematopoiéticas expandidas derivadas a partir de una o dos unidades de sangre de cordón umbilical, de preferencia
10 una unidad de sangre de cordón umbilical, en donde esta composición contiene una cantidad total de células de cuando menos 10^5 células, 10^7 células, 10^8 células o 10^9 células, y en donde entre el 20 y el 100 por ciento de las células totales son células CD34⁺.

37. La composición de la reivindicación 36, en donde esta
15 composición contiene entre el 0.1 por ciento y el 40 por ciento de las células totales que expresan marcadores de CD34 y Thy1; del 20 al 80 por ciento de las células totales que expresan marcadores de CD34 y CD45RA; del 10 al 95 por ciento de células que son CD38+; y del 5 al 70 por ciento de células que son CD133+.

20 38. La composición de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 35 a 37, para utilizarse en el trasplante hematopoiético alogénico de células madre en un sujeto mamífero.

39. La composición de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 35 a 37, para el tratamiento de un paciente que
25 sufra de una hematopoesis deteriorada.

40. La composición de la reivindicación 39, en donde el paciente sufre de una enfermedad de inmunodeficiencia heredada, un trastorno autoinmune, o un trastorno hematopoiético.

41. La composición de la reivindicación 40, en donde el
5 trastorno hematopoiético mencionado se selecciona a partir de leucemia mieloide aguda, leucemia linfoblástica aguda, leucemia mieloide crónica, leucemia linfocítica crónica, trastornos mieloproliferativos, síndromes mielodisplásicos, mieloma múltiple, linfoma no de Hodgkin, enfermedad de Hodgkin, anemia anaplásica,
10 aplasia de glóbulos rojos puros, hemoglobinuria paroxística nocturna, anemia de Fanconi, talasemia mayor, anemia drepanocítica, inmunodeficiencia combinada grave, síndrome de Wiskott-Aldrich, linfocitosis hemofagocítica, y errores innatos del metabolismo.

15 42. La composición de cualquiera de las reivindicaciones 35 a 37, en donde esta composición es apropiada para infusión intravenosa, y esta composición comprende cuando menos 10^4 células / kilogramo transfundidas en el paciente, de preferencia entre 10^5 células / kilogramo y 10^9 células / kilogramo.

20 43. Un método para el tratamiento de una enfermedad de inmunodeficiencia heredada, una enfermedad autoinmune, y/o un trastorno hematopoiético, el cual comprende administrar a un paciente que necesite dicho tratamiento, células madre hematopoiéticas expandidas por un agente capaz de sub-regular la
25 actividad y/o la expresión del receptor de hidrocarburo de arilo y/o

un efector corriente abajo de la senda del receptor de hidrocarburo de arilo.

44. El método de la reivindicación 43, en donde el agente capaz de sub-regular la actividad y/o la expresión del receptor de hidrocarburo de arilo mencionado es un compuesto de la reivindicación 1.

45. El método de la reivindicación 43, en donde la administración es un trasplante autólogo, y el trastorno hematopoiético se selecciona a partir de mieloma múltiple, linfoma no de Hodgkin, enfermedad de Hodgkin, leucemia mieloide aguda, neuroblastoma, tumores de células germinales, trastornos autoinmunes, y amiloidosis.

46. El método de la reivindicación 45, en donde los trastornos autoinmunes se seleccionan a partir de lupus eritematoso sistémico y esclerosis sistémica.

47. El método de la reivindicación 46, en donde la administración es un trasplante alogénico, y el trastorno hematopoiético se selecciona a partir de leucemia mieloide aguda, leucemia linfoblástica aguda, leucemia mieloide crónica, leucemia linfocítica crónica, trastornos mieloproliferativos, síndromes mielodisplásicos, mieloma múltiple, linfoma no de Hodgkin, enfermedad de Hodgkin, anemia anaplásica, aplasia de glóbulos rojos puros, hemoglobinuria paroxística nocturna, anemia de Fanconi, talasemia mayor, anemia drepanocítica, inmunodeficiencia combinada grave, síndrome de Wiskott-Aldrich, linfocitosis

RESUMEN

La presente invención se refiere a compuestos y composiciones para expandir el número de células CD34⁺ para trasplante. La invención se refiere además a una población celular que comprende células madre hematopoiéticas (HSCs) expandidas, y a su uso en trasplante autólogo o alogénico para el tratamiento de los pacientes con enfermedades de inmunodeficiencia y autoinmunes heredadas y diversos trastornos hematopoiéticos, con el fin de reconstituir los linajes de células hematopoiéticas y las defensas del sistema inmunitario.

* * * * *

15

20

25

FIG. 1

Difracción en Polvo de Rayos-X (PXRD) de la Molécula Libre
(no sal) del Ejemplo 1

