



No. 12-055287- -00000-0000

Fecha: 2012-04-02 16:16:19  
Tra. 11 PATENTEIYII  
Act. 411 PRESENTACION

Dep. 2020 DIR.NUEVASCR  
Eve: 379 FASENACIONALI  
Folios: 264

# Industria y Comercio

## SUPERINTENDENCIA

SOLICITUD

### PATENTE DE INVENCION

21. EXPEDIENTE N° \_\_\_\_\_

54. TÍTULO COMPOSICIONES INMUNOGÉNICAS QUE INCLUYEN  
MODULADORES DE LA ACTIVIDAD DE LOS TLR.

51. CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL A61K 39/095

71. SOLICITANTE NOVARTIS AG.

DOMICILIO Basilea, Suiza

74. APODERADO DILIA MARIA RODRIGUEZ D'ALEMAN

22. BOGOTÁ, D.C. \_\_\_\_\_



No. 12-055287- -00000-0000

Fecha: 2012-04-02 16:16:19 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR  
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 379 FASENACIONALI  
Act. 411 PRESENTACION Folios: 264

FORMULARIO ÚNICO DE SOLICITUD DE PATENTE  
PCT  
ENTRADA EN FASE NACIONAL

1

SOLICITUD DE:

☒

Patente de Invención

☐

Patente de Modelo de Utilidad

☐

Capítulo I.

☒

Capítulo II.

2

SOLICITANTE  
(71)

Nombre: **NOVARTIS AG**

Dirección: Lichtstrasse 35, CH-4052 Basel,  
Suiza.

Nacionalidad o domicilio: Basel, Suiza.

Lugar de Constitución: Suiza

IDENTIFICACIÓN

C.C. ☐

NIT ☐

C.E. ☐

Otro ☐

Número

3

REPRESENTANTE  
O APODERADO  
(74)

Nombre: **DILIA MARÍA RODRÍGUEZ  
D'ALEMAN**

Dirección: Carrera 11 No. 86-53, piso 6

Teléfono: 6 181088 Fax: 6350824

E-mail: clarkemodet@clarkemodet.com.co

IDENTIFICACIÓN

C.C. ☒

NIT ☐

C.E. ☐

Otro ☐

Número 41.654.882  
TP 20824 CSJ

4

INVENTOR (ES)  
(72)

Nombre: **VER HOJA ANEXA**

Dirección:

Nacionalidad o domicilio:

5

PCT (86)

Solicitud Internacional No. PCT/IB2010/002386 Fecha 01 de septiembre de 2010

Publicación Internacional No. WO 2011/027222 A3 Fecha 10 de marzo de 2011

6

TÍTULO (54) COMPOSICIONES INMUNOGÉNICAS QUE INCLUYEN  
MODULADORES DE LA ACTIVIDAD DE LOS TLR.

7

Clasificación Internacional (51) A61K 39/095

8 Prioridad

SI

☒

NO

☐

(33) País de Origen

Estados Unidos de América

(32) Fecha

02 de septiembre de 2009

(31) Número de Solicitud

61/239.156

9

Comprobante de pago No. 12-28183 // 12-20278 // 12-28317

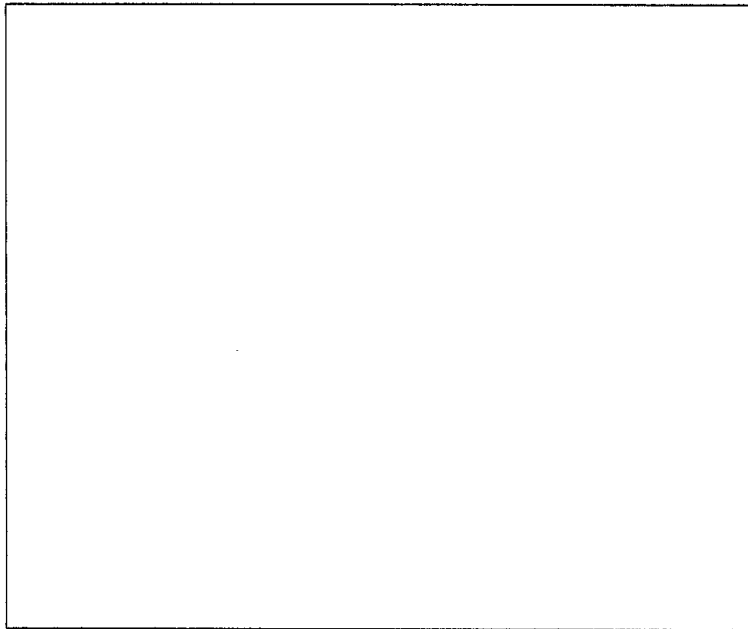
Fecha 21 de marzo de 2012 // 28 de febrero de 2012.

10

**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
- ☐ 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 de 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 deposito 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
- ☐ Otros

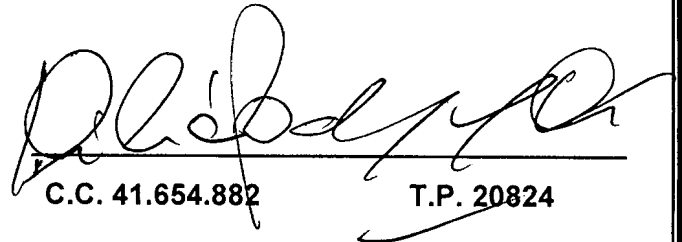
**11 FIGURA CARACTERÍSTICA**



**12 Solicito la concesión de la patente**

**NOMBRE :** DILIA MARÍA RODRÍGUEZ D'ALEMAN

**FIRMA:**

  
C.C. 41.654.882 T.P. 20824

**ANEXO**  
**INVENTORES**

**1.) SINGH, Manmohan**

(c/o Novartis Vaccines and Diagnostics, Inc., 4560 Horton Street, Emeryville, California 94608, Estados Unidos de América);

**2.) SKIBINSKI, David**

(c/o Novartis Vaccines, Via Fiorentina 1, I-53100 Siena Italia);

**3.) CIANETTI, Simona**

(c/o Novartis Vaccines, Via Fiorentina 1, I-53100 Siena Italia);

**4.) DORO, Francesco**

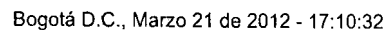
(c/o Novartis Vaccines, Via Fiorentina 1, I-53100 Siena Italia);

**5.) JAIN, Siddhartha**

(c/o Novartis Vaccines and Diagnostics, Inc., 4560 Horton Street, Emeryville, California 94608, Estados Unidos de América).

000002

## -/-



NI 830.008.643

## VR.PAGO

|              |                 |           |           |            |               |
|--------------|-----------------|-----------|-----------|------------|---------------|
| CONSIGNACION | BANCO DE BOGOTA | 062754387 | 325109562 | 20/03/2012 | 66.900.000.00 |
|--------------|-----------------|-----------|-----------|------------|---------------|

Vr.CONCEPTO

## 1 50005-01-02 PRORROGAS Y RENOVACIONES

### 30 PRORROGAS Y RENOVACIONES

820.000.00

820.000.00

\$820.000.00

**SON: \*\*OCHOCIENTOS VEINTE MIL PESOS MONEDA CORRIENTE\*\***

Responsible:

Recibo de Caja Aplicado al Expediente No.

1. The first step in the process is to identify the problem. This involves gathering information about the situation and understanding the needs of the stakeholders involved.

2. Once the problem is identified, the next step is to develop a plan. This involves setting goals, identifying resources, and determining the steps that need to be taken to address the problem.

3. The third step is to implement the plan. This involves putting the plan into action and monitoring progress to ensure that the goals are being met.

4. Finally, the fourth step is to evaluate the results. This involves assessing the effectiveness of the plan and making adjustments as needed to improve the outcome.

No. 12-055287- -00000-0000

Fecha: 2012-04-02 16:16:19 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR  
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 379 FASENACIONALII  
Act. 411 PRESENTACION Folios: 264

000003

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

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

, Marzo 21 de 2012 - 17:10:43

**SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO**

NIT : 800.176.089-2

- / -

**RECIBO DE CAJA**

**No. 12 - 0020278**

Industria y Comercio  
SUPERINTENDENCIA

Bogotá D.C., Febrero 28 de 2012 - 06:32:04

RECIBIDO DE : CLARKE MODET

NI 830.008.643

\*\*\* Soporte del Pago \*\*\*

| TIPO PAGO    | BANCO           | CUENTA    | No. PAGO  | FECHA PAGO | VR. PAGO      |
|--------------|-----------------|-----------|-----------|------------|---------------|
| CONSIGNACION | BANCO DE BOGOTA | 062754387 | 325098616 | 24/02/2012 | 56.630.000.00 |

\*\*\* Conceptos Pagados \*\*\*

| CANT.       | RENTISTICO  | CONCEPTO                                                         | Vr. UNDITARIO | Vr. CONCEPTO        |
|-------------|-------------|------------------------------------------------------------------|---------------|---------------------|
| 50005-01-01 | SOLICITUDES | 1641 S.DISTINTIVO INSCRIPCION AFECTACION<br>(CB.NOMBRE, DOMICIL) | 300.000.00    | 300.000.00          |
|             |             |                                                                  |               | <b>\$300.000.00</b> |

=====

SON: \*\*\*TRESCIENTOS MIL PESOS MONEDA CORRIENTE\*\*\*

Responsable:

Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. \_\_\_\_\_

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



**No. 12-055287- -00000-0000**

Fecha: 2012-04-02 16:16:19  
Tra. 11 PATENTEIYII  
Act. 411 PRESENTACION

Dep. 2020 DIR.NUEVASCR  
Eve: 379 FASENACIONALII  
Folios: 264

**000004**

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

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

Febrero 28 de 2012 - 06:32:32

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO  
NIT : 800.176.089-2  
- / -



RECIBO DE CAJA

No. 12 - 0028317

Bogotá D.C., Marzo 21 de 2012 - 17:10:32

RECIBIDO DE : CLARKE MODET NI 830.008.643

\*\*\* Soporte del Pago \*\*\*

| TIPO PAGO    | BANCO           | CUENTA    | No. PAGO  | FECHA PAGO | VR. PAGO      |
|--------------|-----------------|-----------|-----------|------------|---------------|
| CONSIGNACION | BANCO DE BOGOTA | 062754387 | 325109562 | 20/03/2012 | 66.900.000.00 |

\*\*\* Conceptos Pagados \*\*\*

| CANT. | RENTISTICO                       | CONCEPTO                                                  | Vr.UNDITARIO | Vr.CONCEPTO  |
|-------|----------------------------------|-----------------------------------------------------------|--------------|--------------|
| 1     | 50005-01-08 PRORROGA DE TERMINOS | 1609 S.DISTINTIVOS PRORROGA DE TERMINOS O PLAZO ADICIONAL | 100.000.00   | 100.000.00   |
|       |                                  |                                                           |              | \$100.000.00 |

SON: \*\*CIEN MIL PESOS MONEDA CORRIENTE\*\*

Responsable: \_\_\_\_\_

Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. \_\_\_\_\_

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 12-055287- -00000-0000

Fecha: 2012-04-02 16:16:19 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR  
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 379 FASENACIONALII  
Act. 411 PRESENTACION Folios: 264

000005

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

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

, Marzo 21 de 2012 - 17:10:47

# COLOMBIA

Carrera 11 N° 86-53 Piso 6 Bogotá Colombia Tel: (57 1) 6181088 Fax: (57 1) 6350824 Email: info@clarkemodet.com.co

## PODER

Yo (nosotros), abajo firmante(s)

Steve Braithwaite y Bernd Liphardt

en mi (nuestro) carácter de representante(s) legales de

Novartis AG.

una sociedad organizada y existente de acuerdo con las leyes de

Suiza

y en actual cumplimiento de su objeto social, con domicilio en

Lichtstrasse 35, 4052 Basel, Suiza

por el presente instrumento confiero (conferimos) poder especial a favor de DILIA MARIA RODRIGUEZ D'ALEMAN, con Cédula de Ciudadanía No. 41.654.882 de Bogotá, y tp. 20824 y CLAUDIA LUCIA CARO RAMIREZ, con Cédula de Ciudadanía No. 40.017.374 de Tunja, y tp. 36448, con domicilio en Bogotá, Colombia, para que actuando en su orden en nombre del (de la) otorgante le (la) representen ante cualquier entidad, autoridad y/o persona, especialmente ante las del orden Administrativo, Contencioso Administrativo, Judicial, Tribunales de Arbitramento y/o cualquier otro en lo referente a los siguientes asuntos:

- 1) Solicitar, tramitar, obtener y/o registrar cualquiera de las modalidades de Propiedad Industrial, tales como: patentes de invención, modelos de utilidad; diseños industriales, variedades vegetales; marcas, lemas, nombres y enseñanzas comerciales y denominaciones de origen; así como sus renovaciones, prórrogas, transferencias, cambios de nombre y/o domicilio, contratos y licencias.
- 2) Solicitar, tramitar, obtener y/o registrar derechos de autor, en cualquiera de sus presentaciones así como la protección de secretos industriales y know-how.
- 3) Solicitar, tramitar, obtener y/o registrar registros sanitarios, permisos y/o licencias de funcionamiento; así como sus renovaciones o prórrogas, transferencias, cambios de nombre y/o domicilio, contratos y licencias.
- 4) Ejercer acciones de oposición, observación, reclamos, reconsideración, reposición, apelación, cancelación administrativa o judicial, nulidad, protección al consumidor, concesión de licencias, protección de secretos industriales y demás acciones y recursos relacionados con derechos derivados de los asuntos arriba indicados y en contra de la competencia desleal, acciones derivadas de la obtención o explotación de licencias, acciones de indemnización de perjuicios. También podrá(n) intervenir en juicios civiles, comerciales, penales, contencioso-administrativos, tutelas y de policía; en acciones o juicios promovidos por el (la) mandante o en contra el (ella).
- 5) Registrar nombres de dominio ante la entidad competente.
- 6) En el ejercicio de este mandato los mandatarios arriba mencionados quedan facultados para: conciliar, cancelar, transigir, comprometer en árbitros, desistir, recibir y tomar posesión de la cosa objeto de litigio, renunciar o desistir a derechos concedidos o en curso de concesión, admitir los hechos del proceso.
- 7) Ratificar o no la agencia oficiosa.
- 8) Así mismo faculto (facultamos) a los mencionados apoderados para recibir notificaciones y designar apoderados judiciales o extrajudiciales, sustituir el presente poder y revocar las sustituciones que hubiere.

Dado y firmado en Basilea, Suiza

a los 1 días de Octubre de 2008

## POWER OF ATTORNEY

I (we), the undersigned

STEVE BRAITHWAITE and BERND LIPHARDT

legal representative(s) of

NOVARTIS AG

an organization existing under the laws of

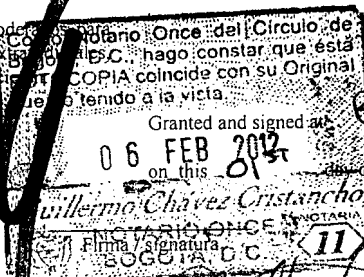
SWITZERLAND

and in present execution of its business activity, domiciled at

LICHTSTRASSE 35, 4052 BASEL, CH

do hereby grant POWER OF ATTORNEY to DILIA MARIA RODRIGUEZ D'ALEMAN, identification card No. 41.654.882 of Bogotá, and tp. 20824 and CLAUDIA LUCIA CARO RAMIREZ, tp. 36448, identification card No. 40.017.374 of Tunja, residing in Bogotá, Colombia, to act in the order of their appointment in behalf of grantor before any entity, authority and/or natural or juridical person, specially before those Administrative, Administrative-Contentious, Judicial, arbitration courts, and/or any other, in all matters concerning the following:

- 1) To apply, process, obtain and/or register any of the modalities of Industrial Property, such as: Patents of Invention, Utility Models; Designs, plant varieties; Marks, Slogans, Trade Names and emblems and appellations of Origin; as well as their renewals, assignments, changes of name and/or domicile, agreements and licenses.
- 2) To apply, process, obtain and/or register copyrights of any kind as well as protection of industrial secrets or know-how.
- 3) To apply, process, obtain and/or register sanitary registrations, operating authorizations and/or licenses; as well as their renewals or assignments, changes of name and/or domicile, agreements and licenses.
- 4) To bring actions of opposition, observations, claims, reconsideration, appeal or legal remedies, cancellations, nullity, protection to the consumer, granting of licenses, protection of trade secrets and other actions related with rights derived from the above-mentioned matters and against the unfair competition, actions resulting from the obtaining or exploitation of licenses, recovering damages actions. They can also intervene or participate in Civil, Commercial, Criminal or Contentious-Administrative Trials; the actions for writ mandamus, police actions; in actions, lawsuits or litigations instituted by the grantor or against him.
- 5) To register domain names before the competent entity.
- 6) To the effect of this mandate the above-named proxy are empowered to: conciliate, cancel, settle, submit to arbitration, withdraw and to receive and take possession of the litigation related objet and waive or renounce the rights granted or in process of granting, admit the facts of the case.
- 7) To ratify or not the officious agency.
- 8) I (we) hereby appoint the afore mentioned attorneys with powers to receive notifications and to designate judicial and extrajudicial attorneys, substitute this Power of Attorney and to revoke such substitutions.



Granted and signed at

06 FEB 2009

on this 01st

BASEL, CH

OCTOBER

of 2008

Novartis AG  
Steve Braithwaite  
Head of Patent Administration  
Novartis Animal Health

B. Liphardt

000006

## NOTARIAL CERTIFICATION

On this 10<sup>th</sup> (tenth) day of October 2008 (two thousand and eight), the undersigned Notary Public at Basel, Switzerland, Dr. Thomas Gelzer,

### CERTIFIES

1. That Mr. Steve Braithwaite, British citizen, residing in Basel, Switzerland, and Mr. Bodo Liphardt, German citizen, residing in Reinach/BL, Switzerland, (the "grantors"), both of legal age, set their hand on the foregoing document.
2. That the authenticity of the signatures of the grantors has been established by means of comparison and that they have the legal capacity to execute the instrument.
3. That the grantors have executed the foregoing document as proxy holders on behalf of Novartis AG, in Basel, Switzerland ("the corporate person"), with joint signature at two.
4. That the corporate person, having its home office in Basel, Switzerland, is duly organized, has present legal existence and that the purposes for which the power of attorney is granted are within the scope of its corporate purposes.
5. That the grantors have in fact the referred to authority and that their representation is legal.
6. That I have based certifications 3 (three), 4 (four) and 5 (five) above on the following authentic documents for such purpose exhibited to me and which I mention specifically, giving their dates and their origin of source:
  - Online Extract from the Register of Commerce of the Canton Basel-City/Switzerland, for Novartis AG of today.
  - Power of Attorney dated December 20 (twenty), 2007 (two thousand and seven).