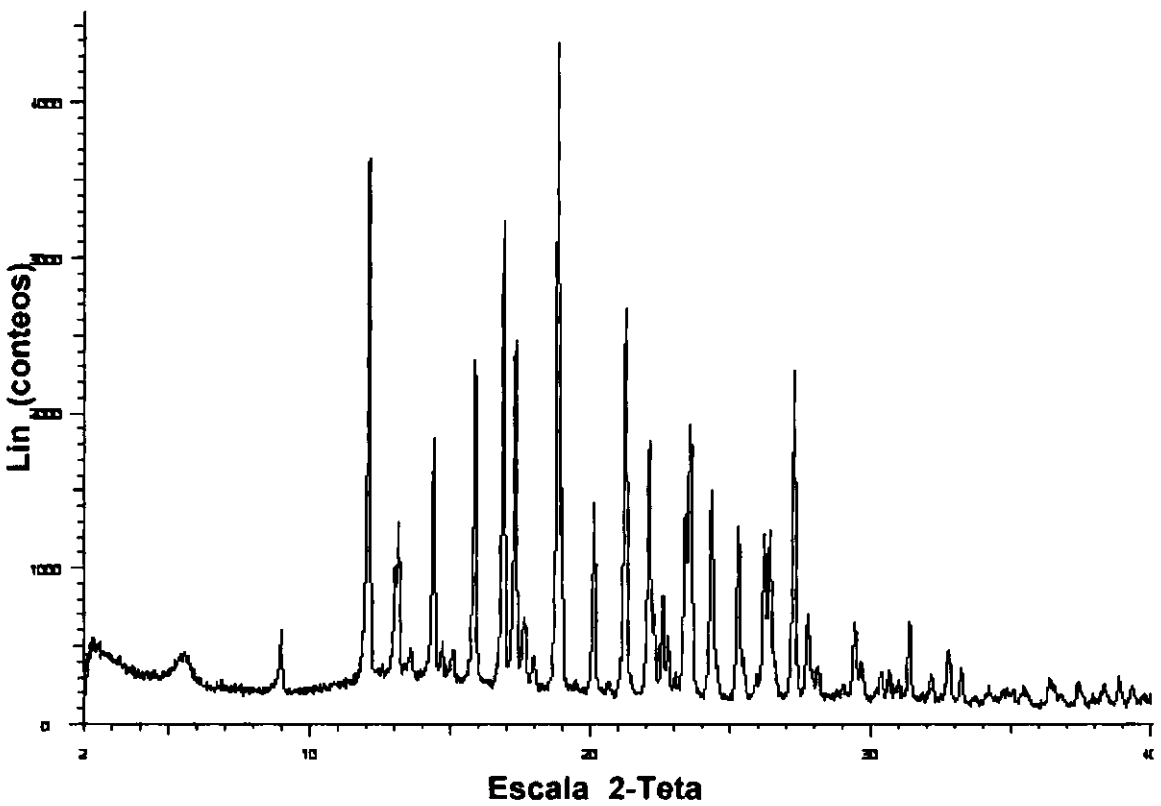
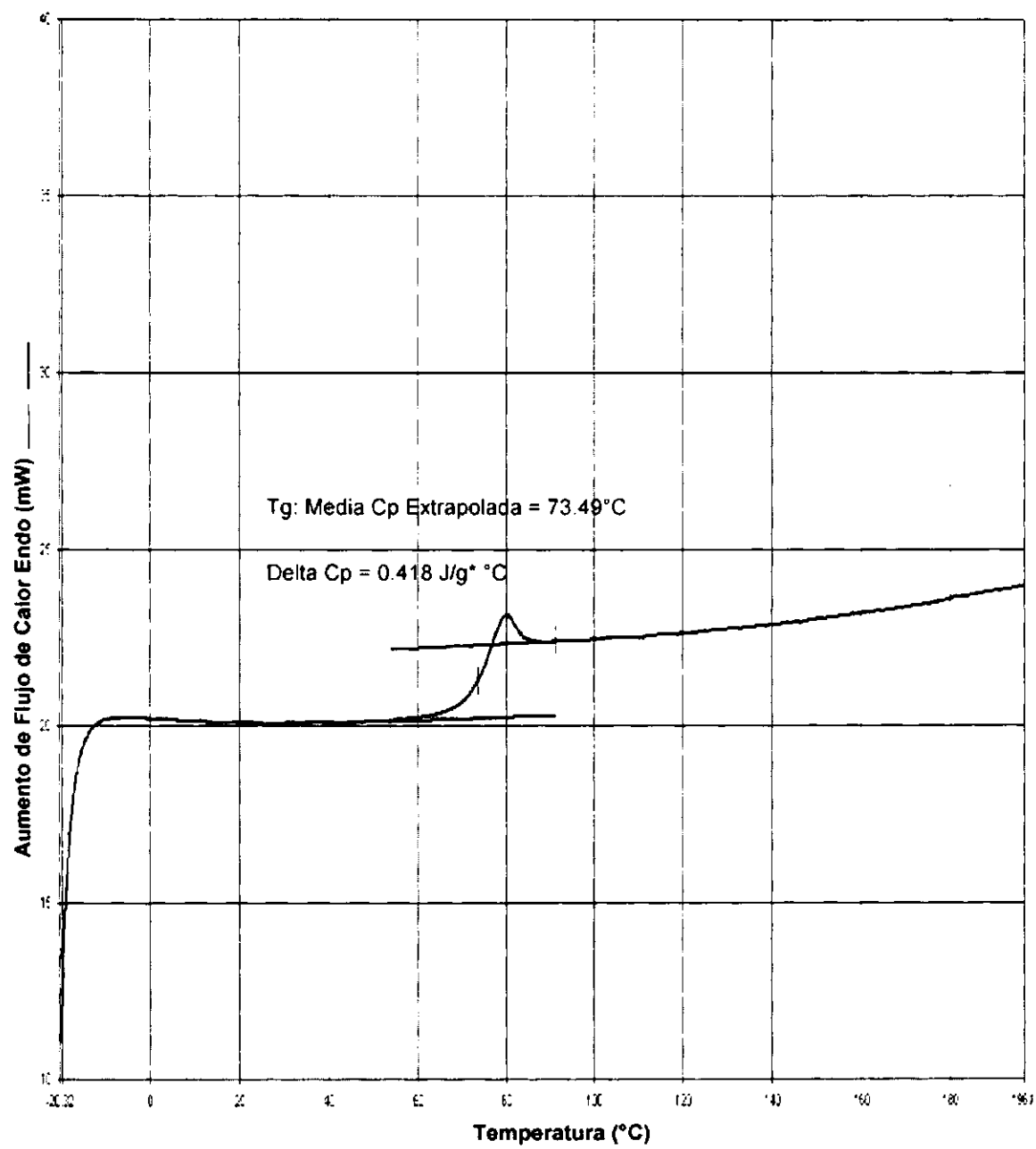


FIG. 13

Material Amorfo del Ejemplo 1



PATENT COOPERATION TREATY

From the
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

To:

PCT

see form PCT/ISA/220

WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY
(PCT Rule 43bis.1)

Date of mailing
(day/month/year) see form PCT/ISA/210 (second sheet)

Applicant's or agent's file reference
see form PCT/ISA/220

FOR FURTHER ACTION
See paragraph 2 below

International application No.
PCT/US2009/062646

International filing date (day/month/year)
29.10.2009

Priority date (day/month/year)
30.10.2008

International Patent Classification (IPC) or both national classification and IPC

INV. C07D473/34 C07D487/04
ADD. A61K31/52 A61K31/519 A61P37/00

Applicant
IRM LLC

1. This opinion contains indications relating to the following items:

- ☒ Box No. I Basis of the opinion
- ☐ Box No. II Priority
- ☒ Box No. III Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability
- ☒ Box No. IV Lack of unity of invention
- ☒ Box No. V Reasoned statement under Rule 43bis.1(a)(i) with regard to novelty, inventive step and industrial applicability; citations and explanations supporting such statement
- ☒ Box No. VI Certain documents cited
- ☒ Box No. VII Certain defects in the international application
- ☐ Box No. VIII Certain observations on the international application

2. FURTHER ACTION

If a demand for international preliminary examination is made, this opinion will usually be considered to be a written opinion of the International Preliminary Examining Authority ("IPEA") except that this does not apply where the applicant chooses an Authority other than this one to be the IPEA and the chosen IPEA has notified the International Bureau under Rule 66.1bis(b) that written opinions of this International Searching Authority will not be so considered.

If this opinion is, as provided above, considered to be a written opinion of the IPEA, the applicant is invited to submit to the IPEA a written reply together, where appropriate, with amendments, before the expiration of 3 months from the date of mailing of Form PCT/ISA/220 or before the expiration of 22 months from the priority date, whichever expires later.

For further options, see Form PCT/ISA/220.

3. For further details, see notes to Form PCT/ISA/220.

Name and mailing address of the ISA:



European Patent Office
D-80298 Munich
Tel. +49 89 2399 - 0
Fax: +49 89 2399 - 4465

Date of completion of
this opinion

see form
PCT/ISA/210

Authorized Officer

Traegler-Goeldel, M
Telephone No. +49 89 2399-8278



**WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY**

International application No.
PCT/US2009/062646

Box No. I Basis of the opinion

1. With regard to the **language**, this opinion has been established on the basis of:
 - ☒ the international application in the language in which it was filed
 - ☐ a translation of the international application into , which is the language of a translation furnished for the purposes of international search (Rules 12.3(a) and 23.1 (b)).
2. ☐ This opinion has been established taking into account the **rectification of an obvious mistake** authorized by or notified to this Authority under Rule 91 (Rule 43bis.1(a))
3. With regard to any **nucleotide and/or amino acid sequence** disclosed in the international application, this opinion has been established on the basis of a sequence listing filed or furnished:
 - a. (means)
 - ☐ on paper
 - ☐ in electronic form
 - b. (time)
 - ☐ in the international application as filed
 - ☐ together with the international application in electronic form
 - ☐ subsequently to this Authority for the purposes of search
4. ☐ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that in the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.
5. Additional comments:

**WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY**

International application No.
PCT/US2009/062646

Box No. III Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability

The questions whether the claimed invention appears to be novel, to involve an inventive step (to be non obvious), or to be industrially applicable have not been examined in respect of

- ☐ the entire international application
- ☒ claims Nos. 8, 9, 11-17, 19, 20, 36, 37, 43(completely); 21-31, 34, 35, 38-42(partially)

because:

- ☐ the said international application, or the said claims Nos. relate to the following subject matter which does not require an international search (*specify*):
- ☐ the description, claims or drawings (*indicate particular elements below*) or said claims Nos. are so unclear that no meaningful opinion could be formed (*specify*):
- ☐ the claims, or said claims Nos. are so inadequately supported by the description that no meaningful opinion could be formed (*specify*):
- ☒ no international search report has been established for the whole application or for said claims Nos. 8, 9, 11-17, 19, 20, 36, 37, 43(completely); 21-31, 34, 35, 38-42(partially)
- ☐ a meaningful opinion could not be formed without the sequence listing; the applicant did not, within the prescribed time limit:
 - ☐ furnish a sequence listing on paper complying with the standard provided for in Annex C of the Administrative Instructions, and such listing was not available to the International Searching Authority in a form and manner acceptable to it.
 - ☐ furnish a sequence listing in electronic form complying with the standard provided for in Annex C of the Administrative Instructions, and such listing was not available to the International Searching Authority in a form and manner acceptable to it.
 - ☐ pay the required late furnishing fee for the furnishing of a sequence listing in response to an invitation under Rules 13ter.1(a) or (b).
- ☐ See Supplemental Box for further details

Box No. IV Lack of unity of invention

1. ☒ In response to the invitation (Form PCT/ISA/206) to pay additional fees, the applicant has, within the applicable time limit:
- ☐ paid additional fees
 - ☐ paid additional fees under protest and, where applicable, the protest fee
 - ☐ paid additional fees under protest but the applicable protest fee was not paid
 - ☒ not paid additional fees
2. ☐ This Authority found that the requirement of unity of invention is not complied with and chose not to invite the applicant to pay additional fees.
3. This Authority considers that the requirement of unity of invention in accordance with Rule 13.1, 13.2 and ☐ is
- ☐ complied with
 - ☒ not complied with for the following reasons:
see separate sheet
4. Consequently, this report has been established in respect of the following parts of the international application:
- ☐ all parts.
 - ☒ the parts relating to claims Nos. 1-7, 10, 18, 32, 33, 44-48(completely); 21-31, 34, 35, 38-42(partially)

Box No. V Reasoned statement under Rule 43bis.1(a)(i) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

1. Statement
- | | | |
|-------------------------------|-------------|--|
| Novelty (N) | Yes: Claims | <u>7, 10, 18, 32, 33, 44-48(completely); 21-31, 34, 35, 38-42(partially)</u> |
| | No: Claims | <u>1-6</u> |
| Inventive step (IS) | Yes: Claims | <u>7, 10, 18, 32, 33, 44-48(completely); 21-31, 34, 35, 38-42(partially)</u> |
| | No: Claims | <u>1-6</u> |
| Industrial applicability (IA) | Yes: Claims | <u>1-7, 10, 18, 32, 33, 44-48(completely); 21-31, 34, 35, 38-42(partially)</u> |
| | No: Claims | |
2. Citations and explanations
- see separate sheet

**WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY**

International application No.
PCT/US2009/062646

Box No. VI Certain documents cited

1. Certain published documents (Rules 43*bis*.1 and 70.10)
and / or
2. Non-written disclosures (Rules 43*bis*.1 and 70.9)

see form 210

Box No. VII Certain defects in the international application

The following defects in the form or contents of the international application have been noted:

see separate sheet

re item III:

Incomplete Search:

Present claims 1 to 6 relate to an extremely large number of possible compounds. In fact the claims contain so many options, variables and possible permutations, that a lack of clarity and conciseness within the meaning of Art. 6 PCT arises to such an extent as to render a meaningful search of said claims impossible. Consequently the search has been carried out for those parts of the claims which do appear to be clear and concise, i.e. for the only example given, i.e. the compounds of claim 7 and the subject matter of claims 10, 18, 21-31, 32-35, 38-42 and 44 -48 **but only as far as depending on claim 7.**

The initial phase of the search of the subject matter of claims 1 to 6 revealed a very large number of documents (more than 4000) relevant for the subject matter of claims 1 to 6. So many documents were retrieved that it is impossible to determine which parts of the claim(s) may be said to define subject - matter for which protection might legitimately be sought (Article 6 PCT). For these reasons, a meaningful search over the whole breadth of the claim(s) is impossible. Consequently, the search has been restricted to the example and the subject matter of claim 7 and the claims as far as they relate to claim 7.

Claims 44 to 48 in its present form are directed to methods for the treatment of the human or animal body. Under the terms of Rule 67.1 (iv) and Article 34 (4)a)I) PCT the International Preliminary Examination Authority is not required to carry out an examinations on such claims.

re item IV:

1. Non Unity

The present application lacks unity a priori within the meaning of Rule 13.2. PCT for the following reason:

In order to represent a single common inventive concept, which is different from the prior art, the compounds of the present application should have a novel feature, which is common to all of the claimed compounds as compared to the compounds of the prior art. In the present application this is definitely not the case: The compounds according to claims 1 to 7 are compounds that are used for increasing or expanding the number of CD34+ stem cells for transplantation, whereas the methods of increasing or expanding such cells according to claims 8 , 9, 11 to 17, 19 and 20 and the compositions according to claims 36 and 37 and the method of treatment according to claim 43 have nothing to do with the compounds of claims 1 to 7 and their activity.

**WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING
AUTHORITY (SEPARATE SHEET)**

International application No.