BASEL, Switzerland, this 10<sup>th</sup> (tenth) day of October 2008 (two thousand and eight)

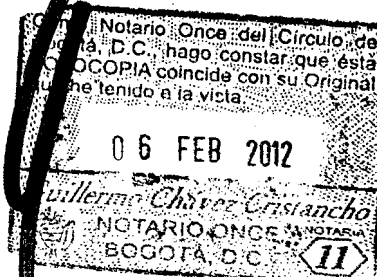
## CERTIFICACIÓN NOTARIAL

Al 10 (diez) del mes de octubre de 2008 (dos mil y ocho), el suscrito Notario Publico de Basilea, Suiza, Dr. Thomas Gelzer,

### DA FE

1. Que los Señores Steve Braithwaite, de Gran Bretaña, en Basilea, Suiza, y Bodo Liphardt, de Alemania, en Reinach/BL, Suiza (los "otorgantes"), mayor de edad, firmen de su puño y letra el documento que antecede.
2. Que la autenticidad de las firmas de los otorgantes fue verificada por comparación y que ellos tienen capacidad legal para el otorgamiento.
3. Que los otorgantes han suscrito el referido documento en su carácter de mandatarios de Novartis AG (la "persona jurídica"), facultados para hacer uso conjuntamente de la firma social.
4. Que la persona jurídica con sede en Basilea, Suiza, está legalmente constituida, que tiene existencia legal actual y que el acto para el cual se otorga el poder está comprendido entre los que constituyen su objeto social.
5. Que los otorgantes tienen efectivamente la representación que ostenta y que ésta es legítima.
6. Que he basado las certificaciones 3 (tres), 4 (cuatro) y 5 (cinco) anteriores en los siguientes documentos auténticos que al efecto se me exhibieron y que menciono específicamente con expresión de sus fechas y de su origen o procedencia:
  - Online Extracto del registro mercantil de Basilea-Ciudad/Suiza, para Novartis AG de hoy.
  - Poder del 20 (veinte) de diciembre de 2007 (dos mil y siete).

Leg.Prot.Nr. 943/2008



000007

# APOSTILLE

(Convention de la Haye du 5 octobre 1961)

1. Land: Schweiz (Suisse)

Diese öffentliche Urkunde

2. ist unterschrieben von *Dr. iur. Celzer*

3. in seiner Eigenschaft als *off. Notar*

4. sie ist versehen mit dem Siegel/Stempel des (der) *Gemeinden*

Bestätigt 10. Okt. 2008

5. in Basel (Bâle)

6. am

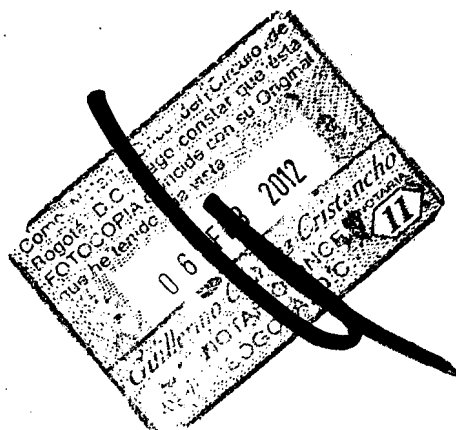
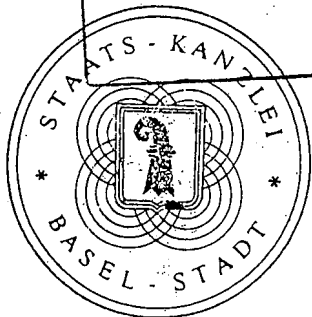
7. durch die Staatskanzlei des Kantons Basel-Stadt

8. unter Nr. *8925/15089*

9. Siegel/Stempel:

10. Unterschrift:

*Helena Schaffner*  
Helena Schaffner



APOSTILLA

(Convención de la Haya del 5 de octubre de 1961)

1. País: Republica Federal de Alemania

Este documento publico

2. está firmado por el Dr. Ins. M. Gelzer

3. en su calidad de Notario publico

4. está provisto con el timbre del notario nombrado

confirmado

5. en Basilea

6. el 10 de octubre de 2008

7. por la cancillería estatal del cantón de ciudad Basilea

8. bajo el numero 8925 - 15089

9. Sello

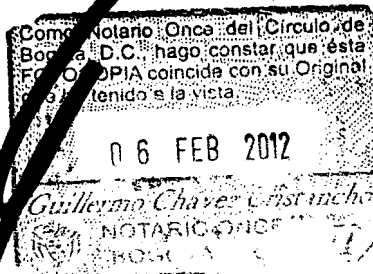
10. Firma

cancillería estatal del cantón

Firma

de ciudad Basilea

Helena Schaffner



MINISTERIO DE  
RELACIONES EXTERIORES  
2010 FEB 9 A 10:59  
JEFE DE LEGALIZACIONES  
BOGOTA D.C.

CUYA FIRMA APARECE EN EL  
DOCUMENTO DESEMPEÑA  
LAS FUNCIONES INDICADAS

NO SE ASUME  
RESPONSABILIDAD  
DEL TEXTO  
006805  
Helena Schaffner

000008

Adolf Watzke

Traductor oficial  
Res. 2433 Min. Justicia

## COMPOSICIONES INMUNOGÉNICAS QUE INCLUYEN MODULADORES DE LA ACTIVIDAD DE LOS TLR

### *RESUMEN DE LA DIVULGACIÓN*

La invención proporciona una clase de compuestos nuevos, composiciones inmunogénicas y composiciones farmacéuticas, que comprenden tales compuestos, y métodos para usar tales compuestos, para tratar o prevenir enfermedades o desórdenes asociados con los Receptores 7 tipo Toll. En un aspecto, los compuestos son de utilidad como adyuvantes para mejorar la efectividad de una vacuna.

000009

## COMPOSICIONES INMUNOGÉNICAS QUE INCLUYEN MODULADORES DE LA ACTIVIDAD DE LOS TLR

- [1] Esta solicitud reivindica el beneficio de prioridad sobre la solicitud de patente provisional de E.U.A. N° 61/239.156 presentada el 2 de Septiembre del año 2009, el contenido de la cual, para todos los efectos, se acompaña para su referencia en su totalidad.

### CAMPO DE LA INVENCION

- [2] Esta invención se relaciona a los moduladores de los Receptores tipo Toll (TLRs, por sus siglas en inglés, *Toll-Like-Receptors*), y los métodos para usar tales compuestos, *e.g.*, cuando son coadministrados junto con antígenos y adyuvantes que contienen aluminio.

### ANTECEDENTES DE LA INVENCION

- [3] La detección temprana de clases específicas de patógenos se logra mediante la acción del sistema inmune innato con la ayuda de los receptores de reconocimiento de patrones (PRRs, por sus siglas en inglés, *Pattern recognition receptor*). Los patógenos detectados incluyen: virus, bacterias, protozoos y hongos, y cada uno de ellos expresa constitutivamente un conjunto de moléculas resistentes a la mutación y asociadas a una clase específica denominadas patrones moleculares asociados a patógenos ((PAMPs, del inglés *Pathogen-associated molecular patterns*). Estos marcadores moleculares pueden estar compuestos de proteínas, carbohidratos, lípidos, ácidos nucleicos o combinaciones de los mismos, y pueden estar localizados tanto interna como externamente. Ejemplos de PAMPs, incluyen carbohidratos bacterianos (lipopolisacáridos o LPS, manosa), ácidos nucleicos (DNA o RNA bacteriano o viral), peptidoglicanos y ácidos lipoteicoicos (de bacterias gran positivas), N-formilmetionina, lipoproteínas y glucanos de hongos.
- [4] Los receptores de reconocimiento de patrones han evolucionado para tomar ventaja de tres cualidades de los PAMPs. Primero, la expresión constitutiva, lo que le permite al huésped detectar el patógeno independientemente de la etapa del ciclo en que éste se encuentre. Segundo, los PAMPs son específicos para una clase, lo que le permite al huésped distinguir entre patógenos y por lo tanto adaptar su respuesta. Tercero, la resistencia a la mutación, lo que le permite al huésped reconocer al patógeno independientemente de la cepa particular a la que pertenece.

000010

- [5] Los receptores de reconocimiento de patrones están involucrados en más que sólo el reconocimiento de patógenos mediante sus PAMPs. Una vez que se han unido, los receptores de reconocimiento de patrones tienden a agruparse, reclutando otras proteínas intracelulares y extracelulares dentro del complejo formado, e inician una cascada de señales que finalmente tiene impacto en la transcripción. Adicionalmente, los receptores de reconocimiento de patrones están involucrados en la activación de las funciones de complemento, coagulación, fagocitosis, inflamación y apoptosis que se producen en respuesta a la detección de un patógeno.
- [6] Los receptores de reconocimiento de patrones (PRRs) se pueden dividir en PRRs endocíticos o PRRs de señalamiento. Los PRRs de señalamiento incluyen una gran familia de receptores tipo Toll unidos a membrana (TLRs) y receptores tipo NOD citoplasmáticos; mientras que los PRRs endocíticos promueven la unión, el atrapamiento y la destrucción de microorganismos mediante fagocitosis sin la retransmisión de una señal intracelular, se les puede encontrar en todos los fagocitos y median en la eliminación de las células apoptóticas. Además, los PRRs endocíticos reconocen carbohidratos e incluyen receptores de macrófagos para manosa, receptores para glucano presentes en todos los fagocitos y receptores “scavengers” o barredores que reconocen ligandos cargados.

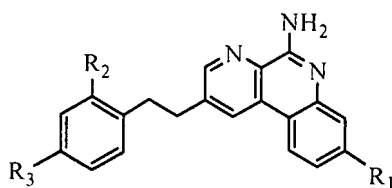
## RESUMEN DE LA INVENCION

- [7] En el presente documento se proporcionan composiciones inmunogénicas que comprenden un agonista de un receptor tipo Toll 7 (TLR7), un adyuvante que contiene aluminio y un antígeno. Tales agonistas de TLR7 son potenciadores de la inmunidad que se unen a los adyuvantes que contienen aluminio, tales como, sólo a manera de ejemplo, hidróxido de aluminio, oxihidróxido de aluminio e hidroxifosfato de aluminio. En una realización preferida, el agonista de TLR7 es un compuesto de Fórmula (I) como se describe más adelante. En consecuencia, también se proporcionan en el presente documento composiciones inmunogénicas que comprenden un compuesto de Fórmula (I) (descrito más adelante), un adyuvante que contiene aluminio y un antígeno. En ciertas realizaciones, el compuesto de Fórmula (I) está presente en una cantidad efectiva paraprovocar, inducir o aumentar la respuesta inmune al antígeno en un sujeto a quien se le ha administrado la composición. En tales composiciones inmunogénicas el compuesto de Fórmula (I) está presente en cantidad suficiente para provocar un efecto inmunoestimulante cuando es administrado. En tales composiciones inmunogénicas el un adyuvante que contiene aluminio es seleccionado de entre hidróxido de aluminio, oxihidróxido de aluminio e hidroxifosfato de aluminio. En ciertas realizaciones de tales composiciones inmunogénicas, un adyuvante que contiene

000011

aluminio es oxihidróxido de aluminio o hidróxido de aluminio. En ciertas realizaciones de tales composiciones inmunogénicas, el antígeno es un antígeno bacteriano (tal como un antígeno de MenB, un sacárido MenA, un sacárido MenY, un sacárido MenW135, un sacárido MenC, etc.). En otras realizaciones de tales composiciones inmunogénicas, el antígeno es un antígeno viral (tal como un antígeno de un VRS, antígeno del virus de la influenza, etc.). En ciertas realizaciones de tales composiciones inmunogénicas, el antígeno es un polipéptido. En ciertas realizaciones de tales composiciones inmunogénicas, el antígeno es un sacárido. En ciertas realizaciones tales composiciones inmunogénicas además comprenden un adyuvante adicional. En ciertas realizaciones, tal composición inmunogénica es un sólido seco. En ciertas realizaciones, tal composición inmunogénica es un sólido liofilizado.

- [8] En uno de los aspectos contenidos en el presente documento, los compuesto de Fórmula (I) incluyen sales farmacéuticamente aceptables, solvatos farmacéuticamente aceptables (*e.g.*, hidratos), derivados de N-óxido, derivados de profármacos, derivados protegidos, isómeros individuales y mezclas de isómeros de los mismos; y tienen una estructura de acuerdo a la Formula (I):



**Fórmula (I)**

En donde:

$R^1$  es H,  $C_1$ - $C_6$ alquilo,  $-C(R^5)_2OH$ ,  $-L^1R^5$ ,  $-L^1R^6$ ,  $-L^2R^5$ ,  $-L^2R^6$ ,  $-OL^2R^5$ , ó  $-OL^2R^6$ ;

$L^1$  es  $-C(O)-$  ó  $-O-$ ;

$L^2$  es  $C_1$ - $C_6$ alquilenoy,  $C_2$ - $C_6$ alquenilenoy, arileno, heteroarilenoó- $((CR^4R^4)_pO)_q(CH_2)_p-$ , en donde el  $C_1$ - $C_6$ alquilenoy el  $C_2$ - $C_6$ alquenilenoy de  $L^2$  están opcionalmente sustituidos con 1 a 4 grupos flúor;

cada  $L^3$  es independientemente seleccionado de  $C_1$ - $C_6$  alquilenoy y  $-((CR^4R^4)_pO)_q(CH_2)_p-$ , en donde el  $C_1$ - $C_6$ alquilenoy de  $L^3$  están opcionalmente sustituidos con 1 a 4 grupos flúor;

$L^4$  es arileno ó heteroarileno;

$R^2$  es H ó  $C_1$ - $C_6$ alquilo;

000012

$R^3$  es seleccionado de  $C_1$ - $C_4$ alquilo,  $-L^3R^5$ ,  $-L^1R^5$ ,  $-L^3R^7$ ,  $-L^3L^4L^3R^7$ ,  $-L^3L^4R^5$ ,  $-L^3L^4L^3R^5$ ,  $-OL^3R^5$ ,  $-OL^3R^7$ ,  $-OL^3L^4R^7$ ,  $-OL^3L^4L^3R^7$ ,  $-OR^8$ ,  $-OL^3L^4R^5$ ,  $-OL^3L^4L^3R^5$  y  $-C(R^5)_2OH$ ;

cada  $R^4$  es independientemente seleccionado de H y flúor;

$R^5$  es  $-P(O)(OR^9)_2$ ,

$R^6$  es  $-CF_2P(O)(\acute{O}^9)_2$  ó  $-C(O)\acute{O}^{10}$ ;

$R^7$  es  $-CF_2P(O)(\acute{O}^9)_2$  ó  $-C(O)\acute{O}^{10}$ ;

$R^8$  es H ó  $C_1$ - $C_4$ alquilo;

cada  $R^9$  es independientemente seleccionado de H y  $C_1$ - $C_6$ alquilo;

$R^{10}$  es H ó  $C_1$ - $C_4$ alquilo;

cada p es independientemente seleccionado de 1, 2, 3, 4, 5 y 6, y

q es 1, 2, 3 ó 4;

con la salvedad de que cuando  $R^3$  es  $C_1$ - $C_4$  alquilo ó  $-\acute{O}^8$ ,  $R^1$  es  $-C(R^5)_2OH$ ,  $-L^1R^5$ ,  $-L^1R^6$ ,  $-L^2R^5$ ,  $-L^2R^6$ ,  $-OL^2R^5$ , ó  $-OL^2R^6$ , en donde  $R^6$  es  $-CF_2P(O)(\acute{O}^9)_2$  y  $R^7$  es  $-CF_2P(O)(\acute{O}^9)_2$ .

[9] En ciertas realizaciones de los compuestos de Fórmula (I),  $R^1$  es  $C_1$ - $C_6$  alquilo, en otras realizaciones  $R^1$  es un metilo. En ciertas realizaciones,  $R^1$  es H. En otras realizaciones,  $R^1$  es  $-C(R^5)_2OH$ ,  $-L^1R^5$ ,  $-L^1R^6$ ,  $-L^2R^5$ ,  $-L^2R^6$ ,  $-OL^2R^5$ , ó  $-OL^2R^6$ .

[10] En ciertas realizaciones de los compuestos de Fórmula (I), cuando  $R^1$ - $C(R^5)_2OH$ ,  $-L^1R^5$ ,  $-L^1R^6$ ,  $-L^2R^5$ ,  $-L^2R^6$ ,  $-OL^2R^5$ , ó  $-OL^2R^6$ ; entonces  $R^3$  es  $-OR^8$  ó  $C_1$ - $C_6$  alquilo. En ciertas realizaciones,  $R^1$  es  $-C(R^5)_2OH$ ,  $-L^1R^5$ ,  $-L^1R^6$ ,  $-L^2R^5$ ,  $-L^2R^6$ ,  $-OL^2R^5$ , ó  $-OL^2R^6$ , y  $R^3$  es  $-OMe$ .

[11] En ciertas realizaciones de los compuestos de Fórmula (I),  $R^2$  es  $C_1$ - $C_6$  alquilo. En ciertas realizaciones,  $R^2$  es metilo.

[12] En ciertas realizaciones de los compuestos de Fórmula (I),  $R^3$  es seleccionado de  $C_1$ - $C_4$  alquilo,  $-L^3R^5$ ,  $-L^1R^5$ ,  $-L^3R^7$ ,  $-L^3L^4L^3R^7$ ,  $-L^3L^4R^5$ , y  $-L^3L^4L^3R^5$ . En realizaciones alternativas,  $R^3$  es seleccionado de  $-OL^3R^5$ ,  $-OL^3R^7$ ,  $-OL^3L^4R^7$ ,  $-OL^3L^4L^3R^7$ ,  $-OR^8$ , -

000013

$OL^3L^4R^5$ ,  $-OL^3L^4L^3R^5$  y  $-C(R^5)_2OH$ . En ciertas realizaciones,  $R^3$  es  $-OL^3R^5$ , en donde  $-OL^3R^5$  es un grupo de fórmula  $-O(CH_2)_{1-5}P(O)(OR)_2$ . En otras realizaciones,  $R^3$  es  $-OL^3R^5$ , en donde  $-OL^3R^5$  es un grupo de fórmula  $-O(CH_2)_{1-5}CF_2P(O)(OR)_2$ .