PCT/US2009/062646

Consequently, the present application contains at least 2 different concepts: The separate groups of "inventions" in the application are the following, being independent from each other:

(1): compounds according to claims 1-7, methods of increasing and expanding stem cells according to claims 10, 18 and 21-31 (all partly), a kit for expanding stem cells according to claims 32 and 33, cell population according to claim 34 (partly), compositions of claims 35 and 38-42 (all partly) and methods of treatment according to claims 44-48

(2): methods of increasing and expanding stem cells according to claims 8, 9, 11-17, 19, 20 and 21-31 (all partly), a cell population according to claim 34 (partly), compositions of claims 35 (partly), 36, 37 and 38-42 (all partly) and methods of treatment according to claim 43

Thus, the present application cannot be considered to fulfil the requirements of unity with respect to the fact that four different technical problems are underlying the present application with four different solutions and with different closest prior art:

(1) the provision of compounds according to claim 1 for use in increasing or expanding stem cells for transplantation, corresponding methods, kits, cell populations, compositions and methods of treatment

(2) the provision of a methods for increasing or expanding stem cells for transplantation without any involvement of the compounds of claim 1, corresponding, cell populations, compositions and methods of treatment

Thus, there is no technical relationship between the 2 claimed inventions involving one or more common special technical features (according to Rule 13.2 PCT, i.e. those technical features that define a contribution which each of the inventions, considered as a whole, makes over the prior art). Consequently the Examining Division considers that neither the group of the inventions (1) and (2) nor their solutions (if any) are so linked as to form a single inventive concept. Thus, the present application cannot be considered to fulfil the requirements of unity and the Applicant is therefore asked to restrict the claims in order to fulfil the requirement of unity.

re item V:

Due to non unity and to overflow when searching the compounds of claims 1 to 6 in the CA database, the search had to be restricted to the subject matter of claim 7 and the subject matter of claims 10, 18, 21-35, 38-42 and 44-48 but only as far as depending on claim 7.

1. Prior art

Relevant prior art is inter alia to be seen in the following list of documents which is not complete due to overflow as cited in the International Search Report:

Reference is made to the following documents:

- D1 VANDROMME, LUCIE ET AL: "Suzuki-type Pd(0) coupling reactions in the synthesis of 2-aryl purines as Cdk inhibitors" 2006 , BIOORGANIC & MEDICINAL CHEMISTRY LETTERS , 16(12), 3144-3146 CODEN: BMCLE8; ISSN: 0960-894X , XP0025106196
- D2 WO 03/031406 A2 (IRM LLC, BERMUDA; THE SCRIPPS RESEARCH INSTITUTE) 17 April 2003 (2003-04-17)
- D3 BRUN, VIRGINIE ET AL: "Traceless solid-phase synthesis of 2,6,9-trisubstituted purines from resin bound 6-thiopurines" TETRAHEDRON , 58(39), 7911-7923 CODEN: TETRAB; ISSN: 0040-4020, 2002 , XP004381446
- D4 BIAGI, GIULIANA ET AL: "erythro- and threo-2-Hydroxynonyl substituted 2-phenyladenines and 2-phenyl-8-azaadenines: ligands for A1 adenosine receptors and adenosine deaminase" FARMACO , 57(3), 221-233 CODEN: FRMCE8; ISSN: 0014-827X, 2002 , XP009132849
- D5 DING, SHENG ET AL: "Expanding the diversity of purine libraries" TETRAHEDRON LETTERS , 42(50), 8751-8755 CODEN: TELEAY; ISSN: 0040-4039, 2001 , XP002580912
- D6 WAN, Z. ET AL.: BIOORGANIC & MEDICAL CHEMISTRY LETTERS, vol. 13, no. 6, 2003 , pages 1191-1194, XP009132793
- D7 OUMATA, N. ET AL.: JOURNAL OF MEDICINAL CHEMISTRY, vol. 51, no. 17, 2008 , pages 5229-5242, XP002544873
- D8 GIORGI, I. ET AL.: EUROPEAN JOURNAL OF MEDICINAL CHEMISTRY, vol. 43, no. 8, 2008 , pages 1639-1647, XP23315543
- D9 WO 01/49688 A1 (UNIVERSITAIRE INSTELLING ANTWE [BE]; USTAV EX BOTAN AKADEMIE VED CE [C]) 12 July 2001 (2001-07-12)

**WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING
AUTHORITY (SEPARATE SHEET)**

International application No.

PCT/US2009/062646

- D10 EP 0 682 027 A1 (CIBA GEIGY AG [CH]) 15 November 1995 (1995-11-15)
- D11 WO 2006/035061 A1 (TIBOTEC PHARM LTD [IE]; SIMMEN KENNETH ALAN [BE]; LIN TSE-I [BE]; LENZ) 6 April 2006 (2006-04-06)
- D12 WO 2005/026164 A1 (ALTANA PHARMA AG [DE]; CHIESA M VITTORIA [DE]) 24 March 2005 (2005-03-24)
- D13 EP 0 082 369 A1 (MERCK PATENT GMBH [DE]) 29 June 1983 (1983-06-29)
- D14 WO 2006/061380 A2 (ALTANA PHARMA AG [DE]; BREHM CHRISTOF [DE]; BUHR WILM [DE]; CHIESA M V) 15 June 2006 (2006-06-15)
- D15 WO 2009/097446 A1 (GENENTECH INC [US]; HOFFMANN LA ROCHE [CH]; DOTSON JENNAFER [US]; HEFF) 6 August 2009 (2009-08-06)
- D16 WO 2006/024174 A1 (PROMETIC BIOSCIENCES INC [CA]; PENNEY CHRISTOPHER [CA]; ZACHARIE BOULO) 9 March 2006 (2006-03-09)

2. Novelty

The purine derivatives according to claim 7 differ structurally considerably from those as disclosed in document D16 by the amino group L-R^2 in position 6 and the substituent R^4 in position 9. The compounds of present claim 7 which has been searched completely, are not disclosed in any of the cited documents and are considered to be novel. The same applies for the claims depending on claim 7, i.e. 10, 18, 21-35, 38-42 and 44-48, **but only as far as they relate to claim 7 only.**

Nevertheless, the novelty of present claims 1 to 6 is destroyed by the disclosure as specifically an detailed set out in the International Search Report: compound 17 according to D1, compounds B1 to B3, B5 in table 1, last compound on p. 44 and the three compounds on p. 45 according to D2, compound 21 according to D3, entries 1 and 2 in table 1 according to D4, compound 5 according to D6, compounds 12a and 12b according to D7, compound 18 according to D8, the 1st, 9th, and 16th compound on p. 56, the 4th and 14th compound on p. 56 in table 2 according to D9, intermediates I-3, I-4, I-5 and I-6 according to D10, compounds of formula (28) and (29) on p. 45-47 according to D11, compounds 2 and 6 according to D12, examples 127, 128, 133-137, 144-149, 153, 163-167, 174-179 and 189 according to D13 and compound 1 according to D14. Thus the subject matter of present claims 1 to 6 does not fulfil the requirement of Art. 33 (2) PCT.

3. Inventive step

The closest prior art is to be seen in document D9 and D16, since these documents as well as the present application are concerned with compounds having an activity on the proliferation of hematopoietic cells. Whereas the compounds according to claim 7 being stimulants for the hematopoietic system as are those according to D16, they differ structurally considerably from those according to D16, as set out under item 2, above: the although for claims 1 to 6 novelty destroying compounds according to D9 do indeed show the reversed effect, i.e. they are inhibitors of the proliferation of such cells.

Therefore, the problem underlying the present application is to be seen in the provision of further compounds for expanding or increasing stem cells. As far as specified and exemplified compounds are concerned this problem can be considered as having been solved. The solution of this problem can be considered to involve an inventive step with respect to the cited documents, since the skilled man, faced with said problem would neither have been lead by document D9 disclosing an inhibitory effect on the proliferation of hematopoietic cells nor by document D16, disclosing purine derivatives with a completely different substitution pattern as to result with the claimed derivatives.

Thus, at least as far as compounds specified in the description and in the claims and the exemplified compounds of the present application are concerned, the claimed subject matter of claim 7 and the ones depending thereon only can in principal be considered to fulfil the requirement of Art. 33 (3) PCT with respect to the cited prior art.

4. Industrial applicability

No problem arises, since the compounds of claim 7 may be used for the production of pharmaceutical compositions.

re item VI:

It is brought to the Applicant's attention, that documents D7, D8 and D15 will be relevant for the consideration of novelty and inventive step for any subject matter entitled to the filing date only.

re item VII:

**WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING
AUTHORITY (SEPARATE SHEET)**

International application No.

PCT/US2009/062646

According to the PCT Guidelines, part II, chapter 5.26, present claim 34, defined as a product-by-process claim is not admissible, since directed to a cell population with expanded hematopoietic stem cells per se. Since the patentability of a product defined by a product-by-process claim does not depend on its method of production, claim 34 is not admissible and should be deleted.

Possible steps after receipt of the international search report (ISR) and written opinion of the International Searching Authority (WO-ISA)

General information	For all international applications filed on or after 01/01/2004 the competent ISA will establish an ISR. It is accompanied by the WO-ISA. Unlike the former written opinion of the IPEA (Rule 66.2 PCT), the WO-ISA is not meant to be responded to, but to be taken into consideration for further procedural steps. This document explains about the possibilities.
Amending claims under Art. 19 PCT	Within 2 months after the date of mailing of the ISR and the WO-ISA the applicant may file amended claims under Art. 19 PCT directly with the International Bureau of WIPO. The PCT reform of 2004 did not change this procedure. For further information please see Rule 46 PCT as well as form PCT/ISA/220 and the corresponding Notes to form PCT/ISA/220.
Filing a demand for international preliminary examination	In principle, the WO-ISA will be considered as the written opinion of the IPEA. This should, in many cases, make it unnecessary to file a demand for international preliminary examination. If the applicant nevertheless wishes to file a demand this must be done before expiry of 3 months after the date of mailing of the ISR/ WO-ISA or 22 months after priority date, whichever expires later (Rule 54bis PCT). Amendments under Art. 34 PCT can be filed with the IPEA as before, normally at the same time as filing the demand (Rule 66.1 (b) PCT). If a demand for international preliminary examination is filed and no comments/amendments have been received the WO-ISA will be transformed by the IPEA into an IPRP (International Preliminary Report on Patentability) which would merely reflect the content of the WO-ISA. The demand can still be withdrawn (Art. 37 PCT).
Filing informal comments	After receipt of the ISR/WO-ISA the applicant may file informal comments on the WO-ISA directly with the International Bureau of WIPO. These will be communicated to the designated Offices together with the IPRP (International Preliminary Report on Patentability) at 30 months from the priority date. Please also refer to the next box.
End of the international phase	At the end of the international phase the International Bureau of WIPO will transform the WO-ISA or, if a demand was filed, the written opinion of the IPEA into the IPRP, which will then be transmitted together with possible informal comments to the designated Offices. The IPRP replaces the former IPER (international preliminary examination report).
Relevant PCT Rules and more information	Rule 43 PCT, Rule 43bis PCT, Rule 44 PCT, Rule 44bis PCT, PCT Newsletter 12/2003, OJ 11/2003, OJ 12/2003

From the INTERNATIONAL BUREAU

PCT

NOTIFICATION OF THE RECORDING
OF A CHANGE

(PCT Rule 92bis.1 and
Administrative Instructions, Section 422)

To:

REID, Scott
Genomics Institute of the Novartis
Research Foundation
10675 John Jay Hopkins Drive
San Diego, California 92121
ETATS-UNIS D'AMERIQUE

Date of mailing (day/month/year)
09 March 2011 (09.03.2011)

Applicant's or agent's file reference
PAT 052919-WO-PCT

International application No.
PCT/US2009/062646

IMPORTANT NOTIFICATION

International filing date (day/month/year)
29 October 2009 (29.10.2009)

The following indications appeared on record concerning:

☒ the applicant ☐ the inventor ☐ the agent ☐ the common representative

Name and Address
IRM LLC
Hurst Holme
12 Trott Road
Hamilton, HM 11
Bermuda

State of Nationality
US

State of Residence

Telephone No.
858-812-1796

Facsimile No.
858-812-1909

E-mail address
iplegal@gnf.org

2. The International Bureau hereby notifies the applicant that the following change has been recorded concerning:

☐ the person ☐ the name ☒ the address ☐ the nationality ☐ the residence

Name and Address
IRM LLC
31 Front Street,
P.O. Box HM 2899
Hamilton HM LX
Bermuda

State of Nationality
US

State of Residence

Telephone No.
858-812-1796

Facsimile No.
858-812-1909

E-mail address
iplegal@gnf.org
☐ Notifications by e-mail authorized

3. Further observations, if necessary:
The new agent's file reference is: PAT 052919-WO-PCT

4. A copy of this notification has been sent to:

☒ the receiving Office
☐ the International Searching Authority
☐ the Authority(ies) specified for supplementary search

☐ the International Preliminary Examining Authority
☒ the designated Offices concerned
☐ the elected Offices concerned
☐ other:

The International Bureau of WIPO
34, chemin des Colombettes
1211 Geneva 20, Switzerland

Authorized officer

Aliu Odile
e-mail pt04.pct@wipo.int
Telephone No. +41 22 338 74 04

Facsimile No. +41 22 338 89 95

From the INTERNATIONAL BUREAU

PCT

NOTIFICATION OF THE RECORDING
OF A CHANGE

(PCT Rule 92bis.1 and
Administrative Instructions, Section 422)

To:
SMITH, Chihang, A. Genomics Institute of the Novartis Research Foundation 10675 John Jay Hopkins Drive San Diego, California 92121 ETATS-UNIS D'AMERIQUE

Date of mailing (day/month/year) 09 March 2011 (09.03.2011)
Applicant's or agent's file reference PAT 052919-WO-PCT
International application No. PCT/US2009/062646

IMPORTANT NOTIFICATION
International filing date (day/month/year) 29 October 2009 (29.10.2009)

The following indications appeared on record concerning:		
☐ the applicant	☐ the inventor	☒ the agent
☐ the common representative		
Name and Address REID, Scott Genomics Institute of the Novartis Research Foundation 10675 John Jay Hopkins Drive San Diego, California 92121 United States of America	State of Nationality	State of Residence
	Telephone No. 858-812-1796	
	Facsimile No. 858-812-1909	
	E-mail address iplegal@gnf.org	

2. The International Bureau hereby notifies the applicant that the following change has been recorded concerning:		
☐ the person	☒ the name	☐ the address
☐ the nationality	☐ the residence	
Name and Address SMITH, Chihang, A. Genomics Institute of the Novartis Research Foundation 10675 John Jay Hopkins Drive San Diego, California 92121 United States of America	State of Nationality	State of Residence
	Telephone No. 858-812-1796	
	Facsimile No. 858-812-1909	
	E-mail address iplegal@gnf.org	
	☐ Notifications by e-mail authorized	