[13] En ciertas realizaciones,  $R^3$  es seleccionado de  $C_1$ - $C_4$  alquilo,  $-L^3R^5$ ,  $-L^1R^5$ ,  $-L^3R^7$ ,  $-L^3L^4L^3R^7$ ,  $-L^3L^4R^5$ ,  $-L^3L^4L^3R^5$ ,  $-OL^3R^5$ ,  $-OL^3R^7$ ,  $-OL^3L^4R^7$ ,  $-OL^3L^4L^3R^7$ ,  $-OR^8$ ,  $-OL^3L^4R^5$ , y  $-OL^3L^4L^3R^5$ .

[14] Cuando hay más de un  $R^9$  presente, como en los compuestos que comprenden un grupo funcional  $-P(O)(OR^9)_2$ , los grupos  $R^9$  son iguales o diferentes. En ciertas realizaciones de tales compuestos de Fórmula (I),  $R^9$  es H en cada caso. En otras realizaciones, al menos un  $R^9$  es H y el otro  $R^9$  es  $C_1$ - $C_6$  alquilo. En otras realizaciones, al menos un  $R^9$  es H y el otro  $R^9$  es metilo. En otras realizaciones, al menos un  $R^9$  es H y el otro  $R^9$  es etilo. En otras realizaciones de tales compuestos de Fórmula (I), cada  $R^9$  es  $C_1$ - $C_6$  alquilo y en ciertas realizaciones,  $R^9$  es metilo o etilo, o una combinación de los mismos.

[15] En ciertas realizaciones de los compuestos de Fórmula (I)  $L^2$  y/o  $L^3$  es un grupo de fórmula  $-((CR^4R^4)_pO)_q(CH_2)_p-$ , y en ciertas realizaciones, este grupo es de la fórmula  $-(CH_2CH_2O)_{1-3}(CH_2)_{1-3}-$ .

[16] En ciertas realizaciones de los compuestos de Fórmula (I),  $L^2$  es  $C_1$ - $C_6$  alquilenos, mientras que en otras realizaciones  $L^2$  es  $C_1$ - $C_6$  alquilenos sustituido con uno o dos grupos flúor. En ciertas realizaciones de tales compuestos de Fórmula (I),  $L^2$  es de la fórmula  $(CH_2)_{0.5}CF_2$ , en donde el carbono sustituido con flúor no está directamente unido al anillo fenilo de la Fórmula (I). En ciertas realizaciones de los compuestos de Fórmula (I),  $L^2$  es  $C_1$ - $C_6$  alquilenos, mientras que en otras realizaciones  $L^2$  es  $C_1$ - $C_6$  alquilenos sustituido con uno o dos grupos flúor.

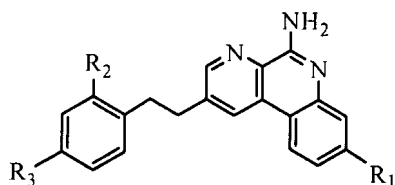
[17] En ciertas realizaciones de los compuestos de Fórmula (I),  $L^3$  es  $C_1$ - $C_6$  alquilenos, mientras que en otras realizaciones  $L^3$  es  $C_1$ - $C_6$  alquilenos sustituido con uno o dos grupos flúor. En ciertas realizaciones de tales compuestos de Fórmula (I),  $L^3$  es de la fórmula  $(CH_2)_{0.5}CF_2$ , en donde el carbono sustituido con flúor no está directamente unido al anillo fenilo de la Fórmula I.

[18] En ciertas realizaciones de los compuestos de Fórmula (I),  $L^2$  es arileno o heteroarileno. En algunas de estas realizaciones,  $L^2$  es fenileno, tal como 1,3-disustituido fenileno ó 1,4-fenileno disustituido.

000014

- [19] En ciertas realizaciones de tales compuestos de Fórmula (I),  $R^1$  es  $C_1$ - $C_6$  alquilo;  $R^2$  es  $C_1$ - $C_6$  alquilo;  $R^3$  es  $-OL^3R^5$  ó  $-OL^3R^7$ ;  $R^5$  es  $-P(O)(OR^9)_2$ ;  $R^7$  es  $-CF_2P(O)(OR^9)_2$ , y  $L^3$  es  $C_1$ - $C_6$  alquileno.
- [20] En ciertas realizaciones de tales compuestos de Fórmula (I),  $R^1$  es  $C_1$ - $C_6$  alquilo;  $R^2$  es  $C_1$ - $C_6$  alquilo;  $R^3$  es  $-OL^3R^5$  ó  $-OL^3R^7$ ;  $R^5$  es  $-P(O)(OR^9)_2$ ;  $R^7$  es  $-CF_2P(O)(OR^9)_2$ ,  $L^3$  es  $-((CR^4R^4)_pO)_q(CH_2)_p$ ;  $R^4$  es H; q es 1 ó 2, y p es 2.
- [21] En ciertas realizaciones de tales compuestos de Fórmula (I),  $R^1$  es  $-L^2R^6$ ;  $R^2$  es  $C_1$ - $C_6$  alquilo;  $R^3$  es  $-OL^3R^5$  ó  $-OL^3R^7$ ;  $R^5$  es  $-P(O)(OR^9)_2$ ;  $R^6$  es  $-C(O)OR^{10}$ ;  $R^7$  es  $-CF_2P(O)(OR^9)_2$ ;  $L^2$  es  $C_1$ - $C_6$  alquileno, y  $L^3$  es  $C_1$ - $C_6$  alquileno.
- [22] En ciertas realizaciones de tales compuestos de Fórmula (I),  $R^1$  es  $-L^2R^6$ ;  $R^2$  es  $C_1$ - $C_6$  alquilo;  $R^3$  es  $-OL^3R^5$  ó  $-OL^3R^7$ ;  $R^5$  es  $-P(O)(OR^9)_2$ ;  $R^6$  es  $-C(O)OR^{10}$ ;  $R^7$  es  $-CF_2P(O)(OR^9)_2$ ;  $L^2$  es  $C_1$ - $C_6$  alquileno;  $L^3$  es  $-((CR^4R^4)_pO)_q(CH_2)_p$ ;  $R^4$  es H; q es 1 ó 2, y p es 2.
- [23] En ciertas realizaciones de tales compuestos de Fórmula (I),  $R^1$  es  $-C(R^5)_2OH$ ,  $-L^1R^5$ ,  $-L^2R^5$  ó  $-L^1R^6$ ;  $R^2$  es  $C_1$ - $C_6$  alquilo;  $R^3$  es  $-OR^8$ ;  $R^8$  es  $C_1$ - $C_6$  alquilo;  $R^5$  es  $-P(O)(OR^9)_2$ ;  $R^6$  es  $-CF_2P(O)(OR^9)_2$ ;  $L^1$  es  $-C(O)-$ , y  $L^2$  es  $C_1$ - $C_6$  alquileno ó  $C_2$ - $C_6$  alquileno, cada uno opcionalmente sustituidos con 1 a 4 grupos flúor.
- [24] En ciertas realizaciones de tales compuestos de Fórmula (I),  $R^1$  es  $C_1$ - $C_6$  alquilo;  $R^2$  es  $C_1$ - $C_6$  alquilo;  $R^3$  es  $-OL^3L^4R^5$ ,  $-OL^3L^4L^3R^5$ , ó  $-OL^3L^4L^3R^7$ ;  $R^5$  es  $-P(O)(OR^9)_2$ ;  $R^7$  es  $-CF_2P(O)(OR^9)_2$ ; cada  $L^3$  es independientemente a  $C_1$ - $C_6$  alquileno, y  $L^4$  es fenileno.
- [25] En ciertas realizaciones de tales compuestos de Fórmula (I),  $R^1$  es  $C_1$ - $C_6$  alquilo;  $R^2$  es  $C_1$ - $C_6$  alquilo;  $R^3$  es  $-C(R^5)_2OH$  ó  $-L^1R^5$ ;  $R^5$  es  $-P(O)(OR^9)_2$ , y  $L^1$  es  $-C(O)-$  ó  $-O-$ .
- [26] En ciertas realizaciones, de tales compuestos de Fórmula (I), y las sales farmacéuticamente aceptables, los solvatos farmacéuticamente aceptables (e.g., hidratos), los derivados de N-óxido, los derivados de profármacos, los derivados protegidos, los isómeros individuales y las mezclas de isómeros de los mismos,

000015

**Fórmula (I)**

$R^1$  es H,  $C_1$ - $C_6$  alquilo,  $-C(R^5)_2OH$ ,  $-L^1R^5$ ,  $-L^2R^5$ ,  $-L^2R^6$ ,  $-OL^2R^5$ , ó  $-OL^2R^6$ ;

$L^1$  es  $-C(O)-$  ó  $-O-$ ;

$L^2$  es  $C_1$ - $C_6$  alquileno,  $C_2$ - $C_6$ alquenileno, arileno, heteroarileno ó  $((CR^4R^4)_pO)_q(CH_2)_p-$ , en donde el  $C_1$ - $C_6$  alquileno y el  $C_2$ - $C_6$  alquenileno de  $L^2$  están opcionalmente sustituidos con 1 a 4 grupos flúor;

cada  $L^3$  es independientemente seleccionado de  $C_1$ - $C_6$  alquileno y  $((CR^4R^4)_pO)_q(CH_2)_p-$ , en donde el  $C_1$ - $C_6$  alquileno de  $L^3$  están opcionalmente sustituidos con 1 a 4 grupos flúor;

$L^4$  es arileno ó heteroarileno;

$R^2$  es H ó  $C_1$ - $C_6$  alquilo;

$R^3$  es seleccionado de  $-L^3R^5$ ,  $-L^1R^5$ ,  $-L^3R^7$ ,  $-L^3L^4L^3R^7$ ,  $-L^3L^4R^5$ ,  $-L^3L^4L^3R^5$ ,  $-OL^3R^5$ ,  $-OL^3R^7$ ,  $-OL^3L^4R^7$ ,  $-OL^3L^4L^3R^7$ ,  $-OR^8$ ,  $-OL^3L^4R^5$ ,  $-OL^3L^4L^3R^5$  y  $-C(R^5)_2OH$ ;

cada  $R^4$  es independientemente seleccionado de H y flúor;

$R^5$  es  $-P(O)(OH)_2$ ,

$R^6$  es  $-CF_2P(O)(OH)_2$  ó  $-C(O)OH$ ;

$R^7$  es  $-CF_2P(O)(OH)_2$  ó  $-C(O)OH$ ;

$R^8$  es H ó  $C_1$ - $C_4$  alquilo;

cada p es independientemente seleccionado de 1, 2, 3, 4, 5 y 6;

q es 1, 2, 3 ó 4,

000016

con la salvedad de que cuando  $R^3$  es  $-\text{OR}^8$ ,  $R^1$  es  $-\text{C}(\text{R}^5)_2\text{OH}$ ,  $-\text{L}^1\text{R}^5$ ,  $-\text{L}^1\text{R}^6$ ,  $-\text{L}^2\text{R}^5$ ,  $-\text{L}^2\text{R}^6$ ,  $-\text{OL}^2\text{R}^5$ , ó  $-\text{OL}^2\text{R}^6$ , en donde  $R^6$  es  $-\text{CF}_2\text{P}(\text{O})(\text{OH})_2$  y  $R^7$  es  $-\text{CF}_2\text{P}(\text{O})(\text{OH})_2$ .

[27] En ciertas realizaciones de tales compuestos de Fórmula (I),  $R^1$  es  $\text{C}_1\text{-C}_6$  alquilo;  $R^2$  es  $\text{C}_1\text{-C}_6$  alquilo;  $R^3$  es  $-\text{OL}^3\text{R}^5$  ó  $-\text{OL}^3\text{R}^7$ ;  $R^5$  es  $-\text{P}(\text{O})(\text{OH})_2$ ;  $R^7$  es  $-\text{CF}_2\text{P}(\text{O})(\text{OH})_2$ , y  $L^3$  es  $\text{C}_1\text{-C}_6$  alquileno.

[28] En ciertas realizaciones de tales compuestos de Fórmula (I),  $R^1$  es  $\text{C}_1\text{-C}_6$  alquilo;  $R^2$  es  $\text{C}_1\text{-C}_6$  alquilo;  $R^3$  es  $-\text{OL}^3\text{R}^5$  ó  $-\text{OL}^3\text{R}^7$ ;  $R^5$  es  $-\text{P}(\text{O})(\text{OH})_2$ ;  $R^7$  es  $-\text{CF}_2\text{P}(\text{O})(\text{OH})_2$ ;  $L^3$  es  $-(\text{CR}^4\text{R}^4)_p\text{O}_q(\text{CH}_2)_p-$ ;  $R^4$  es H; q es 1 ó 2, y p es 2.

[29] En ciertas realizaciones de tales compuestos de Fórmula (I),  $R^1$  es  $-\text{L}^2\text{R}^6$ ;  $R^2$  es  $\text{C}_1\text{-C}_6$  alquilo;  $R^3$  es  $-\text{OL}^3\text{R}^5$  ó  $-\text{OL}^3\text{R}^7$ ;  $R^5$  es  $-\text{P}(\text{O})(\text{OH})_2$ ;  $R^6$  es  $-\text{C}(\text{O})\text{OH}$ ;  $R^7$  es  $-\text{CF}_2\text{P}(\text{O})(\text{OH})_2$ ;  $L^2$  es  $\text{C}_1\text{-C}_6$  alquileno, y  $L^3$  es  $\text{C}_1\text{-C}_6$  alquileno.

[30] En ciertas realizaciones de tales compuestos de Fórmula (I),  $R^1$  es  $-\text{L}^2\text{R}^6$ ;  $R^2$  es  $\text{C}_1\text{-C}_6$  alquilo;  $R^3$  es  $-\text{OL}^3\text{R}^5$  ó  $-\text{OL}^3\text{R}^7$ ;  $R^5$  es  $-\text{P}(\text{O})(\text{OH})_2$ ;  $R^6$  es  $-\text{C}(\text{O})\text{OH}$ ;  $R^7$  es  $-\text{CF}_2\text{P}(\text{O})(\text{OH})_2$ ;  $L^2$  es  $\text{C}_1\text{-C}_6$  alquileno;  $L^3$  es  $-(\text{CR}^4\text{R}^4)_p\text{O}_q(\text{CH}_2)_p-$ ;  $R^4$  es H; q es 1 ó 2, y p es 2.

[31] En ciertas realizaciones de tales compuestos de Fórmula (I),  $R^1$  es  $-\text{C}(\text{R}^5)_2\text{OH}$ ,  $-\text{L}^1\text{R}^5$ ,  $-\text{L}^2\text{R}^5$  ó  $-\text{L}^1\text{R}^6$ ;  $R^2$  es  $\text{C}_1\text{-C}_6$  alquilo;  $R^3$  es  $-\text{OR}^8$ ;  $R^8$  es  $\text{C}_1\text{-C}_6$  alquilo;  $R^5$  es  $-\text{P}(\text{O})(\text{OH})_2$ ;  $R^6$  es  $-\text{CF}_2\text{P}(\text{O})(\text{OH})_2$ ;  $L^1$  es  $-\text{C}(\text{O})-$ , y  $L^2$  es  $\text{C}_1\text{-C}_6$  alquileno ó  $\text{C}_2\text{-C}_6$  alquileno, cada uno opcionalmente sustituido con 1 a 4 grupos flúor.

[32] En ciertas realizaciones de tales compuestos de Fórmula (I),  $R^1$  es  $\text{C}_1\text{-C}_6$  alquilo;  $R^2$  es  $\text{C}_1\text{-C}_6$  alquilo;  $R^3$  es  $-\text{OL}^3\text{L}^4\text{R}^5$   $-\text{OL}^3\text{L}^4$   $\text{L}^3\text{R}^5$ , ó  $-\text{OL}^3\text{L}^4$   $\text{L}^3\text{R}^7$ ;  $R^5$  es  $-\text{P}(\text{O})(\text{OH})_2$ ;  $R^7$  es  $-\text{CF}_2\text{P}(\text{O})(\text{OH})_2$ ; cada  $L^3$  es independientemente un  $\text{C}_1\text{-C}_6$  alquileno, y  $L^4$  es fenileno.

[33] En ciertas realizaciones de tales compuestos de Fórmula (I),  $R^1$  es  $\text{C}_1\text{-C}_6$  alquilo;  $R^2$  es  $\text{C}_1\text{-C}_6$  alquilo;  $R^3$  es  $-\text{C}(\text{R}^5)_2\text{OH}$  ó  $-\text{L}^1\text{R}^5$ ;  $R^5$  es  $-\text{P}(\text{O})(\text{OH})_2$ , y  $L^1$  es  $-\text{C}(\text{O})-$  ó  $-\text{O}-$ .

[34] En ciertas realizaciones de los ya mencionados compuestos de Fórmula (I),  $R^8$  es metilo. En ciertas realizaciones de los ya mencionados compuestos de Fórmula (I),  $R^1$  es metilo. En ciertas realizaciones de los ya mencionados compuestos de Fórmula (I),  $R^2$  es metilo.

[35] En ciertas realizaciones de tales compuestos de Fórmula (I), es seleccionado de entre: ácido de 4-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridino-2-il)etil)-3-metilfenoxi)-1,1-difluorobutylfos-fónico; ácido propanoico de 3-(5-amino-2-(4-(4,4-difluoro-4-fosfonobutoxi)-

000017

2-metilfenetil)benzo[f] [1,7]naftiridino-8-il); 3-(5-amino-2-(4-(2-(3,3-difluoro-3-fosfonopropoxi) etoxi)-2-metilfenetil)benzo[f][1,7]naftiridino-8-il); ácido propanoico de 3-(5-amino-2-(2-metil-4-(2-(2-(2-fosfonoetoxi)etoxi)etoxi) fenetil)benzo[f][1,7]naftiridino-8-il); fosfato dihidrogenado de 4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f] [1,7]naftiridino-2-il)etil)-3-metilfenilo; ácido metilfosfónico de (4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridino-2-il)etil)-3-metilfenoxi); ácido 5-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridino-2-il)etil)-3-metilfenoxi)-1,1-difluoropentilfosfónico; ácido 4-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridino-2-il)etil)-3-metilfenoxi)-1,1-difluorobutilfosfónico; ácido 3-(2-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridino-2-il)etil)-3-metilfenoxi)etoxi)-1,1-difluoropropilfosfónico; ácido 2-(4-((4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridino-2-il)etil)-3-metilfenoxi)metil)fenil)-1,1-difluoroetilfosfónico; ácido 2-(5-amino-2-(4-metoxi-2-metilfenetil)benzo[f][1,7]naftiridino-8-il)-1,1-difluoro-2-oxoetilfosfónico; ácido (E)-2-(5-amino-2-(4-metoxi-2-metilfenetil)benzo[f] [1,7]naftiridino-8-il)vinilfosfónico; ácido 2-(5-amino-2-(4-metoxi-2-metilfenetil) benzo[f][1,7]naftiridino-8-il)etilfosfónico; ácido (E)-2-(5-amino-2-(4-metoxi-2-metilfenetil)benzo[f][1,7]naftiridino-8-il)-1-fluorovinil-fosfónico; ácido 3-((4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridino-2-il)etil)-3-metilfenoxi)metil)fenilfosfónico; ácido 5-amino-2-(4-metoxi-2-metilfenetil) benzo[f][1,7]naftiridinoe-8-carbonilfosfónico; ácido 3-(5-amino-2-(2-metil-4-(3-fosfonopropoxi)fenetil)benzo[f][1,7]naftiridino-8-il)propanoico; ácido (4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridino-2-il)etil)-3-metilfenil)(hidroxi)metilenedifosfónico; ácido 3-(5-amino-2-(4-(2-(2-(3,3-difluoro-3-fosfonopropoxi)etoxi)etoxi)-2-metilfenetil) benzo[f][1,7]naftiridino-8-il)propanoico; ácido (5-amino-2-(4-metoxi-2-metilfenetil) benzo[f][1,7]naftiridino-8-il)(hidroxi)metilendifosfónico; ácido 3-(5-amino-2-(2-metil-4-(2-(2-fosfonoetoxi)etoxi)fenetil)benzo[f][1,7]naftiridino-8-il)propanoico ; ácido 2-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridino-2-il)etil)-3-metilfenoxi) etilfosfónico; ácido 6-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridino-2-il)etil)-3-metilfenoxi)hexilfosfónico; ácido 6-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridino-2-il)etil)-3-metilfenoxi)-1,1-difluoro-hexilfosfónico; ácido 4-((4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridino-2-il)etil)-3-metilfenoxi)metil)encilfosfónico, y ácido 2-(2-(2-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridino-2-il)etil)-3-metilfenoxi) etoxi)etoxi)etilfosfónico. En realizaciones adicionales el compuesto de Fórmula (I) es seleccionado de entre: ácido 3-[5-amino-2-(2-{4-[2-(3,3-difluoro-3-fosfonopropoxi)etoxi]-2-metilfenil}etil)benzo[f]1,7-naftiridino-8-il] propanoico; ácido {5-[4-(2-{5-amino-8-metilbenzo[f]1,7-naftiridino-2-il}etil)-3-metilfen-oxi]pentil} fosfónico, y ácido {4-[4-(2-{5-amino-8-metilbenzo[f]1,7-naftiridino-2-il}etil)-3-metilfenoxi]butil} fosfónico. Cada uno de éstos compuestos individualmente comprende una realización preferida de los compuestos, composiciones y métodos descritos en el presente documento.

000013

- [36] En ciertas realizaciones, los compuestos de la invención no son bisfosfonatos.
- [37] Otro aspecto que proporciona el presente documento, es un método para aumentar la efectividad de una composición inmunogénica, en donde la composición inmunogénica comprende un adyuvante que contiene aluminio, y el método comprende el añadir una cantidad efectiva de un compuesto de Fórmula (I) a la composición inmunogénica. En tales métodos el adyuvante que contiene aluminio es seleccionado de entre hidróxido de aluminio, oxihidróxido de aluminio e hidroxifosfato de aluminio. En ciertas realizaciones de tales métodos, el adyuvante que contiene aluminio es oxihidróxido de aluminio o hidróxido de aluminio.
- [38] Otro aspecto que proporciona el presente documento, son métodos para provocar o inducir una respuesta inmune en un sujeto vertebrado, que comprende administrar al sujeto vertebrado una cantidad efectiva de una composición inmunogénica de la invención. En algunas realizaciones, la presente invención proporciona métodos para provocar o inducir la respuesta de un linfocito T citotóxico (CTL, por sus singlas en inglés *cytotoxic-T lymphocyte*) en un sujeto vertebrado que comprende el administrar al sujeto vertebrado una cantidad efectiva de una composición inmunogénica de la invención. En otras realizaciones, la presente invención proporciona métodos para provocar o inducir una respuesta inmune mediada por anticuerpos en un sujeto vertebrado que comprende el administrar al sujeto vertebrado una cantidad efectiva de una composición inmunogénica de la invención.
- [39] Otro aspecto que proporciona el presente documento, son métodos para elaborar las composiciones inmunogénicas descritas en el presente documento.
- [40] Otro aspecto que proporciona el presente documento, son composiciones de vacunas que comprenden una composición inmunogénica de la invención.
- [41] También se proporcionan en el presente documento compuestos de Fórmula (I) que se unen al adyuvante que contiene aluminio, sales farmacéuticamente aceptables, solvatos farmacéuticamente aceptables (*e.g.*, hidratos), los derivados de N-óxido, derivados de profármacos, derivados protegidos, isómeros individuales y mezclas de isómeros de los mismos. En ciertos aspectos tales compuestos de Fórmula (I) son agonistas de TLR7 y potenciadores de la inmunidad.
- [42] Otro aspecto que proporciona el presente documento, son métodos para usar compuestos de Fórmula (I) y composiciones farmacéuticas que comprenden tales compuestos.

000019

[43] Otro aspecto que proporciona el presente documento, son composiciones farmacéuticas que incluyen una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de Fórmula (I), y un vehículo farmacéuticamente aceptable. En ciertas realizaciones de tales composiciones farmacéuticas, la composición farmacéutica está formulada para su administración intravenosa, administración intravítrea, administración intramuscular, administración oral, administración rectal, inhalación, administración nasal, administración tópica, administración oftálmica, o administración ótica. En otras realizaciones, las composiciones farmacéuticas están en forma de una tableta, una gragea, una capsula, un líquido, un inhalador, una solución de spray nasal, un supositorio, una solución, una emulsión, un ungüento, gotas para los ojos o gotas para los oídos. En otras realizaciones tales composiciones farmacéuticas incluyen además uno o más agentes terapéuticos.

[44] Otro aspecto que proporciona el presente documento, son composiciones farmacéuticas que incluyen una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de Fórmula (I), un adyuvante que contiene aluminio, un antígeno y un vehículo farmacéuticamente aceptable. En tales composiciones farmacéuticas el compuesto de Fórmula (I) está presente en cantidad suficiente para producir un efecto inmunoestimulante cuando es administrado. En ciertas realizaciones de tales composiciones farmacéuticas, la composición farmacéutica está formulada para su administración intravenosa, administración intravítrea o administración intramuscular. En tales composiciones el adyuvante que contiene aluminio es seleccionado de entre hidróxido de aluminio, oxihidróxido de aluminio e hidroxifosfato de aluminio. En ciertas realizaciones de tales composiciones, el adyuvante que contiene aluminio es oxihidróxido de aluminio o hidróxido de aluminio.

[45] Otro aspecto que proporciona el presente documento es una composición farmacéutica que incluye una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de Fórmula (I) unido a un adyuvante que contiene aluminio y a un vehículo farmacéuticamente aceptable. En ciertas realizaciones, tal composición es un sólido que ha sido secado. En ciertas realizaciones, tal composición es un sólido liofilizado. En tales composiciones el adyuvante que contiene aluminio es seleccionado de entre hidróxido de aluminio, oxihidróxido de aluminio e hidroxifosfato de aluminio. En ciertas realizaciones de tales composiciones, el adyuvante que contiene aluminio es oxihidróxido de aluminio o hidróxido de aluminio.

[46] Otro aspecto que proporciona el presente documento, son medicamentos para tratar un paciente con una enfermedad o desorden asociado con la actividad del receptor TLR7, y tales medicamentos incluyen una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de Fórmula (I), en donde el compuesto de Fórmula (I) es un agonista del receptor TLR7.

000020

- [47] Otro aspecto que proporciona el presente documento, es el uso de un compuesto de Fórmula (I) en la fabricación de un medicamento para tratar una enfermedad o desorden en un paciente en donde está implicada la modulación de un receptor TLR7. Otro aspecto proporcionado por el presente documento, es el uso de un compuesto de Fórmula (I) en la fabricación de un medicamento para la inmunización de un paciente, *e.g.*, en donde el medicamento es una vacuna.
- [48] Otro aspecto que proporciona el presente documento, incluye métodos para activar un receptor TLR7, en donde el método incluye administrar a un sistema o a un sujeto en necesidad del mismo, una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de Fórmula (I), o sales farmacéuticamente aceptables o composiciones farmacéuticas de las mismas, y de éste modo activar el receptor TLR. En tales métodos, el compuesto de Fórmula (I) es un agonista del receptor TLR7. En ciertas realizaciones de tales métodos, los métodos incluyen administrar el compuesto a células o sistemas de tejidos o a un sujeto animal o humano.
- [49] Otro aspecto que proporciona el presente documento, incluye métodos para tratar una enfermedad o desorden en donde está implicada la modulación de receptor TLR7, en donde el método incluye administrar a un sistema o a un sujeto en necesidad de tal tratamiento, una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de Fórmula (I), o sales farmacéuticamente aceptables o composiciones farmacéuticas de las mismas, y de éste modo tratar la enfermedad o desorden. En tales métodos, el compuesto de Fórmula (I) es un agonista del receptor TLR7. En ciertas realizaciones de tales métodos, los métodos incluyen administrar el compuesto a células o sistemas de tejidos o a un sujeto animal o humano
- [50] En ciertas realizaciones de tales métodos, la enfermedad o condición es una enfermedad infecciosa, una enfermedad inflamatoria, una enfermedad respiratoria, una enfermedad dermatológica o una enfermedad autoinmune. En ciertas realizaciones de tales métodos, la enfermedad o condición es asma, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), síndrome respiratorio agudo severo (SARS), colitis ulcerosa, enfermedad de Chrons, bronquitis, dermatitis, queratosis actínica, carcinoma basocelular, rinitis alérgica, psoriasis, escleroderma, urticaria, artritis reumatoídea, esclerosis múltiple, cáncer, cáncer mamario, VIH o lupus.
- [51] Otro aspecto que proporciona el presente documento, incluye métodos para tratar una enfermedad de proliferación celular, los que comprende administrar a un sistema o a un sujeto en necesidad de tal tratamiento, una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de Fórmula (I), o sales farmacéuticamente aceptables o composiciones farmacéuticas de las

000021

mismas; en donde la enfermedad de proliferación celular es linfoma, osteosarcoma, melanoma o un tumor mamario, renal, prostático, colonorectal, tiroideo, ovárico, pancreático, neuronal, pulmonar, uterino o un tumor gastrointestinal.

[52] Otro aspecto que proporciona el presente documento, son composiciones farmacéuticas que incluyen un compuesto de Fórmula (I), un antígeno y un vehículo farmacéuticamente aceptable, donde tales composiciones farmacéuticas son composiciones inmunogénicas, y el compuesto es un potenciador inmune y está presente en una cantidad efectiva para aumentar la respuesta inmune al antígeno, en un sujeto que recibe la composición. En ciertas composiciones, tales composiciones farmacéuticas, además incluyen uno o más agentes inmunoreguladores. En ciertas composiciones, el uno o varios agentes inmunoreguladores incluyen uno o varios adyuvantes. En ciertas composiciones, tales adyuvantes son seleccionados de entre adyuvantes que son composiciones que contienen un mineral, una emulsión de aceite, una formulación de saponina, un virosoma, una partícula tipo virus, un derivado bacteriano, un derivado microbiano, un inmunomodulador humano, un bioadhesivo, un mucoadhesivo, una macropartícula, un liposoma, una formulación de éter de polioxietileno, una formulación de éster de polioxietileno, una polifosfazana, un péptido de muramilo, o un compuesto de imidazoquinolona. En ciertas realizaciones, el adyuvante es una emulsión de aceite. En ciertas realizaciones las composiciones inmunogénicas son útiles como vacunas, y el compuesto está presente en una cantidad suficiente para producir un efecto inmunoestimulante tras su administración.

[53] Otro aspecto que proporciona el presente documento, es un compuesto para su uso en un método de tratamiento médico, en donde el método de tratamiento médico es para tratar una enfermedad asociada con la actividad del receptor TLR7, en donde la enfermedad es seleccionada de entre una enfermedad infecciosa, una enfermedad inflamatoria, una enfermedad respiratoria, una enfermedad dermatológica o una enfermedad autoinmune, y en donde el compuesto es un compuesto de Fórmula (I) de la reivindicación (I). En ciertas realizaciones de tales métodos, la enfermedad o condición es asma, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), síndrome respiratorio agudo severo (SARS), colitis ulcerosa, enfermedad de Chrons, bronquitis, dermatitis, queratosis actínica, carcinoma basocelular, rinitis alérgica, psoriasis, escleroderma, urticaria, artritis reumatoidea, esclerosis múltiple, cáncer, cáncer mamario, VIH o lupus.

000022

[54]

## BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

[55] La FIG. 1 muestra la concentración del compuesto 1 en el sobrenadante con o sin la adición de hidróxido de aluminio. La concentración es obtenida mediante un análisis con HPLC.

[56] La FIG. 2 muestra el efecto de la unión del compuesto 1 al adyuvante de hidróxido de aluminio en la unión de los antígenos de *Neisseria meningitis* (MenB) al adyuvante de hidróxido de aluminio.

[57] La FIG. 3 muestra la concentran sérica del compuesto 16, 24 horas después de la inyección. Los rombos muestran los datos correspondientes al compuesto libre, los cuadrados muestran los datos correspondientes al compuesto adsorbido.

[58] La FIG. 4 y la FIG. 5 muestran el aumento de los niveles en las citoquinas que se indican, 24 horas después de la administración del compuesto 6 o el compuesto 20.

[59] La FIG. 6 muestra títulos bactericidas contra la cepa NZ98 de suero obtenida después de la inmunización con 5CVMB combinado con (a) el adyuvante de hidróxido de aluminio sólo, (b) el adyuvante de hidróxido de aluminio + 25 µg del compuesto 6, (c) el adyuvante de hidróxido de aluminio + 100 µg del compuesto 6, (d) el compuesto 6 sólo, o el adyuvante de hidróxido de aluminio y vesículas de membrana externa del Men B.

[60] La FIG. 7 muestra títulos bactericidas usando 5CVMB formulada con (a) sin adyuvante, (b) adyuvante de hidróxido de aluminio + OMV, (c) 100µg de compuesto 20, (d) 25µg de compuesto 20 + adyuvante de hidróxido de aluminio, o (e) 100µg de compuesto 20 + adyuvante de hidróxido de aluminio.

[61] La FIG. 8 muestra títulos bactericidas usando 5CVMB formulada con (a) sin adyuvante, (b) adyuvante de hidróxido de aluminio y vesículas, (c) 100µg de compuesto 19, (d) 25µg de compuesto 19, (e) 100µg de compuesto 19 + adyuvante de hidróxido de aluminio o (f) 25µg de compuesto 19 + adyuvante de hidróxido de aluminio.

000023

[62]

## DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

### *Definiciones*

[63] Los términos “alquenilo” o “alqueno”, como se usan en el presente documento, se refieren a una rama o una cadena recta de hidrocarburos parcialmente insaturada, que tiene al menos un enlace doble carbono-carbono. Los átomos orientados alrededor del doble enlace están ya sea en posición *cis* (Z) o *trans* (E). En ciertas realizaciones, tal grupo alquenilo o alqueno está opcionalmente sustituido. Como se usa en el presente documento, los términos "C<sub>2</sub>-C<sub>3</sub>alquenilo", "C<sub>2</sub>-C<sub>4</sub>alquenilo", "C<sub>2</sub>-C<sub>5</sub>alquenilo", "C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>alquenilo", "C<sub>2</sub>-C<sub>7</sub>alquenilo", y "C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub>alquenilo" se refieren a un grupo alquenilo que contiene al menos 2, y a lo más 3, 4, 5, 6, 7 ó 8 átomos de carbono, respectivamente. A menos que se especifique de otra manera, un grupo alquenilo es generalmente un grupo C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub> alquenilo. Ejemplos no limitantes de grupos alquenilos, como se usan en la presente invención, incluyen etenilo, propenilo, butenilo, pentenilo, hexenilo, heptenilo, octenilo, nonenilo, decenilo y similares.

[64] El término “alquenileno”, como se usa en el presente documento, se refiere a una rama parcialmente insaturada o una cadena recta con un radical de hidrocarburo divalente derivados de un grupo alquenilo. En ciertas realizaciones, tal grupo alquenileno está opcionalmente sustituido. Como se usa en el presente documento, los términos "C<sub>2</sub>-C<sub>3</sub> alquenileno", "C<sub>2</sub>-C<sub>4</sub> alquenileno", "C<sub>2</sub>-C<sub>5</sub> alquenileno", "C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>alquenileno", "C<sub>2</sub>-C<sub>7</sub>alquenileno", y "C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub>alquenileno" se refieren a un grupo alquenileno que contiene al menos 2, y a lo más 3, 4, 5, 6, 7 ó 8 átomos de carbono, respectivamente. A menos que se especifique de otra manera, un grupo alquenileno es generalmente un grupo C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub> alquenileno. Ejemplos no limitantes de grupos alquenilenos, como se usan en la presente invención, incluyen etenileno, propenileno, butenileno, pentenileno, hexenileno, heptenileno, octenileno, nonenileno, decenileno y similares.