3. Further observations, if necessary:
--

4. A copy of this notification has been sent to:	
☒ the receiving Office	☐ the International Preliminary Examining Authority
☐ the International Searching Authority	☒ the designated Offices concerned
☐ the Authority(ies) specified for supplementary search	☐ the elected Offices concerned
	☐ other:

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland	Authorized officer Aliu Odile
Facsimile No. +41 22 338 89 95	e-mail pt04.pct@wipo.int
	Telephone No. +41 22 338 74 04

PATENT COOPERATION TREATY

PCT/US2009/062646

From the INTERNATIONAL BUREAU

PCT

NOTIFICATION OF THE RECORDING
OF A CHANGE

(PCT Rule 92bis.1 and
Administrative Instructions, Section 422)

To:

REID, Scott
Genomics Institute of the Novartis
Research Foundation
10675 John Jay Hopkins Drive
San Diego, California 92121
ETATS-UNIS D'AMERIQUE

Date of mailing (day/month/year) 09 March 2011 (09.03.2011)	IMPORTANT NOTIFICATION
Applicant's or agent's file reference PAT 052919-WO-PCT	
International application No. PCT/US2009/062646	International filing date (day/month/year) 29 October 2009 (29.10.2009)

1. The following indications appeared on record concerning:

☒ the applicant ☒ the inventor ☐ the agent ☐ the common representative

Name and Address WANG, Xing 16152 Avenida Venusto, No. 4 San Diego, California 92128 United States of America	State of Nationality CN	State of Residence US
	Telephone No.	
	Facsimile No.	
	E-mail address	

2. The International Bureau hereby notifies the applicant that the following change has been recorded concerning:

☐ the person ☐ the name ☒ the address ☐ the nationality ☐ the residence

Name and Address WANG, Xing 445 Monterey Ridge Drive San Diego, California 92127 United States of America	State of Nationality CN	State of Residence US
	Telephone No.	
	Facsimile No.	
	E-mail address ☐ Notifications by e-mail authorized	

3. Further observations, if necessary:

4. A copy of this notification has been sent to:

☒ the receiving Office	☐ the International Preliminary Examining Authority
☐ the International Searching Authority	☒ the designated Offices concerned
☐ the Authority(ies) specified for supplementary search	☐ the elected Offices concerned
	☐ other:

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland	Authorized officer Aliu Odile
Facsimile No. +41 22 338 89 95	e-mail pt04.pct@wipo.int Telephone No. +41 22 338 74 04

PATENT COOPERATION TREATY

PCT/US2009/062646

From the INTERNATIONAL BUREAU

PCT

NOTIFICATION OF THE RECORDING
OF A CHANGE

(PCT Rule 92bis.1 and
Administrative Instructions, Section 422)

To:
REID, Scott
Genomics Institute of the Novartis
Research Foundation
10675 John Jay Hopkins Drive
San Diego, California 92121
ETATS-UNIS D'AMERIQUE

Date of mailing (day/month/year)
09 March 2011 (09.03.2011)
Applicant's or agent's file reference
PAT 052919-WO-PCT
International application No.
PCT/US2009/062646

IMPORTANT NOTIFICATION
International filing date (day/month/year)
29 October 2009 (29.10.2009)

The following indications appeared on record concerning:		
☒ the applicant	☒ the inventor	☐ the agent
☐ the common representative		
Name and Address	State of Nationality	State of Residence
WAN, Yongqin	CN	US
19 Santa Eugenia	Telephone No.	
Irvine, California 92026	Facsimile No.	
United States of America	E-mail address	

2. The International Bureau hereby notifies the applicant that the following change has been recorded concerning:		
☐ the person	☐ the name	☐ the address
☒ the nationality	☐ the residence	
Name and Address	State of Nationality	State of Residence
WAN, Yongqin	US	US
19 Santa Eugenia	Telephone No.	
Irvine, California 92026	Facsimile No.	
United States of America	E-mail address	
☐ Notifications by e-mail authorized		

3. Further observations, if necessary:
--

4. A copy of this notification has been sent to:	
☒ the receiving Office	☐ the International Preliminary Examining Authority
☐ the International Searching Authority	☒ the designated Offices concerned
☐ the Authority(ies) specified for supplementary search	☐ the elected Offices concerned
	☐ other:

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland	Authorized officer
Facsimile No. +41 22 338 89 95	Aliu Odile
	e-mail pt04.pct@wipo.int
	Telephone No. +41 22 338 74 04

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

(PCT Article 18 and Rules 43 and 44)

Applicant's or agent's file reference 52976-WO-PCT	FOR FURTHER ACTION see Form PCT/ISA/220 as well as, where applicable, item 5 below.	
International application No. PCT/US2009/062646	International filing date (day/month/year) 29/10/2009	(Earliest) Priority Date (day/month/year) 30/10/2008
Applicant IRM LLC		

This international search report has been prepared by this International Searching Authority and is transmitted to the applicant according to Article 18. A copy is being transmitted to the International Bureau.

This international search report consists of a total of 8 sheets.

☐ It is also accompanied by a copy of each prior art document cited in this report.

1. Basis of the report

a. With regard to the language, the international search was carried out on the basis of:



the international application in the language in which it was filed



a translation of the international application into _____, which is the language of a translation furnished for the purposes of international search (Rules 12.3(a) and 23.1(b))

b. ☐

This international search report has been established taking into account the rectification of an obvious mistake authorized by or notified to this Authority under Rule 91 (Rule 43.6bis(a)).

c. ☐

With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, see Box No. I.

2. ☐

Certain claims were found unsearchable (See Box No. II)

3. ☒

Unity of invention is lacking (see Box No III)

4. With regard to the title,



the text is approved as submitted by the applicant



the text has been established by this Authority to read as follows:

5. With regard to the abstract,



the text is approved as submitted by the applicant



the text has been established, according to Rule 38.2(b), by this Authority as it appears in Box No. IV. The applicant may, within one month from the date of mailing of this international search report, submit comments to this Authority

6. With regard to the drawings,

a. the figure of the drawings to be published with the abstract is Figure No. _____



as suggested by the applicant



as selected by this Authority, because the applicant failed to suggest a figure



as selected by this Authority, because this figure better characterizes the invention

b. ☒

none of the figures is to be published with the abstract

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2009/062646

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

INV. C07D473/34 C07D487/04
ADD. A61K31/52 A61K31/519 A61P37/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
C07D

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, CHEM ABS Data, BEILSTEIN Data, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	VANDROMME, LUCIE ET AL: "Suzuki-type Pd(0) coupling reactions in the synthesis of 2-arylpurines as Cdk inhibitors" 2006, BIOORGANIC & MEDICINAL CHEMISTRY LETTERS, 16(12), 3144-3146 CODEN: BMCLE8; ISSN: 0960-894X, XP0025106196 see compound 17 on p. 3146	1-6
X	WO 03/031406 A2 (IRM LLC, BERMUDA; THE SCRIPPS RESEARCH INSTITUTE) 17 April 2003 (2003-04-17) see the first 4 compounds of passage (0053) on p. 13, compounds B1, B2, B3 and B5 on p. 41 and the three compounds on p. 45 ----- -/--	1-6

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier document but published on or after the international filing date
- "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- "&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

17 May 2010

Date of mailing of the international search report

04/08/2010

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Traegler-Goeldel, M

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2009/062646

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	BRUN, VIRGINIE ET AL: "Traceless solid-phase synthesis of 2,6,9-trisubstituted purines from resin bound 6-thiopurines" TETRAHEDRON , 58(39), 7911-7923 CODEN: TETRAB; ISSN: 0040-4020, 2002, XP004381446 see compound 21 on p. 7914	1-6
X	BIAGI, GIULIANA ET AL: "erythro- and threo-2-Hydroxynonyl substituted 2-phenyladenines and 2-phenyl-8-azaadenines: ligands for A1 adenosine receptors and adenosine deaminase" FARMACO , 57(3), 221-233 CODEN: FRMCE8; ISSN: 0014-827X, 2002, XP009132849 see compounds 11 and 20 in scheme 1 on p. 223	1-6
X	DING, SHENG ET AL: "Expanding the diversity of purine libraries" TETRAHEDRON LETTERS , 42(50), 8751-8755 CODEN: TELEAY; ISSN: 0040-4039, 2001, XP004322535 see entries 1 and 2 in table 1 on p. 8752	1-6
X	WAN, Z. ET AL.: BIOORGANIC & MEDICAL CHEMISTRY LETTERS, vol. 13, no. 6, 2003, pages 1191-1194, XP009132793 see compound 5 in scheme 1 on p. 1192	1-6
X,P	OUMATA, N. ET AL.: JOURNAL OF MEDICINAL CHEMISTRY, vol. 51, no. 17, 2008, pages 5229-5242, XP002544873 compounds 12a and 12b in table 2 on p. 5233	1-6
X,P	GIORGI, I. ET AL.: EUROPEAN JOURNAL OF MEDICINAL CHEMISTRY, vol. 43, no. 8, 2008, pages 1639-1647, XP23315543 see compound 18 in scheme 2 on p. 1641	1-6
X	WO 01/49688 A1 (UNIVERSITAIRE INSTELLING ANTWE [BE]; USTAV EX BOTAN AKADEMIE VED CE [C]) 12 July 2001 (2001-07-12)	1-6
A	see the 3 compounds of table 2 on p. 55 and the 2 compounds of table 2 on p. 56 wherein C2 is not substituted, examples 3 and 4, relevant for compounds of formula Ia	7,10,18, 21-35, 38-42, 44-48
	----- -/--	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2009/062646

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	EP 0 682 027 A1 (CIBA GEIGY AG [CH]) 15 November 1995 (1995-11-15) see intermediates I-3, I-4, I-5 and I-6 on p. 17 relevant for the compounds of formula Ie	1-6
X	WO 2006/035061 A1 (TIBOTEC PHARM LTD [IE]; SIMMEN KENNETH ALAN [BE]; LIN TSE-I [BE]; LENZ) 6 April 2006 (2006-04-06) synthesis of compounds of formula (2) and (29) on p. 45 and 47, relevant for compounds of formula Ib	1-5
X	WO 2005/026164 A1 (ALTANA PHARMA AG [DE]; CHIESA M VITTORIA [DE]) 24 March 2005 (2005-03-24) see compounds 1 and 6 on p. 36 and 37, relevant for compounds of formula Ic	1-6
X	EP 0 082 369 A1 (MERCK PATENT GMBH [DE]) 29 June 1983 (1983-06-29) see examples 127, 128, 134-137, 144-149, 163-167, 174-179 and 184, relevant for compounds of formula Ic	1-6
X	WO 2006/061380 A2 (ALTANA PHARMA AG [DE]; BREHM CHRISTOF [DE]; BUHR WILM [DE]; CHIESA M V) 15 June 2006 (2006-06-15) see compound 1 on p. 22, relevant for compounds of formula Id	1-6
X,P	WO 2009/097446 A1 (GENENTECH INC [US]; HOFFMANN LA ROCHE [CH]; DOTSON JENNAFER [US]; HEFF) 6 August 2009 (2009-08-06) see compounds 101, 115, 118, 120, 123, 124, 126 and 127	1-6
A	WO 2006/024174 A1 (PROMETIC BIOSCIENCES INC [CA]; PENNEY CHRISTOPHER [CA]; ZACHARIE BOULO) 9 March 2006 (2006-03-09) see structure of the compounds of claim 1 and stimulation of the hematopoietic system	1-7, 10, 18, 21-35, 38-42, 44-48

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2009/062646

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

- 1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
- 2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
- 3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

see additional sheet

- 1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
- 2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
- 3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
- 4. ☒ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:
1-7, 10, 18, 32, 33, 44-48(completely); 21-31, 34, 35, 38-42(partially)

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

This International Searching Authority found multiple (groups of) inventions in this international application, as follows:

1. claims: 1-7, 10, 18, 32, 33, 44-48(completely); 21-31, 34, 35, 38-42(partially)

compounds according to claims 1-7, methods of increasing and expanding stem cells according to claims 10, 18 and 21-31 (all partly), a kit for expanding stem cells according to claims 32 and 33, cell population according to claim 34 (partly), compositions of claims 35 and 38-42 (all partly) and methods of treatment according to claims 44-48

2. claims: 8, 9, 11-17, 19, 20, 36, 37, 43(completely); 21-31, 34, 35, 38-42(partially)

methods of increasing and expanding stem cells according to claims 8, 9, 11-17, 19, 20 and 21-31 (all partly), a cell population according to claim 34 (partly), compositions of claims 35 (partly), 36, 37 and 38-42 (all partly) and methods of treatment according to claim 43

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2009/062646

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 03031406	A2	17-04-2003	AU 2002342051 B2	11-06-2009
			CA 2463563 A1	17-04-2003
			EP 1578722 A2	28-09-2005
			JP 2005512972 T	12-05-2005
WO 0149688	A1	12-07-2001	AT 322494 T	15-04-2006
			AU 3540101 A	16-07-2001
			CA 2396276 A1	12-07-2001
			CZ 20022353 A3	12-02-2003
			DE 60118521 T2	12-10-2006
			JP 2003519232 T	17-06-2003
			NO 20023247 A	09-09-2002
			US 2003187261 A1	02-10-2003
EP 0682027	A1	15-11-1995	AT 159257 T	15-11-1997
			AU 695244 B2	13-08-1998
			AU 1772295 A	09-11-1995
			CA 2148324 A1	04-11-1995
			CN 1128263 A	07-08-1996
			CZ 9501131 A3	13-12-1995
			DE 59500788 D1	20-11-1997
			DK 682027 T3	04-05-1998
			ES 2109796 T3	16-01-1998
			FI 952033 A	04-11-1995
			GR 3025158 T3	27-02-1998
			HK 1002935 A1	25-09-1998
			HU 71818 A2	28-02-1996
			JP 3042760 B2	22-05-2000
			JP 8053454 A	27-02-1996
			NO 951684 A	06-11-1995
			NZ 272031 A	29-01-1997
			PL 308426 A1	13-11-1995
			SK 56195 A3	08-05-1996
			US 5686457 A	11-11-1997
WO 2006035061	A1	06-04-2006	AR 052771 A1	04-04-2007
			AU 2005288858 A1	06-04-2006
			CA 2577745 A1	06-04-2006
			JP 2008514678 T	08-05-2008
			KR 20070058602 A	08-06-2007
			RU 2380101 C2	27-01-2010
			US 2007155716 A1	05-07-2007
WO 2005026164	A1	24-03-2005	US 2006194782 A1	31-08-2006
EP 0082369	A1	29-06-1983	AU 555717 B2	09-10-1986
			AU 9132982 A	23-06-1983
			CA 1245657 A1	29-11-1988
			DE 3150486 A1	25-08-1983
			ES 8403481 A1	16-06-1984
			HU 191622 B	30-03-1987
			IL 67481 A	30-06-1985
			JP 58110585 A	01-07-1983
			US 4654350 A	31-03-1987
			ZA 8209304 A	28-09-1983
WO 2006061380	A2	15-06-2006	AU 2005313313 A1	15-06-2006
			CA 2589448 A1	15-06-2006