[65] El término “alquilo” como se usa en el presente documento, se refiere a una rama o una cadena recta de hidrocarburos saturada. En ciertas realizaciones, tales grupos alquilos están opcionalmente sustituidos. Como se usa en el presente documento, los términos "C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub> alquilo", "C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> alquilo", "C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub> alquilo", "C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> alquilo", "C<sub>1</sub>-C<sub>7</sub> alquilo" y "C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> alquilo" se refieren a un grupo alquilo que contiene al menos 2, y a lo más 3, 4, 5, 6, 7 ó 8 átomos de carbono, respectivamente. A menos que se especifique de otra manera, un grupo alquilo es generalmente un grupo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> alquilo. Ejemplos no limitantes de grupos alquilos, como se

000024

usan en la presente invención, incluyen metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, n-butilo, isobutilo, sec-butilo, t-butilo, n-pentilo, isopentilo, hexilo, heptilo, octilo, nonilo, decilo y similares.

[66] El término “alquileno”, como se usa en el presente documento, se refiere a una rama parcialmente insaturada o una cadena recta con un radical de hidrocarburo divalente derivado de un grupo alquilo. En ciertas realizaciones, tales grupos alquileno están opcionalmente sustituidos. Como se usa en el presente documento, los términos “C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub> alquileno”, “C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> alquileno”, “C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub> alquileno”, “C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> alquileno”, “C<sub>1</sub>-C<sub>7</sub> alquileno” y “C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> alquileno” se refieren a un grupo alquileno que contiene al menos 2, y a lo más 3, 4, 5, 6, 7 ó 8 átomos de carbono, respectivamente. A menos que se especifique de otra manera, un grupo alquileno es generalmente un grupo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> alquileno. Ejemplos no limitantes de grupos alquilenos, como se usan en la presente invención, incluyen metileno, etileno, n-propileno, isopropileno, n-butileno, isobutileno, sec-butileno, t-butileno, n-pentileno, isopentileno, hexileno y similares.

[67] El término “alcoxilo”, como se usa en el presente documento, se refiere a los grupos –OR<sub>a</sub>, donde R<sub>a</sub> es un grupo alquilo como se define en el presente documento. Un grupo alcoxilo puede estar opcionalmente sustituido. Como se usa en el presente documento, los términos “C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub> alcoxilo”, “C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> alcoxilo”, “C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub> alcoxilo”, “C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> alcoxilo”, “C<sub>1</sub>-C<sub>7</sub> alcoxilo” y “C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> alcoxilo” se refieren a un grupo alcoxilo en donde el grupo funcional alquilo contiene al menos 2, y a lo más 3, 4, 5, 6, 7 ó 8 átomos de carbono. Ejemplos no limitantes de grupos alcoxilo, como se usan en la presente invención, incluyen metoxilo, etoxilo, n-propoxilo, isopropoxilo, n-butiloxilo, t-butiloxilo, pentiloxilo, hexiloxilo, heptiloxilo, octiloxilo, noniloxilo, deciloxilo y similares.

[68] El término “arilo”, como se usa en el presente documento, se refiere a sistemas de anillos monocíclicos, bicíclicos y tricíclicos que tiene un total de cinco a catorce anillos miembros, en donde al menos un anillo en el sistema es aromático y en donde cada anillo del sistema contiene 3 a 7 anillos miembros. En ciertas realizaciones, tales grupos arilo están opcionalmente sustituidos. Ejemplos no limitantes de grupos arilo, como se usan en el presente documento, incluyen fenilo, naftilo, fluorenilo, indenilo, azuleno, antraceno y similares. Como alternativa opcional el término “arilo” puede en cambio referirse a sistemas de anillos monocíclicos o bicíclicos fundidos que tienen un total de seis, diez o catorce anillos de átomos de carbono como miembros, opcionalmente sustituidos con uno o más sustituyentes; ejemplos no limitantes de tales grupos arilo incluyen fenilo y naftilo.

000025

- [69] El término “arileno”, como se usa en el presente documento representa un radical divalente derivado de un grupo arilo. En ciertas realizaciones, tales grupos arileno están opcionalmente sustituidos.
- [70] El término “halógeno”, como se usa en el presente documento, se refiere a flúor (F), cloro (Cl), bromo (Br) o yodo (I).
- [71] El término “halo”, como se usa en el presente documento, se refiere a los radicales: de flúor (-F), de cloro (-Cl), de bromo (-Br) y de yodo (-I).
- [72] Los términos “haloalquilo” o “alquilo halo sustituido”, como se usan en el presente documento, se refieren a un grupo alquilo como se define en el presente documento, sustituido con uno o más grupos halógenos, en donde los grupos halógenos son iguales o diferentes. Un grupo haloalquilo puede estar opcionalmente sustituido. Ejemplos no limitantes de tales grupos haloalquilos en ramas o en cadenas rectas, como se usan en el presente documento, incluyen metilo, etilo, propilo, isopropilo, isobutilo y n-butilo sustituidos con uno o más grupos halógenos, en donde los grupos halógenos son iguales o diferentes, incluyendo, pero no limitados a, trifluorometilo, pentafluoroetilo y similares.
- [73] El término “haloalquenilo” o “alquenilo halo sustituido”, como se usan en el presente documento, se refieren a un grupo alquenilo como se define en el presente documento, sustituido con uno o más grupos halógenos, en donde los grupos halógenos son iguales o diferentes. Un grupo haloalquenilo puede estar opcionalmente sustituido. Ejemplos no limitantes de tales grupos haloalquenilos en ramas o en cadenas rectas, como se usan en el presente documento, incluyen etenilo, propenilo, butenilo, pentenilo, hexenilo, heptenilo, octenilo, nonenilo, decenilo y similares sustituidos con uno o más grupos halógenos, en donde los grupos halógenos son iguales o diferentes.
- [74] El término “heteroarilo”, como se usa en el presente documento, se refiere sistemas de anillos monocíclicos, bicíclicos y tricíclicos que tiene un total de cinco a catorce anillos miembros, en donde al menos un anillo en el sistema es aromático y al menos un anillo en el sistema contiene uno o más heteroátomos seleccionados entre nitrógeno, oxígeno y azufre, y en donde cada anillo del sistema contiene 3 a 7 anillos miembros. En ciertas realizaciones, tales grupos heteroarilo está opcionalmente sustituidos. Ejemplos no limitantes de grupos arilo, como se usan en el presente documento, incluyen benzofuranilo, benzofurazanilo, benzoxazolilo, benzopiranilo, benzotiazolilo, benzotienilo, benzazepinilo, benzimidazolilo, benzotipiranilo, benzo[1,3]dioxolo, benzo[b]furilo, benzo[b]tienilo, cinnolinilo, furazanilo, furilo, furopiridinilo, imidazolilo, indolilo, indolizinilo, indolin-2-ona, indazolilo, isoindolilo,

isoquinolinilo, isoxazolilo, isotiazolilo, 1,8-naftiridinilo, oxazolilo, oxaindolilo, oxadiazolilo, pirazolilo, pirrolilo, ftalazinilo, pteridinilo, purinilo, piridilo, piridazinilo, pirazinilo, pirimidinilo, quinoxalinilo, quinolinilo, quinazolinilo, 4H-quinolizinilo, tiazolilo, tiadiazolilo, tienilo, triazinilo, triazolilo y tetrazolilo. Como una alternativa opcional, el término “heteroarilo” puede en cambio referirse a sistemas de anillos monocíclicos o bicíclicos fundidos que tienen un total de 5, 6, 9 ó 10 anillos miembros, en donde al menos un anillo miembro es un heteroátomo seleccionado de entre nitrógeno, oxígeno y azufre, opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes, *e.g.*, benzofuranilo, benzofurazanilo, benzoxazolilo, benzopiranilo, benzotiazolilo, benzotienilo, benzazepinilo, benzimidazolilo, benzotipiranilo, benzo[b]furilo, benzo[b]tienilo, cinnolinilo, furazanilo, furilo, imidazolilo, indolilo, indolizinilo, indazolilo, isoindolilo, isoquinolinilo, isoxazolilo, isotiazolilo, 1,8-naftiridinilo, oxazolilo, oxaindolilo, oxadiazolilo, pirazolilo, pirrolilo, ftalazinilo, pteridinilo, purinilo, piridilo, piridazinilo, pirazinilo, pirimidinilo, quinoxalinilo, quinolinilo, quinazolinilo, tiazolilo, tiadiazolilo, tienilo, triazinilo, triazolilo y tetrazolilo.

[75] El término “heteroarileno”, como se usa en el presente documento, se refiere a un radical divalente derivado de un grupo heteroarilo. En ciertas realizaciones tales grupos heteroarilenos están opcionalmente sustituidos.

[76] El término “heteroátomo”, como se usa en el presente documento, se refiere a uno o más de los elementos oxígeno, azufre, nitrógeno, fósforo o silicio.

[77] El término “hidroxilo”, como se usa en el presente documento, se refiere al grupo –OH.

[78] El término “hidroxialquilo”, como se usa en el presente documento se refiere aun grupo alquilo, como se define en el presente documento, sustituido con uno o más grupos hidroxilo. Ejemplos no limitantes de grupos C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> hidroxialquilos en ramas o cadenas rectas, como se usan en el presente documento, incluyen grupos metilo, etilo, propilo, isopropilo, isobutilo y n-butilo sustituidos con uno o más grupos hidroxilos.

[79] El término “opcionalmente sustituido”, como se usa en el presente documento, significa que un grupo al que se hace referencia puede o no estar sustituido con uno o más grupo o grupos adicionales individualmente e independientemente seleccionados de entre alquilo, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, arilo, heteroarilo, heterocicloalquilo, hidroxilo, alquoxi, mercaptilo, ciano, halo, carbonilo, tiocarbonilo, isocianato, tiocianato, isotiocianato, nitro, perhaloalquilo, perfluoroalquilo, y amino, incluyendo grupos amono mono- y di- sustituidos, y los derivados protegidos de los mismos. Ejemplos no limitantes de sustituyentes opcionales incluyen, , –CN, =O, =N-OH, =N-OR, =N-R, –OR, –C(O)R, –C(O)OR, –O

OC(O)OR, -C(O)NHR, -C(O)NR<sub>2</sub>, -OC(O)NHR, -OC(O)NR<sub>2</sub>, -SR-, -S(O)R, -S(O)<sub>2</sub>R, -NHR, -N(R)<sub>2</sub>, -NHC(O)R, -NRC(O)R, -NHC(O)OR, -NRC(O)OR, S(O)<sub>2</sub>NHR, -S(O)<sub>2</sub>N(R)<sub>2</sub>, -NHS(O)<sub>2</sub>NR<sub>2</sub>, -NRS(O)<sub>2</sub>NR<sub>2</sub>, -NHS(O)<sub>2</sub>R, -NRS(O)<sub>2</sub>R, C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>alquilo, C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>alcoxilo, arilo, heteroarilo, cicloalquilo, heterocicloalquilo, C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>alquilo halo-sustituido, y C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>alcoxilo halo-sustituido, donde cada R es independientemente seleccionado de entre H, halo, C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>alquilo, C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>alcoxilo, arilo, heteroarilo, cicloalquilo, heterocicloalquilo, C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>alquilo halo-sustituido, y C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>alcoxilo halo-sustituido. La ubicación y el número de tales grupos sustituyentes se lleva acabo de acuerdo con las bien conocidas limitaciones que impone la valencia de cada grupo, por ejemplo =O es un sustituyente apropiado para un grupo alquilo, pero no para un grupo arilo.

[80] El término “solvato”, como se usa en el presente documento, se refiere a un complejo de estequiometria variable formado por un soluto (a manera de ejemplo, un compuesto de Fórmula (I), o una sal del mismo, como se describe en el presente documento) y un solvente. Ejemplos no limitantes de un solvente son agua, acetona, metanol, etanol y ácido acético.

[81] El término “aceptable” con respecto a una formulación, composición o ingrediente, como se usa en el presente documento, significa que no tiene un efecto perjudicial o negativos sobre la salud general de un sujeto sometido a tratamiento.

[82] El término “administración” o “que se administra” referido al compuesto sujeto significa proporcionar un compuesto de Fórmula (I), una sal farmacéuticamente aceptable, un solvato farmacéuticamente aceptable o un profármaco de los mismos a un sujeto que necesita tratamiento.

[83] El término “antígeno”, se refiere a una molécula que contiene uno o más epítopos (*e.g.*, lineales, conformacionales o de ambos tipos) que provocan una respuesta inmune. El término puede ser usado de manera intercambiable con el término “inmunógeno”. Por “provocar” se entiende inducir, promover, aumentar o modular una respuesta inmune o una reacción inmune. En algunos casos, la respuesta inmune o la reacción inmune es una respuesta humoral y/o celular. Un antígeno puede inducir, promover, aumentar o modular una respuesta inmune o una reacción inmune en células *in vitro* y/o *in vivo* en un sujeto y/o *ex vivo* en las células o tejidos de un sujeto. Tales respuestas o reacciones inmunes pueden incluir, pero no estar limitadas a, provocar la formación de anticuerpos en un sujeto, o generar una población específica de linfocitos que reaccionen con el antígeno. Los antígenos son normalmente macromoléculas (*e.g.*, proteínas, polisacáridos, polinucleótidos) que son ajenos al huésped.

000028

- [84] El término “antígeno”, como se usa en el presente documento, también se refiere a subunidades de antígeno (*i.e.*, antígenos que están separados y aislados de un organismo, al que en su conjunto el antígeno está asociado por naturaleza), también como a bacterias, virus, parásitos, u otros patógenos o células tumorales muertas, atenuadas o inactivadas, incluyendo los dominios extracelulares de receptores de la superficie celular y porciones intracelulares que contienen epítomos de células T. Anticuerpos como los anticuerpos anti-idiotipo, o fragmentos de los mismos, y mimótopos de péptidos sintéticos, los que pueden imitar un antígeno o un determinante antigénico, también están incluidos en la definición de antígeno que se usa en el presente documento. De manera similar, un oligonucleótido o un polinucleótido que expresan una proteína inmunogénica, antígeno o determinante antigénico *in vivo*, tales como los que se usan en la aplicación de terapia génica o inmunización con ácidos nucleicos, también están incluidos en la definición de antígeno que se usa en el presente documento.
- [85] El término “epítomo” se refiere a ésta porción de una especie dada (*e.g.*, una molécula antigénica o un complejo antigénico) que determina su especificidad inmunológica. Un epítomo cae dentro de la extensión de la presente definición de antígeno. Comúnmente, un epítomo es un polipéptido o un polisacárido en un antígeno de origen natural. En antígenos artificiales, puede ser una sustancia de bajo peso molecular tal como un derivado del ácido arsanílico. Normalmente, un epítomo de una célula B incluirá al menos 5 aminoácidos, pero puede ser tan pequeño como para incluir 3-4 aminoácidos. Un epítomo de una célula T, tal como un epítomo CTL, normalmente incluirá al menos 7-9 aminoácidos, y un epítomo de una célula T cooperadora normalmente incluirá al menos aproximadamente 12-20 aminoácidos.
- [86] El término “cáncer”, como se usa en el presente documento se refiere al crecimiento anormal de células que tienden a proliferar de manera descontrolada y, en algunos casos, hasta la metástasis (diseminación). Los tipos de cáncer incluyen, pero no están limitados a, tumores sólidos (tales como aquellos que se presentan en la vejiga, intestino, cerebro, mamas, endometrio, corazón, riñones, pulmones, tejido linfático (linfoma), ovarios, páncreas u otros órganos endocrinos (tiroides), próstata, piel (melanoma)) o tumores hematológicos (tales como las leucemias).
- [87] El término “vehículo”, como se usa en el presente documento, se refiere a compuesto o agentes químicos que facilitan la incorporación de un compuesto, descrito en el presente documento, dentro de las células o tejidos.

000029

- [88] Los términos “coadministración” o “administración combinada” o similares, que se usan en el presente documento, pretenden abarcar la administración de agentes terapéuticos seleccionados aun único paciente, con la intención de que incluya regímenes de tratamiento en los cuales los agentes nos son necesariamente administrados por la misma vía de administración o al mismo tiempo.
- [89] El término “desorden dermatológico”, como se usa en el presente documento, se refiere a desordenes de la piel. Tales desordenes dermatológicos incluyen, pero no están limitados a, desordenes inflamatorios o proliferativos de la piel tales como, dermatitis atópica, desordenes bullosos, colagenosis, eczema por dermatitis de contacto, enfermedad de Kawasaki, rosácea, Síndrome de Sjogren-Larsson, queratosis actínica, carcinoma basocelular y urticaria.
- [90] El término “diluyente”, como se usa en el presente documento, se refiere a compuestos químicos que son usados para diluir un compuesto descrito en el presente documento, antes de su suministro. Los diluyentes también pueden ser usados para estabilizar los compuestos descritos en el presente documento.
- [91] Los términos “cantidad efectiva” o “cantidad terapéuticamente efectiva”, como se usan en el presente documento, se refieren a una cantidad suficiente de un compuesto, descrito en el presente documento, que al ser administrada aliviará en cierta medida uno o más de los síntomas de la enfermedad o condición que está siendo tratada. El resultado puede ser la reducción y/o alivio de los signos, síntomas, o causas de la enfermedad, o cualquier otra alteración deseada del sistema biológico. Por ejemplo, una “cantidad efectiva” para usos terapéuticos es la cantidad de la composición que comprende un compuesto, como se divulga en el presente documento, requerida para proporcionar una disminución clínicamente significativa en los síntomas de la enfermedad. Una cantidad “efectiva” apropiada en cada caso individual puede ser determinada usando técnicas tales como el estudio de escalamiento de dosis.
- [92] Los términos “aumentar” o “mejorar” y sus derivados, como se usa en el presente documento, se refieren a incrementar o prolongar el efecto deseado ya sea en potencia o en duración. Por lo tanto, con respecto a mejorar el efecto de los agentes terapéuticos, el término “mejorar” se refiere a la habilidad para incrementar o prolongar, ya sea en potencia o duración, el efecto de otros agentes terapéuticos en un sistema. Una cantidad que “mejora la efectividad”, como se usa en el presente documento, se refiere a una cantidad adecuada para aumentar el efecto de otro agente terapéutico en un sistema deseado.