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2009/062646

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2006061380 A2		US 2008119510 A1	22-05-2008
WO 2009097446 A1	06-08-2009	NONE	
WO 2006024174 A1	09-03-2006	AU 2005279614 A1	09-03-2006
		BR PI0515136 A	08-07-2008
		CA 2578993 A1	09-03-2006
		CN 101080229 A	28-11-2007
		EA 200700543 A1	26-10-2007
		EP 1784190 A1	16-05-2007
		JP 2008511553 T	17-04-2008
		KR 20070063507 A	19-06-2007
		US 2008090848 A1	17-04-2008
		ZA 200701781 A	26-11-2008



No. 11-058070- -00000-0000

Fecha: 2011-05-11 17:20:48 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 221

PATENTE DE INVENCION ☐

MODELO

- ☐ Indicación que se solicita una patente.
 - ☐ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
 - ☐ Descripción de la invención
 - ☐ Dibujos de ser estos pertinentes
 - ☐ Comprobante de pago de las tasas establecidas (De ser el caso formato de descuento)
- Completa ☐ Incompleta ☐

PATENTE DE INVENCION PCT ☒

MODELO DE UTILIDAD PCT ☐

Art.33 Decisión 486/00, Circular Única

- ☒ Indicación que se solicita una PCT
 - ☒ Copia de la solicitud en español, tal como fue presentada inicialmente (capítulo descriptivo, reivindicatorio, resumen)
 - ☒ Dibujos de ser estos pertinentes
 - ☒ Comprobante de pago de las tasas establecidas (de ser el caso formato de descuento)
- Completa ☒ Incompleta ☐

DISEÑO INDUSTRIAL ☐

(Art. 119 Decisión 486/00)

- ☐ Indicación que se solicita Diseño industrial
 - ☐ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
 - ☐ Representación gráfica y fotográfica del Diseño industrial o muestra del material que incorpora el diseño
 - ☐ Comprobante de pago de las tasas establecidas
- Completa ☐ Incompleta ☐

ESQUEMA DE TRAZADO ☐

(Art. 92 Decisión 486/00)

- ☐ Indicación que se solicita un esquema de trazado
 - ☐ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
 - ☐ Representación gráfica de un esquema de trazado
 - ☐ Comprobante de pago de las tasas establecidas
- Completa ☐ Incompleta ☐



Bogotá D.C.,
2020

Doctor(a)
OLARTE GARCIA CARLOS REINALDO
Apoderado(a) y/o Representante de
THE SCRIPPS RESEARCH INSTITUTE

REFERENCIA	Radicación No.	11 058070
	Solicitud internacional	PCT/US2009/62646
	Fecha inicio fase nacional	30/05/2011
	Trámite	11
	Evento	378
	Actuación	430
	Oficio No.	

109748

Como resultado del examen de forma, realizado con fundamento en el artículo 38 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, artículo 27 del Tratado de Cooperación en Materia de Patentes (PCT), regla 51 bis del Reglamento y Circular Única de la Superintendencia de Industria y Comercio, se le comunica que:

1. La solicitud no contiene el poder debidamente otorgado, con el lleno de los requisitos exigidos por los artículos 63 y subsiguientes del Código de Procedimiento Civil. Adicionalmente, deberá presentar el documento que acredita la existencia y representación legal de la sociedad solicitante, cuando ésta fuere persona jurídica.
2. La solicitud no contiene la copia del documento en que consta la cesión del derecho a la patente del inventor al solicitante o a su causante, conforme a lo establecido por el artículo 26 literal k) de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina. Cuando se trate de documentos otorgados en el extranjero, estos deberán legalizarse de conformidad con lo dispuesto por los artículos 259 y 260 del Código de Procedimiento Civil. Cuando se trate de las declaraciones a que hace referencia la Regla 4.17 ii) del Tratado de Cooperación en Materia de Patentes PCT., el alcance de las tales declaraciones se determinará según indiquen claramente una cesión de derechos del inventor al solicitante o su causante, de conformidad con lo dispuesto en el numeral 5.2.15 del Capítulo Quinto, Título X de la Circular Única de Superintendencia de Industria y Comercio.

En cumplimiento de lo dispuesto por el artículo 39 de la Decisión 486, se le requiere para que dentro del término de dos meses siguientes a la fecha de notificación del presente oficio, complete los requisitos anteriormente enunciados. En caso de no dar cumplimiento al presente requerimiento, la solicitud se considerará abandonada y perderá su prelación.

Continúa en la página siguiente...



Notifíquese el presente oficio conforme a lo dispuesto en el numeral 5.2, literal e), del capítulo quinto del título primero de la Circular Unica No.10 de 2001.

JOSE LUIS SALAZAR LOPEZ
Director de Nuevas Creaciones (c)

El anterior requerimiento fue notificado por fijación en lista de fecha 27 de mayo de 2011
adpa11



Bogotá D.C.,
2020

Doctor(a)
OLARTE GARCIA CARLOS REINALDO
Apoderado(a) y/o Representante de
THE SCRIPPS RESEARCH INSTITUTE

REFERENCIA	Radicación No.	11 058070
	Solicitud internacional	PCT/US2009/62646
	Fecha inicio fase nacional	30/05/2011
	Trámite	11
	Evento	378
	Actuación	430
	Oficio No.	09749

Teniendo en cuenta que el capítulo reivindicatorio presentado excede de diez reivindicaciones, es necesario que cancele la tasa establecida por cada reivindicación adicional presentada, de conformidad con lo dispuesto en la resolución de tasas vigente para la fecha de presentación de la solicitud, so pena de que no sean tenidas en cuenta dentro del presente trámite administrativo.

En consecuencia, con fundamento en lo previsto por el artículo 12 del Código Contencioso Administrativo, se le requiere para que dentro del término de dos (2) meses siguientes a la fecha de notificación del presente oficio atienda el requerimiento aquí señalado. Lo anterior, con el alcance que para tal efecto establece el artículo 13 de la misma codificación, respecto de las reivindicaciones adicionales.

Notifíquese el presente oficio conforme a lo dispuesto en el numeral 5.2, literal e), del capítulo quinto del título primero de la Circular Única N° 10 de 2001.

JOSE LUIS SALAZAR LOPEZ
Director de Nuevas Creaciones (c)

El anterior requerimiento fue notificado por fijación en lista de fecha 17 JUN. 2011
adpa11