- [93] El término “excipiente”, se refiere a cualquier sustancia esencialmente accesorio que puede estar presente en la forma de dosificación final. Por ejemplo, el término “excipiente” incluye vehículos, aglutinantes, disgregantes, rellenos (diluyentes), lubricantes, agentes de suspensión/de dispersión, y similares.
- [94] El término “fibrosis” o “desorden fibrosante”, como se usa en el presente documento, se refiere a condiciones que siguen a continuación de una inflamación aguda o crónica y están asociadas a la acumulación anormal de células y/o colágeno e incluyen, pero no están limitadas a, la fibrosis de órganos o tejidos individuales tales como el corazón, los riñones, las articulaciones, pulmones, o la piel; e incluye desórdenes tales como la fibrosis pulmonar idiopática y la alveolitis fibrosante criptogénica.
- [95] El término “iatrogénico”, como se usa en el presente documento, significa una condición, desorden, o enfermedad creada o empeorada por una terapia quirúrgica o médica.
- [96] El término “cantidad inmunológicamente efectiva”, como se usa en el presente documento, significa la administración de una cantidad suficiente a un individuo, ya sea en una dosis única o como parte de una serie de dosis, que es efectiva para el tratamiento o prevención de una enfermedad o desorden inmunológico. Esta cantidad varía dependiendo de la salud y condiciones físicas del individuo a ser tratado, la edad, el grupo taxonómico al que pertenece el individuo a ser tratado (*e.g.*, primate no humano, primate, etc.), la capacidad del sistema inmune del individuo para sintetizar anticuerpos, el grado de protección deseado, la formulación de la vacuna, la evaluación del médico tratante de la situación médica, y otros factores relevantes. Es esperable que la cantidad caiga dentro de un rango relativamente amplio, de manera que pueda ser determinada a través de ensayos rutinarios.
- [97] Una “respuesta inmunológica” o “respuesta inmune” a un antígeno o composición, como se usa en el presente documento, se refiere al desarrollo en un sujeto de una respuesta humoral y/o celular al antígeno o a la composición.
- [98] Las respuestas inmunes incluyen respuestas inmunes innatas y adaptativas. Las respuestas inmunes innatas son respuestas de acción rápida que son la primera línea de defensa del sistema inmune. En contraste, la inmunidad adaptativa usa la selección y expansión clonal de las células inmunes, que tienen genes de receptores somáticamente reordenada (*e.g.*, receptores de células T y células B) las que reconocen antígenos de un patógeno o desorden determinado (*e.g.*, un tumor), por lo tanto proporcionan especificidad y memoria inmunológica. Las respuestas inmunes innatas, entre sus muchos efectos, conducen a la rápida descarga de citoquinas inflamatorias y a la activación de las células presentadoras de

antígeno (APCs, siglas en inglés de *antigen-presenting cells*) tales como macrófagos y células dendríticas. Para distinguir los patógenos de los componentes propios, el sistema inmune innato usa una variedad relativamente invariable de receptores que detectan la huella de los patógenos, conocidas como patrones moleculares asociados a patógenos o PAMPs. Se sabe que la adición de componentes microbianos en vacunas experimentales conduce al desarrollo de respuestas inmunes adaptativas robustas y durables. Se ha descrito, que el mecanismo detrás de la potenciación de respuestas inmunes involucra a los receptores de reconocimiento de patrones (PRRs), los cuales están diferencialmente expresados en una variedad de células inmunes, que incluyen neutrófilos, macrófagos, células dendríticas, células citolíticas naturales ("natural killer cells"), células B y algunas células no inmunes tales como las células epiteliales y endoteliales. La participación de los PRRs conduce a la activación de alguna de estas células y a la secreción de citoquinas y quemoquinas, también como, a la maduración y migración de otras células. En paralelo, esto crea un medio ambiente inflamatorio que conduce a la aparición de una respuesta inmune adaptativa. Los PRRs incluyen receptores no fagocíticos, tales como los receptores tipo Toll (TLRs) y proteínas con dominios de oligomerización para unión a nucleótidos (NOD), y receptores que inducen fagocitosis, tales como los receptores de barrido o "scavengers", receptores de manosa y receptores de  $\beta$ - glucano. Las células dendríticas están reconocidas como uno de los tipos de células más importantes para iniciar la imprimación de células T (TH) cooperadoras CD4+ naive y para inducir la diferenciación de células T CD8+ en células citolíticas. Se ha reportado que las señales de los TLR juegan un rol importante en determinar la calidad de las respuestas de las células T cooperadoras, por ejemplo, como cuando la naturaleza de la señal de TLR determina el tipo específico de respuesta TH que se observa (e.g., respuesta TH1 vs. TH2). Como parte de la respuesta tipo TH1 se produce una combinación de anticuerpo (humoral) e inmunidad celular, mientras que la respuesta tipo TH2 es una respuesta predominantemente de anticuerpos.

- [99] Una "respuesta inmune humoral" se refiere a una respuesta inmune mediada por moléculas de anticuerpo, mientras que "una respuesta inmune celular" se refiere a una respuesta inmune mediada por linfocitos T y/o otros glóbulos blancos. Un aspecto importante de la inmunidad celular involucra la respuesta antígeno específica mediante células T citolíticas ("CTLs", por sus siglas en inglés *cytolytic T-cells*). Las CTLs presentan especificidad por antígenos peptídicos que se presentan en asociación con proteínas codificadas por el complejo mayor de histocompatibilidad (CMH) y que se expresan en la superficie de las células. Las CTLs ayudan a inducir y promover la destrucción intracelular de microbios intracelulares, o la lisis de las células infectadas con tales microbios. Otro aspecto de la inmunidad celular involucra una respuesta antígeno específica de las células de

000032

cooperadoras. Las células T cooperadoras actúan para ayudar a estimular la función, y enfocar la actividad de, células efectoras no específicas contra células que despliegan antígenos péptidicos en asociación con las moléculas del CMH, en su superficie. Una "respuesta inmune celular" también se refiere a la producción de citoquinas, quemoquinas y otras moléculas tales como las producidas por las células T activadas y/o otros glóbulos blancos, incluyendo aquellos que derivados de células T CD4+ y CD8+.

[100] Una composición tal como una composición inmunogénica o una vacuna que provoca una respuesta inmune celular, puede por lo tanto servir para sensibilizar a un sujeto vertebrado mediante la presentación de antígeno en asociación con moléculas del CMH, en la superficie de la célula. La respuesta inmune mediada por células es dirigida a, o cerca de, células presentadoras de antígeno en su superficie. Además, se pueden generar linfocitos T antígeno específicos para permitir la protección futura de un huésped inmunizado. La habilidad de un antígeno o composición particulares, para estimular una respuesta inmunológica mediada por células puede ser determinada por una variedad de ensayos conocidos en la técnica, tal como mediante los ensayos de linfoproliferación (activación de linfocitos), ensayos de células citotóxicas CTL, mediante un ensayo para detectar un linfocitos T específico para el antígeno en un sujeto sensibilizado, o mediante la medición de la producción de citoquinas por las células T en respuesta a la re-estimulación con antígeno. Tales ensayos son bien conocidos en la técnica. Ver, *e.g.*, Erickson et al. (1993) *J. Immunol.* 151:4189-4199; Doe et al. (1994) *Eur. J. Immunol.* 24:2369-2376. De esta manera, una respuesta inmunológica, como es usada en el presente documento, puede ser del tipo que estimula la producción de CTLs y/o la producción o activación de células T cooperadoras. El antígeno de interés también puede provocar una respuesta inmune mediada por anticuerpo. Por lo tanto, una respuesta inmunológica puede incluir, por ejemplo, uno o más de los siguientes efectos, entre otros: la producción de anticuerpos por, por ejemplo, células B; y/o la activación de células T supresoras y/o células T  $\gamma\delta$  dirigidas específicamente a un antígeno o antígenos presentes en la composición o vacuna de interés. Estas respuestas pueden servir para neutralizar la ineffectividad, y/o mediar con el complemento del anticuerpo, o la citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC) para proveer protección a un huésped inmunizado. Tales respuestas pueden ser determinadas usando inmunoensayos estándares y ensayos de neutralización, que son bien conocidos en la técnica.

[101] Las composiciones inmunogénicas de la invención presentan "inmunogenicidad mejorada" para un anticuerpo dado, cuando poseen una mayor capacidad para provocar una respuesta inmune que la respuesta inmune provocada por una cantidad de antígeno equivalente en una composición distinta (*e.g.*, en donde el antígeno es administrado como una

000033

proteína soluble). Por lo tanto, una composición puede presentar "inmunogenicidad mejorada", por ejemplo, debido a que la composición genera una respuesta inmune más fuerte, o por qué se necesitan dosis más bajas o menos dosis de antígeno, para lograr una respuesta inmune en sujeto al cual se le administran. Tal inmunogenicidad mejorada puede ser determinada, un ejemplo, mediante la administración a animales de composiciones de la invención, y antígenos de control y comparando los resultados de los ensayos para ambos.

[102] El término "desórdenes inflamatorios", como se usa en el presente documento, se refiere a aquellas enfermedades o condiciones que se caracterizan por uno o más de los síntomas de dolor (*dolor*, debido a la generación de sustancias nocivas y la estimulación de los nervios), calor (*calor*, debido a la vasodilatación), enrojecimiento (*rubor*, debido a vasodilatación y aumento en el flujo de sangre), hinchazón (*tumor*, debido a la excesiva afluencia o efusión restringida de fluido), y pérdida de funcionalidad (*functio laesa*, la que puede ser parcial o completa, temporal o permanente). La inflamación puede tomar muchas formas e incluye, pero no está limitada a, una inflamación que es una o más de las siguientes: aguda, adhesiva, atrópica, catarral, crónica, cirrótica, difusa, diseminada, exudativa, fibrinosa, fibrosante, central, granulomatosa, hiperplásica, hipertrófica, intersticial, metastásica, necrótica, obliterante, parenquimatosa, plástica, productiva, proliferante, pseudomembranosa, purulenta, esclerosante, seroplástica, serosa, simple, específica, sub-aguda, supurativa, tóxica, traumática, y/o ulcerativa. Los desórdenes inflamatorios además incluyen, sin limitarse sólo a aquellos que afectan los vasos sanguíneos (poliarteritis, arteritis temporal); articulaciones (artritis: cristalina, osteopsoriásica, reactiva, reumatoide, de Reiter); tracto gastrointestinal (enfermedad,); piel (dermatitis); o múltiples órganos y tejidos (lupus eritematoso sistémico).

[103] El término "modular", como se usa en la presente documento, significa interactuar con un objetivo o diana ya sea directa o indirectamente para alterar la actividad del objetivo, incluyendo, a manera sólo de ejemplo, el mejorar la actividad del objetivo, inhibir la actividad del objetivo, limitar la actividad del objetivo, o extender la actividad del objetivo.

[104] El término "modulador", como se usa en el presente documento, se refiere a una molécula que interactúa con un objetivo ya sea directa o indirectamente. Las interacciones incluyen, pero no están limitadas a, las interacciones de un agonista o de un antagonista.

[105] Los términos "enfermedad ocular" o "enfermedad oftalmológica", como se usan en el presente documento, se refieren a enfermedades que afectan el ojo o a los ojos y potencialmente también a los tejidos circundantes. Las enfermedades oftalmológicas u oculares incluyen, pero no están limitadas a, conjuntivitis, retinitis, escleritis, uveítis,

000034

conjuntivitis alérgica, conjuntivitis vernal, conjuntivitis papilar y retinitis por citomegalovirus (CMV).

- [106] El término “oligonucleótido”, como se usa en el presente documento, se refiere a un polinucleótidos que tiene entre 5 a 100 nucleótidos, normalmente con un tamaño de entre 5 a 30 nucleótidos.
- [107] El término “farmacéuticamente aceptable”, como se usa en el presente documento, se refiere a un material como un vehículo o diluyente, que no anula la actividad biológica o las propiedades de los compuestos descritos en el presente documento. Tales materiales son administrados a un individuo sin causar efectos biológicos indeseados o actuar de manera deletéreasobre ninguno de los componentes de la composición en la cual está contenido.
- [108] El término “sal farmacéuticamente aceptable”, como se usa en el presente documento, se refiere a una formulación de un compuesto que no causa irritación significativa en el organismo al cual es administrado y no anula la actividad biológica ni las propiedades de los compuestos descritos en el presente documento.
- [109] Los términos “combinación” o “combinación farmacéutica”, como se usa en el presente documento, se refieren a un producto que resulta de la mezcla o combinación de más de un ingrediente activo, e incluye tanto combinacionesfijas como no fijas de los ingredientes activos. El término “combinación fija” significa que los ingredientes activos, a manera de ejemplo, un compuesto de Fórmula (I) y un agente terapéutico adicional, son ambos administrados simultáneamente a un paciente en la forma de una única entidad o dosificación. El término “combinación no fija” significa que los ingredientes activos, a manera de ejemplo, un compuesto de Fórmula (I) y un agente terapéutico adicional, son ambos administrados como entidades separadas, ya sea simultáneamente, en forma concurrente o secuencialmente; sin límites de tiempo específicos; en donde tal administración proporciona niveles terapéuticamente efectivos de los 2 compuestos en el cuerpo del paciente. Lo último también se aplica a una terapia tipo coctel, *e.g.*, la administración de 3 o más ingredientes activos.
- [110] Los términos “composición” o “composición farmacéutica”, como se usan en el presente documento, se refieren a la mezcla de al menos un compuesto, tales como los compuestos de Fórmula (I), que se proporcionan en el presente documento, con al menos uno y opcionalmente más de otro componente químico farmacéuticamente aceptable, tales como vehículos, estabilizantes, diluyentes, agentes de dispersión, agentes de suspensión, agentes espesantes, y/o excipientes.

000035

- [111] Por “pH fisiológico” o un “pH en el rango fisiológico”, se entiende un pH en el rango de aproximadamente 7,2 a 8,0 inclusive, más normalmente en el rango de aproximadamente 7,2 a 7,6 inclusive.
- [112] El término “profármaco”, como se usa en el presente documento, se refiere a un agente que es convertido en un medicamento de origen, *in vivo*. Un ejemplo, no limitante, de profármaco de los compuestos descritos en el presente documento, es un compuesto descrito en éste documento y que es administrado como un ester, el cual una vez que está dentro de la célula es metabólicamente hidrolizado en un ácido carboxílico, la entidad activa,. Un ejemplo adicional de profármaco, es un péptido de corta longitud unido a un grupo ácido, en donde el péptido es metabolizado para revelar el grupo funcional activo.
- [113] Los términos “polinucleótido” y “ácido nucleico”, se utilizan indistintamente, y se refieren a un polímero de una sólo hebra o de doble hebra de bases ribonucleótidos o desoxiribonucleótidos. Los polinucleótidos de una sólo hebra incluyen hebras de codificación y sus hebras complementarias o hebras sentido y anti-sentido. Los polinucleótidos incluyen RNA y DNA, y pueden ser aislados de fuentes naturales, sintetizados *in vivo*, o preparados a partir de una combinación de moléculas sintéticas y naturales. Ejemplos de polinucleótidos incluyen, pero no están limitados a, genes, DNAs, RNAs, moléculas de RNA autoreplicante, moléculas de DNA autoreplicante, secuencias de DNA genómico, secuencias de RNA genómico, oligonucleótidos. Las moléculas de RNA autoreplicante y las moléculas de DNA autoreplicante son capaces de auto amplificarse cuando son introducidas en una célula huésped.
- [114] Un polinucleótido puede ser lineal o no lineal (*e.g.*, comprendiendo elementos circulares, ramificados, etc.). Los términos “polinucleótido” y “ácido nucleico” abarcan variantes modificadas (*e.g.*, secuencias con una delección, adición y/o sustitución). Las variantes modificadas pueden ser deliberadas, tal como a través de mutagénesis sitio dirigida, o pueden ser accidentales, tal como a través de mutaciones naturales.
- [115] Un polinucleótido puede estar compuesto de monómeros que son nucleótidos de origen natural (tales como el DNA y el RNA), o análogos de nucleótidos de origen natural, o una combinación de ambos. Los nucleótidos modificados pueden tener alteraciones en los grupos funcionales azúcar y/o en los grupos funcionales de las bases pirimidina o purina. Las modificaciones en el azúcar incluyen, por ejemplo, el reemplazo de uno o más grupos hidroxilo con halógenos, grupos alquilo, aminas, y grupos azida, o los azúcares pueden tener funcionalidad como éteres o ésteres. Más aún, el grupo funcional azúcar en su totalidad puede

ser reemplazado con estructuras electrónica y estéricamente similares, tales como aza-azúcares y análogos de azúcar carbocíclicos. Ejemplos de modificaciones en un grupo funcional de una base, incluyen purinas y pirimidinas alquiladas, purinas y pirimidinas aciladas, y otros bien conocidos sustituyentes heterocíclicos. Los monómeros de polinucleótidos pueden ser unidos mediante enlaces fosfodiéster o análogos a tales uniones. Análogos a las uniones fosfodiéster incluyen fosforotioato, fosforoditioato, fosforoselenoato, fosforodiselenoato, fosforoanilotioato, fosforanilidato, fosforamidato, y similares. Los términos “polinucleótido” y “ácido nucleico” también incluyen los llamados “ácidos peptidonucleicos”, que comprenden bases de ácidos nucleicos de origen natural o modificados unidos a un esqueleto de poliamida.

[116] El término “especies que contienen polinucleótidos”, como se usa en el presente documento, se refiere a una molécula, en que al menos una porción es un polinucleótido.

[117] Los términos “polipéptido”, “proteína” u “péptido”, como se usan en el presente documento, se refieren a cualquier polímero formado a partir de múltiples aminoácidos, sin tener en cuenta su longitud o modificaciones post-translacionales (*e.g.*, fosforilación o glicosilación), asociados, al menos en parte, mediante un enlace covalente (*e.g.*, el término “proteína”, como se usa en el presente documento, se refiere tanto a polímeros lineales (de cadena lineal) formados por aminoácidos asociados por enlaces péptidicos, también como a proteínas que exhiben estructuras secundarias, terciarias o cuaternarias, lo cual puede incluir otras formas de asociación intramolecular e intermolecular, tales como puentes de hidrógeno y enlaces tipo van der Waals, dentro o entre cadena(s) péptidicas). Ejemplos de polipéptidos incluyen, pero no están limitados a, proteínas, péptidos, oligopéptidos, dímeros, multímeros, variantes y similares. En algunas realizaciones, el polipéptido puede estar sin modificar, tal que carece de modificaciones tales como fosforilación y glicosilación. Un polipéptido puede contener parte o todo un polipéptido de origen natural, o puede ser un polipéptido quimérico o de fusión que contiene secuencias de aminoácidos de dos o más polipéptidos de origen natural.

[118] El término “especies que contienen polipéptidos”, como se usa en el presente documento, se refiere a una molécula, en que al menos una porción es un polipéptido. Ejemplos incluyen, polipéptidos, glicoproteínas, metaloproteínas, lipoproteínas, antígenos sacáridos conjugados con proteínas transportadoras, y así sucesivamente.

[119] El término “enfermedad respiratoria”, como se usa en el presente documento, se refiere a enfermedades que afectan los órganos que están involucrados en la respiración, tales como la

000037

nariz, la garganta, laringe, tráquea, bronquios y pulmones. Las enfermedades respiratorias incluyen, pero no están limitadas a, asma, síndrome de dificultad respiratoria del adulto y asma alérgico (extrínseco), asma no alérgico (intrínseco), asma severo agudo, asma crónico, asma clínico, asma nocturno, asma inducido por alérgenos, asma sensible a aspirina, asma inducido por esfuerzo, hiperventilación isocápnica, asma infantil, asma del adulto, asma variante tusiva, asma ocupacional, asma resistente a esteroides, asma estacional, rinitis alérgica estacional, rinitis alérgica perenne, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, incluyendo bronquitis crónica y enfisema, hipertensión pulmonar, fibrosis pulmonar intersticial y/o inflamación de las vías respiratorias y fibrosis quística, e hipoxia.

[120] El término “sujeto” o “paciente”, como se usa en el presente documento, abarca mamíferos y no mamíferos. Ejemplos de mamíferos incluyen, pero no están limitados a, humanos, chimpancés, simios, vacunos, caballos, ovejas, cabras, cerdos, conejos, perros, gatos, ratas, ratones, cobayos, y similares. Ejemplos de no mamíferos incluyen, pero no están limitados a, pájaros, peces y similares. Frecuentemente el sujeto es un humano, y puede ser un humano que ha sido diagnosticado como necesitado de tratamiento para una enfermedad o desorden divulgado en el presente documento.

[121] El término “modulador de TLR7”, como se usa en el presente documento, se refiere a un compuesto que modula a un receptor TLR7.

[122] El término “enfermedad TLR7” o “enfermedad o desorden asociados con la actividad del TLR7”, como se usa en el presente documento, se refiere a cualquier estado de una enfermedad asociados con un receptor tipo Toll. Tales enfermedades o desordenes incluyen, pero no están limitados a, enfermedades infecciosas, enfermedades inflamatorias, enfermedades respiratorias y enfermedades autoinmunes, tales como, sólo manera de ejemplo, asma, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), síndrome de dificultad respiratoria del adulto (SDRA), enfermedad de Chrons, bronquitis, dermatitis, rinitis alérgica, psoriasis, escleroderma, urticaria, artritis reumatoídea, esclerosis múltiple, cáncer, VIH y lupus.

[123] El término “cantidad terapéuticamente efectiva”, como se usa en el presente documento, se refiere a cualquier cantidad de un compuesto, la cual al compararla con el sujeto correspondiente que no ha recibido dicha cantidad, resulta en un tratamiento, curación, prevención mejorados o en la mejoría de una enfermedad, desorden o efectos colaterales, o en una disminución en la tasa de avance de la enfermedad o desorden. El término también

000038

incluye, dentro de su extensión, las cantidades efectivas para mejorar una función fisiológica normal.

[124] Los términos “tratar” o “tratamiento”, como se usa en el presente documento, se refieren a métodos para aliviar, mejorar o disminuir los síntomas de una enfermedad o condición, prevenir síntomas adicionales, mejorar o prevenir las causas metabólicas subyacentes de los síntomas, inhibir la enfermedad o condición, causar la regresión de la enfermedad o condición, aliviar una condición causada por la enfermedad o condición, o detener los síntomas de la enfermedad o condición ya sea profiláctica y/o terapéuticamente.

[125] El término “vector de expresión” se refiere generalmente a cualquier constructo que es capaz de direccionar la expresión de una secuencia(s) de ácidos nucleicos o gen(es) de interés. Un “vector de expresión de DNA” se refiere a una molécula de DNA que es capaz de direccionar la expresión de una secuencia(s) de ácidos nucleicos o gen(es) de interés. Un tipo específico de vector de expresión de DNA es un plásmido, el cual es una molécula de DNA episomal circular capaz de replicarse autónomamente dentro de la célula huésped. Normalmente, un plásmido es un loop de DNA de doble hebra circular al cual pueden unirse segmentos adicionales de DNA. El pCMV es un plásmido específico que es bien conocido en la técnica. También se conocen otros vectores de expresión de DNA, basados en el RNA de virus. Estos vectores de expresión de DNA normalmente comprenden un promotor que funciona en una célula eucariota, extremo 5' de una secuencia de DNAC para el cual el producto de transcripción es un vector de expresión de RNA (*e.g.*, un vector replicón del RNAdel alfavirus), y una región del extremo 3'. Otros ejemplos de vectores de expresión incluyen vectores de expresión de RNA (*e.g.*, un vector de expresión de alfavirus) y similares. Como se usa en el presente documento, “vector de expresión de RNA”, “vector replicón de RNA” y “replicón”, se refieren a una molécula de RNA que es capaz de direccionar su propia amplificación o auto replicación *in vivo*, normalmente dentro de una célula objetivo. El vector de expresión de RNA es usado directamente, sin la necesidad de introducir DNA dentro de la célula y transportar al núcleo, donde se realizará la transcripción. Al usar de un vector de RNA para liberación directa en el citoplasma de la célula huésped, la replicación autónoma y la traducción de la secuencia de ácido nucleico heteróloga ocurre eficientemente.

[126] Los nombres de los compuestos proporcionados en el presente documento, fueron obtenidos usando ChemDraw Ultra 10.0 (CambridgeSoft™) ó JChem version 5.0.3 (ChemAxon).

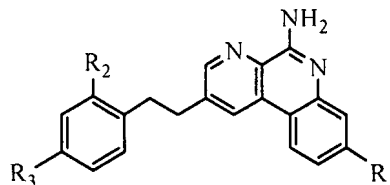
000039

[127] Otros objetos, características y ventajas de los métodos, composiciones y combinaciones descritas en el presente documento, se harán aparentes a partir de la siguiente descripción detallada. Sin embargo, se debería dar por entendido, que la descripción detallada y los ejemplos específicos, aunque indican realizaciones específicas, sólo se presentan a manera de ilustración.

### ***Descripción de Realizaciones Preferidas***

[128] En el presente documento se proporcionan compuestos y composiciones farmacéuticas de los mismos, que son agonistas del receptor 7 tipo Toll (TLR7). También se proporcionan en el presente documento, compuestos composiciones farmacéuticas y métodos para el tratamiento de enfermedades y/o desordenes asociados con la actividad del TLR7.

[129] Los agonistas del TLR7, proporcionados en el presente documento, son compuestos que tienen la estructura de la Fórmula (I), y sales farmacéuticamente aceptables, los solvatos farmacéuticamente aceptables (*e.g.*, hidratos), los derivados de N-óxido, los derivados de profármacos, los derivados protegidos, los isómeros individuales y las mezclas de isómeros de los mismos,



**Fórmula (II)**

En donde:

$R^1$  es H,  $C_1$ - $C_6$  alquilo,  $-C(R^5)_2OH$ ,  $-L^1R^5$ ,  $-L^1R^6$ ,  $-L^2R^5$ ,  $-L^2R^6$ ,  $-OL^2R^5$ , ó  $-OL^2R^6$ ;

$L^1$  es  $-C(O)-$  ó  $-O-$ ;

$L^2$  es  $C_1$ - $C_6$  alquilenos,  $C_2$ - $C_6$  alquenilenos, arilenos, heteroarilenos ó  $-((CR^4R^4)_pO)_q(CH_2)_p-$ , en donde el  $C_1$ - $C_6$  alquilenos y el  $C_2$ - $C_6$  alquenilenos de  $L^2$  están opcionalmente sustituidos con 1 a 4 grupos flúor;

cada  $L^3$  es independientemente seleccionado de  $C_1$ - $C_6$  alquilenos y  $-((CR^4R^4)_pO)_q(CH_2)_p-$ , en donde el  $C_1$ - $C_6$  alquilenos de  $L^3$  están opcionalmente sustituidos con 1 a 4 grupos flúor;

000040

$L^4$  es arileno ó heteroarileno;

$R^2$  es H ó  $C_1$ - $C_6$  alquilo;

$R^3$  es seleccionado de  $C_1$ - $C_4$ alquilo,  $-L^3R^5$ ,  $-L^1R^5$ ,  $-L^3R^7$ ,  $-L^3L^4L^3R^7$ ,  $-L^3L^4R^5$ ,  
 $L^3L^4L^3R^5$ ,  $-OL^3R^5$ ,  $-OL^3R^7$ ,  $-OL^3L^4R^7$ ,  $-OL^3L^4L^3R^7$ ,  $-OR^8$ ,  $-OL^3L^4R^5$ ,  
 $OL^3L^4L^3R^5$  y  $-C(R^5)_2OH$  ;

cada  $R^4$  es independientemente seleccionado de H y flúor;

$R^5$  es  $-P(O)(OR^9)_2$ ,

$R^6$  es  $-CF_2P(O)(\acute{O}^9)_2$  ó  $-C(O)\acute{O}^{10}$ ;

$R^7$  es  $-CF_2P(O)(\acute{O}^9)_2$  ó  $-C(O)\acute{O}^{10}$ ;

$R^8$  es H ó  $C_1$ - $C_4$ alquilo;

cada  $R^9$  es independientemente seleccionado de H y  $C_1$ - $C_6$ alquilo;

$R^{10}$  es H ó  $C_1$ - $C_4$ alquilo;

cada p es independientemente seleccionado de 1, 2, 3, 4, 5 y 6, y

q es 1, 2, 3 ó 4;

con la salvedad de que cuando  $R^3$  es  $C_1$ - $C_4$  alquilo ó  $-\acute{O}^8$ ,  $R^1$  es  $-C(R^5)_2OH$ ,  $-L^1R^5$ ,  $-L^1R^6$ ,  $-L^2R^5$ ,  $-L^2R^6$ ,  $-OL^2R^5$ , ó  $-OL^2R^6$ , en donde  $R^6$  es  $-CF_2P(O)(\acute{O}^9)_2$  y  $R^7$  es  $-CF_2P(O)(\acute{O}^9)_2$ .

[130] En ciertas realizaciones de los compuestos de Fórmula (I),  $R^1$  es  $C_1$ - $C_6$  alquilo, en otras realizaciones  $R^1$  es un metilo. En ciertas realizaciones,  $R^1$  es H. En otras realizaciones,  $R^1$  es  $-C(R^5)_2OH$ ,  $-L^1R^5$ ,  $-L^1R^6$ ,  $-L^2R^5$ ,  $-L^2R^6$ ,  $-OL^2R^5$ , ó  $-OL^2R^6$ .

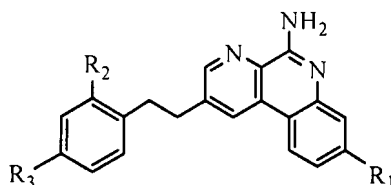
[131] En ciertas realizaciones de los compuestos de Fórmula (I), cuando  $R^1$ - $C(R^5)_2OH$ ,  $-L^1R^5$ ,  $-L^1R^6$ ,  $-L^2R^5$ ,  $-L^2R^6$ ,  $-OL^2R^5$ , ó  $-OL^2R^6$ ; entonces  $R^3$  es  $-OR^8$  ó  $C_1$ - $C_6$  alquilo. En ciertas realizaciones,  $R^1$  es  $-C(R^5)_2OH$ ,  $-L^1R^5$ ,  $-L^1R^6$ ,  $-L^2R^5$ ,  $-L^2R^6$ ,  $-OL^2R^5$ , ó  $-OL^2R^6$ , y  $R^3$  es  $-OMe$ .

000041

- [132] En ciertas realizaciones de los compuestos de Fórmula (I),  $R^2$  es  $C_1$ - $C_6$  alquilo. En ciertas realizaciones,  $R^2$  es metilo.
- [133] En ciertas realizaciones de los compuestos de Fórmula (I),  $R^3$  es seleccionado de  $C_1$ - $C_4$  alquilo,  $-L^3R^5$ ,  $-L^1R^5$ ,  $-L^3R^7$ ,  $-L^3L^4L^3R^7$ ,  $-L^3L^4R^5$ , y  $-L^3L^4L^3R^5$ . En realizaciones alternativas,  $R^3$  es seleccionado de  $-OL^3R^5$ ,  $-OL^3R^7$ ,  $-OL^3L^4R^7$ ,  $-OL^3L^4L^3R^7$ ,  $-OR^8$ ,  $-OL^3L^4R^5$ ,  $-OL^3L^4L^3R^5$  y  $-C(R^5)_2OH$ . En ciertas realizaciones,  $R^3$  es  $-OL^3R^5$ , en donde  $-OL^3R^5$  es un grupo de fórmula  $-O(CH_2)_{1-5}P(O)(OR)_2$ . En otras realizaciones,  $R^3$  es  $-OL^3R^5$ , en donde  $-OL^3R^5$  es un grupo de fórmula  $-O(CH_2)_{1-5}CF_2P(O)(OR)_2$ .
- [134] Cuando hay más de un  $R^9$  presente, como en los compuestos que comprenden un grupo funcional  $-P(O)(OR^9)_2$ , los grupos  $R^9$  son iguales o diferentes. En ciertas realizaciones de tales compuestos de Fórmula (I),  $R^9$  es H en cada caso. En otras realizaciones, al menos un  $R^9$  es H y el otro  $R^9$  es  $C_1$ - $C_6$  alquilo. En otras realizaciones, al menos un  $R^9$  es H y el otro  $R^9$  es metilo. En otras realizaciones, al menos un  $R^9$  es H y el otro  $R^9$  es etilo. En otras realizaciones de tales compuestos de Fórmula (I), cada  $R^9$  es  $C_1$ - $C_6$  alquilo y en ciertas realizaciones,  $R^9$  es metilo o etilo, o una combinación de los mismos.
- [135] En ciertas realizaciones de los compuestos de Fórmula (I)  $L^2$  y/o  $L^3$  es un grupo de fórmula  $-((CR^4R^4)_pO)_q(CH_2)_p-$ , y en ciertas realizaciones, este grupo es de la fórmula  $-(CH_2CH_2O)_{1-3}(CH_2)_{1-3}-$ .
- [136] En ciertas realizaciones de los compuestos de Fórmula (I),  $L^2$  es  $C_1$ - $C_6$  alquilenos, mientras que en otras realizaciones  $L^2$  es  $C_1$ - $C_6$  alquilenos sustituido con uno o dos grupos flúor. En ciertas realizaciones de tales compuestos de Fórmula (I),  $L^2$  es de la fórmula  $(CH_2)_{0.5}CF_2$ , en donde el carbono sustituido con flúor no está directamente unido al anillo fenilo de la Fórmula (I). En ciertas realizaciones de los compuestos de Fórmula (I),  $L^2$  es  $C_1$ - $C_6$  alquenileno, mientras que en otras realizaciones  $L^2$  es  $C_1$ - $C_6$  alquenileno sustituido con uno o dos grupos flúor.
- [137] En ciertas realizaciones de los compuestos de Fórmula (I),  $L^3$  es  $C_1$ - $C_6$  alquilenos, mientras que en otras realizaciones  $L^3$  es  $C_1$ - $C_6$  alquilenos sustituido con uno o dos grupos flúor. En ciertas realizaciones de tales compuestos de Fórmula (I),  $L^3$  es de la fórmula  $(CH_2)_{0.5}CF_2$ , en donde el carbono sustituido con flúor no está directamente unido al anillo fenilo de la Fórmula I.

- [138] En ciertas realizaciones de los compuestos de Fórmula (I),  $L^2$  es arileno o heteroarileno. En algunas de estas realizaciones,  $L^2$  es fenileno, tal como 1,3-disustituido fenileno ó 1,4-disustituido fenileno.
- [139] En ciertas realizaciones de tales compuestos de Fórmula (I),  $R^1$  es  $C_1$ - $C_6$  alquilo;  $R^2$  es  $C_1$ - $C_6$  alquilo;  $R^3$  es  $-OL^3R^5$  ó  $-OL^3R^7$ ;  $R^5$  es  $-P(O)(O^9)_2$ ;  $R^7$  es  $-CF_2P(O)(O^9)_2$ , y  $L^3$  es  $C_1$ - $C_6$  alquilenno.
- [140] En ciertas realizaciones de tales compuestos de Fórmula (I),  $R^1$  es  $C_1$ - $C_6$  alquilo;  $R^2$  es  $C_1$ - $C_6$  alquilo;  $R^3$  es  $-OL^3R^5$  ó  $-OL^3R^7$ ;  $R^5$  es  $-P(O)(O^9)_2$ ;  $R^7$  es  $-CF_2P(O)(O^9)_2$ ,  $L^3$  es  $-((CR^4R^4)_pO)_q(CH_2)_p$ ;  $R^4$  es H; q es 1 ó 2, y p es 2.
- [141] En ciertas realizaciones de tales compuestos de Fórmula (I),  $R^1$  es  $-L^2R^6$ ;  $R^2$  es  $C_1$ - $C_6$  alquilo ;  $R^3$  es  $-OL^3R^5$  ó  $-OL^3R^7$ ;  $R^5$  es  $-P(O)(OR^9)_2$ ;  $R^6$  es  $-C(O)OR^{10}$ ;  $R^7$  es  $-CF_2P(O)(OR^9)_2$ ;  $L^2$  es  $C_1$ - $C_6$  alquilenno, y  $L^3$  es  $C_1$ - $C_6$  alquilenno.
- [142] En ciertas realizaciones de tales compuestos de Fórmula (I),  $R^1$  es  $-L^2R^6$ ;  $R^2$  es  $C_1$ - $C_6$  alquilo ;  $R^3$  es  $-OL^3R^5$  ó  $-OL^3R^7$ ;  $R^5$  es  $-P(O)(OR^9)_2$ ;  $R^6$  es  $-C(O)OR^{10}$ ;  $R^7$  es  $-CF_2P(O)(OR^9)_2$ ;  $L^2$  es  $C_1$ - $C_6$  alquilenno;  $L^3$  es  $-((CR^4R^4)_pO)_q(CH_2)_p$ ;  $R^4$  es H; q es 1 ó 2, y p es 2.
- [143] En ciertas realizaciones de tales compuestos de Fórmula (I),  $R^1$  es  $-C(R^5)_2OH$ ,  $-L^1R^5$ ,  $-L^2R^5$  ó  $-L^1R^6$ ;  $R^2$  es  $C_1$ - $C_6$  alquilo;  $R^3$  es  $-OR^8$ ;  $R^8$  es  $C_1$ - $C_6$  alquilo;  $R^5$  es  $-P(O)(OR^9)_2$ ;  $R^6$  es  $-CF_2P(O)(OR^9)_2$ ;  $L^1$  es  $-C(O)-$ , y  $L^2$  es  $C_1$ - $C_6$  alquilenno ó  $C_2$ - $C_6$  alquilenno, cada uno opcionalmente sustituidos con 1 a 4 grupos flúor.
- [144] En ciertas realizaciones de tales compuestos de Fórmula (I),  $R^1$  es  $C_1$ - $C_6$  alquilo;  $R^2$  es  $C_1$ - $C_6$  alquilo;  $R^3$  es  $-OL^3L^4R^5$   $-OL^3L^4$   $L^3R^5$ , ó  $-OL^3L^4$   $L^3R^7$ ;  $R^5$  es  $-P(O)(OR^9)_2$ ;  $R^7$  es  $-CF_2P(O)(OR^9)_2$ ; cada  $L^3$  es independientemente a  $C_1$ - $C_6$  alquilenno, y  $L^4$  es fenileno.
- [145] En ciertas realizaciones de tales compuestos de Fórmula (I),  $R^1$  es  $C_1$ - $C_6$  alquilo;  $R^2$  es  $C_1$ - $C_6$  alquilo;  $R^3$  es  $-C(R^5)_2OH$  ó  $-L^1R^5$ ;  $R^5$  es  $-P(O)(OR^9)_2$ , y  $L^1$  es  $-C(O)-$  ó  $-O-$ .
- [146] En ciertas realizaciones, de tales compuestos de Fórmula (I), y las sales farmacéuticamente aceptables, los solvatos farmacéuticamente aceptables (e.g., hidratos), los derivados de N-óxido, los derivados de profármacos, los derivados protegidos, los isómeros individuales y las mezclas de isómeros de los mismos,

000043

**Fórmula (I)**

$R^1$  es H,  $C_1$ - $C_6$  alquilo,  $-C(R^5)_2OH$ ,  $-L^1R^5$ ,  $-L^2R^5$ ,  $-L^2R^6$ ,  $-OL^2R^5$ , ó  $-OL^2R^6$ ;

$L^1$  es  $-C(O)-$  ó  $-O-$ ;

$L^2$  es  $C_1$ - $C_6$  alquilenos,  $C_2$ - $C_6$  alquenilenos, arilenos, heteroarilenos ó  $((CR^4R^4)_pO)_q(CH_2)_p-$ , en donde el  $C_1$ - $C_6$  alquilenos y el  $C_2$ - $C_6$  alquenilenos de  $L^2$  están opcionalmente sustituidos con 1 a 4 grupos flúor;

cada  $L^3$  es independientemente seleccionado de  $C_1$ - $C_6$  alquilenos y  $((CR^4R^4)_pO)_q(CH_2)_p-$ , en donde el  $C_1$ - $C_6$  alquilenos de  $L^3$  están opcionalmente sustituidos con 1 a 4 grupos flúor;

$L^4$  es arileno ó heteroarileno;

$R^2$  es H ó  $C_1$ - $C_6$  alquilo;

$R^3$  es seleccionado de  $-L^3R^5$ ,  $-L^1R^5$ ,  $-L^3R^7$ ,  $-L^3L^4L^3R^7$ ,  $-L^3L^4R^5$ ,  $-L^3L^4L^3R^5$ ,  $-OL^3R^5$ ,  $-OL^3R^7$ ,  $-OL^3L^4R^7$ ,  $-OL^3L^4L^3R^7$ ,  $-OR^8$ ,  $-OL^3L^4R^5$ ,  $-OL^3L^4L^3R^5$  y  $-C(R^5)_2OH$ ;

cada  $R^4$  es independientemente seleccionado de H y flúor;

$R^5$  es  $-P(O)(OH)_2$ ,

$R^6$  es  $-CF_2P(O)(OH)_2$  ó  $-C(O)OH$ ;

$R^7$  es  $-CF_2P(O)(OH)_2$  ó  $-C(O)OH$ ;

$R^8$  es H ó  $C_1$ - $C_4$  alquilo;

cada p es independientemente seleccionado de 1, 2, 3, 4, 5 y 6;

q es 1, 2, 3 ó 4,

000044

con la salvedad de que cuando  $R^3$  es  $-\text{OR}^8$ ,  $R^1$  es  $-\text{C}(\text{R}^5)_2\text{OH}$ ,  $-\text{L}^1\text{R}^5$ ,  $-\text{L}^1\text{R}^6$ ,  $-\text{L}^2\text{R}^5$ ,  $-\text{L}^2\text{R}^6$ ,  $-\text{OL}^2\text{R}^5$ , ó  $-\text{OL}^2\text{R}^6$ , en donde  $\text{R}^6$  es  $-\text{CF}_2\text{P}(\text{O})(\text{OH})_2$  y  $\text{R}^7$  es  $-\text{CF}_2\text{P}(\text{O})(\text{OH})_2$ .

[147] En ciertas realizaciones de tales compuestos de Fórmula (I),  $\text{R}^1$  es  $\text{C}_1\text{-C}_6$  alquilo;  $\text{R}^2$  es  $\text{C}_1\text{-C}_6$  alquilo;  $\text{R}^3$  es  $-\text{OL}^3\text{R}^5$  ó  $-\text{OL}^3\text{R}^7$ ;  $\text{R}^5$  es  $-\text{P}(\text{O})(\text{OH})_2$ ;  $\text{R}^7$  es  $-\text{CF}_2\text{P}(\text{O})(\text{OH})_2$ , y  $\text{L}^3$  es  $\text{C}_1\text{-C}_6$  alquilenos.

[148] En ciertas realizaciones de tales compuestos de Fórmula (I),  $\text{R}^1$  es  $\text{C}_1\text{-C}_6$  alquilo;  $\text{R}^2$  es  $\text{C}_1\text{-C}_6$  alquilo;  $\text{R}^3$  es  $-\text{OL}^3\text{R}^5$  ó  $-\text{OL}^3\text{R}^7$ ;  $\text{R}^5$  es  $-\text{P}(\text{O})(\text{OH})_2$ ;  $\text{R}^7$  es  $-\text{CF}_2\text{P}(\text{O})(\text{OH})_2$ ;  $\text{L}^3$  es  $-(\text{CR}^4\text{R}^4)_p\text{O}_q(\text{CH}_2)_p$ ;  $\text{R}^4$  es H; q es 1 ó 2, y p es 2.

[149] En ciertas realizaciones de tales compuestos de Fórmula (I),  $\text{R}^1$  es  $-\text{L}^2\text{R}^6$ ;  $\text{R}^2$  es  $\text{C}_1\text{-C}_6$  alquilo;  $\text{R}^3$  es  $-\text{OL}^3\text{R}^5$  ó  $-\text{OL}^3\text{R}^7$ ;  $\text{R}^5$  es  $-\text{P}(\text{O})(\text{OH})_2$ ;  $\text{R}^6$  es  $-\text{C}(\text{O})\text{OH}$ ;  $\text{R}^7$  es  $-\text{CF}_2\text{P}(\text{O})(\text{OH})_2$ ;  $\text{L}^2$  es  $\text{C}_1\text{-C}_6$  alquilenos, y  $\text{L}^3$  es  $\text{C}_1\text{-C}_6$  alquilenos.

[150] En ciertas realizaciones de tales compuestos de Fórmula (I),  $\text{R}^1$  es  $-\text{L}^2\text{R}^6$ ;  $\text{R}^2$  es  $\text{C}_1\text{-C}_6$  alquilo;  $\text{R}^3$  es  $-\text{OL}^3\text{R}^5$  ó  $-\text{OL}^3\text{R}^7$ ;  $\text{R}^5$  es  $-\text{P}(\text{O})(\text{OH})_2$ ;  $\text{R}^6$  es  $-\text{C}(\text{O})\text{OH}$ ;  $\text{R}^7$  es  $-\text{CF}_2\text{P}(\text{O})(\text{OH})_2$ ;  $\text{L}^2$  es  $\text{C}_1\text{-C}_6$  alquilenos;  $\text{L}^3$  es  $-(\text{CR}^4\text{R}^4)_p\text{O}_q(\text{CH}_2)_p$ ;  $\text{R}^4$  es H; q es 1 ó 2, y p es 2.

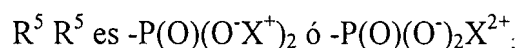
[151] En ciertas realizaciones de tales compuestos de Fórmula (I),  $\text{R}^1$  es  $-\text{C}(\text{R}^5)_2\text{OH}$ ,  $-\text{L}^1\text{R}^5$ ,  $-\text{L}^2\text{R}^5$  ó  $-\text{L}^1\text{R}^6$ ;  $\text{R}^2$  es  $\text{C}_1\text{-C}_6$  alquilo;  $\text{R}^3$  es  $-\text{OR}^8$ ;  $\text{R}^8$  es  $\text{C}_1\text{-C}_6$  alquilo;  $\text{R}^5$  es  $-\text{P}(\text{O})(\text{OH})_2$ ;  $\text{R}^6$  es  $-\text{CF}_2\text{P}(\text{O})(\text{OH})_2$ ;  $\text{L}^1$  es  $-\text{C}(\text{O})-$ , y  $\text{L}^2$  es  $\text{C}_1\text{-C}_6$  alquilenos ó  $\text{C}_2\text{-C}_6$  alquilenos, cada uno opcionalmente sustituido con 1 a 4 grupos flúor.

[152] En ciertas realizaciones de tales compuestos de Fórmula (I),  $\text{R}^1$  es  $\text{C}_1\text{-C}_6$  alquilo;  $\text{R}^2$  es  $\text{C}_1\text{-C}_6$  alquilo;  $\text{R}^3$  es  $-\text{OL}^3\text{L}^4\text{R}^5$   $-\text{OL}^3\text{L}^4$   $\text{L}^3\text{R}^5$ , ó  $-\text{OL}^3\text{L}^4$   $\text{L}^3\text{R}^7$ ;  $\text{R}^5$  es  $-\text{P}(\text{O})(\text{OH})_2$ ;  $\text{R}^7$  es  $-\text{CF}_2\text{P}(\text{O})(\text{OH})_2$ ; cada  $\text{L}^3$  es independientemente un  $\text{C}_1\text{-C}_6$  alquilenos, y  $\text{L}^4$  es fenileno.

[153] En ciertas realizaciones de tales compuestos de Fórmula (I),  $\text{R}^1$  es  $\text{C}_1\text{-C}_6$  alquilo;  $\text{R}^2$  es  $\text{C}_1\text{-C}_6$  alquilo;  $\text{R}^3$  es  $-\text{C}(\text{R}^5)_2\text{OH}$  ó  $-\text{L}^1\text{R}^5$ ;  $\text{R}^5$  es  $-\text{P}(\text{O})(\text{OH})_2$ , y  $\text{L}^1$  es  $-\text{C}(\text{O})-$  ó  $-\text{O}-$ .

[154] En ciertas realizaciones de los ya mencionados compuestos de Fórmula (I),  $\text{R}^8$  es metilo. En ciertas realizaciones de los ya mencionados compuestos de Fórmula (I),  $\text{R}^1$  es metilo. En ciertas realizaciones de los ya mencionados compuestos de Fórmula (I),  $\text{R}^2$  es metilo.

[155] En otras realizaciones de los compuesto de Fórmula (I),



000045

$R^6$  es  $-\text{CF}_2\text{P}(\text{O})(\text{O}^-\text{X}^+)_2$ ,  $-\text{CF}_2\text{P}(\text{O})(\text{O}^-)_2\text{X}^{2+}$  ó  $-\text{C}(\text{O})\text{O}^-\text{X}^+$ , y

$R^7$  es  $-\text{CF}_2\text{P}(\text{O})(\text{O}^-\text{X}^+)_2$ ,  $-\text{CF}_2\text{P}(\text{O})(\text{O}^-)_2\text{X}^{2+}$  ó  $-\text{C}(\text{O})\text{O}^-\text{X}^+$ ,

en donde  $\text{X}^+$  y  $\text{X}^{2+}$  son cationes farmacéuticamente aceptables. En ciertas realizaciones, tales cationes farmacéuticamente aceptables son seleccionados de entre: sodio, potasio, calcio, zinc y magnesio.

[156] En ciertas realizaciones de los compuesto de Fórmula (I),

$R^5$  es  $-\text{PO}_3^-\text{X}^{3+}$ ;

$R^6$  es  $-\text{CF}_2\text{PO}_3^-\text{X}^{3+}$ , y

$R^7$  es  $-\text{CF}_2\text{PO}_3^-\text{X}^{3+}$ ,

en donde  $\text{X}^{3+}$  es  $\text{Al}^{3+}$ .

[157] Los adyuvantes que contienen aluminio, tales como, sólo a manera de ejemplo, hidróxido de aluminio, oxihidróxido de aluminio e hidroxifosfato de aluminio, son usados en vacunas para unirse a antígenos. Una discusión sobre los adyuvantes que contienen aluminio y su uso en vacunas se da en *Expert Rev. Vaccines*, 46(5), **2007**, 685-698 y *Vaccines*, 25, **2007**, 6618-6624, cuyas divulgaciones se acompañan en el presente documento para su referencia en su totalidad.

[158] Los compuestos de Fórmula (I) proporcionados en el presente documento, son agonistas del TLR7, que se unen a los adyuvantes que contienen aluminio, tales como, sólo a modo de ejemplo, hidróxido de aluminio, oxihidróxido de aluminio e hidroxifosfato de aluminio. En ciertas realizaciones, tales compuestos de Fórmula (I) tienen un fosfato, ácido fosfónico, fosfonato, un ácido fosfónico fluorinado o un grupo fosfonato fluorinado, y uno o más grupos ionizables adicionales seleccionados de entre ácido carboxílico y sulfato.

[159] En ciertas realizaciones los compuesto de Fórmula (I), proporcionados en el presentedocumento, se combinan con un antígeno, un adyuvante que contienen aluminio, un vehículo opcional, un excipiente farmacéuticamente aceptable, para proporcionar una composición inmunogénica. En otras realizaciones, tales composiciones inmunogénicas comprenden un compuestos de Fórmula (I) y un antígeno, en donde el antígeno incluye, pero no está limitado a, un antígeno bacteriano, un antígeno viral, un antígeno de hongos, un antígeno tumoral, o un antígeno asociado con una ETS, Alzheimer's, desordenes

000046

respiratorios, desordenes autoinmunes tales como, sólo a manera de ejemplo, artritis reumatoidea o lupus; desordenes pediátricos y obesidad, y en donde la cantidad de compuesto es una cantidad efectiva para mejorar la respuesta inmune al antígeno en un sujeto a quien se administra la composición. Antígenos apropiados para su uso en tales composiciones inmunogénicas se describen en el presente documento.

[160] En ciertas realizaciones, tales composiciones inmunogénicas incluyen un antígeno bacteriano de la cepa *Neisseria meningitides*, tal como un serogrupo A, C, W135, Y y/o B. Antígenos específicos para su uso en estas composiciones, se describen en el presente documento. En otras realizaciones, tales composiciones inmunogénicas y otras proporcionadas en el presente documento, son usada como vacunas; su uso en el tratamiento de desordenes asociados con los antígenos incluidos en la composición, se describen en el presente documento.

[161] Los compuestos de Fórmula (I), sales farmacéuticamente aceptables, solvatos, N-óxidos, profármacos, e isómeros de los mismos y composiciones farmacéuticas proporcionadas en el presente documento; también incluyen todas las variaciones isotópicas apropiadas de tales compuestos y sales farmacéuticamente aceptables, solvatos, N-óxidos, profármacos, e isómeros de los mismos y composiciones farmacéuticas. Una variación isotópica de un compuesto, proporcionado en el presente documento o de una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, se define como una en que al menos un átomo es reemplazado por un átomo que tenga el mismo número atómico, pero una masa atómica diferente a la masa atómica con que usualmente se le encuentra en la naturaleza. Ejemplos de isotopos que pueden ser incorporados en los compuestos proporcionados en el presente documento o de una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, incluyen, pero no están limitados a, isotopos de hidrogeno, carbono, nitrógeno y oxígeno tales como,  $^2\text{H}$ ,  $^3\text{H}$ ,  $^{11}\text{C}$ ,  $^{13}\text{C}$ ,  $^{14}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}$ ,  $^{17}\text{O}$ ,  $^{18}\text{O}$ ,  $^{35}\text{S}$ ,  $^{18}\text{F}$ ,  $^{36}\text{Cl}$  y  $^{123}\text{I}$ . Ciertas variaciones isotópicas de compuestos, proporcionados en el presente documento o de sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, por ejemplo, aquellas en las cuales se ha incorporados un isotopo radiactivo como  $^3\text{H}$  ó  $^{14}\text{C}$ , son de utilidad en los estudios de distribución de fármacos y/o sustratos en tejidos. En ejemplos particulares, los isotopos  $^3\text{H}$  y  $^{14}\text{C}$  pueden ser usados por su fácil preparación y detectabilidad. En otros ejemplos, la sustitución con isotopos tales como  $^2\text{H}$  puede tener ciertas ventajas terapéuticas que resultan en una mayor estabilidad metabólica, como el incremento de la vida media *in vivo* o la reducción en los requerimientos de dosificación. Las variaciones isotópicas de compuestos y sales farmacéuticamente aceptables, solvatos, N-óxidos, profármacos, e isómeros de los mismos y composiciones farmacéuticas proporcionadas en el presente

documento; son preparadas mediante procedimiento convencionales usando las variaciones isotópicas apropiadas de los reactivos adecuados.

***Proceso para Preparar Compuestos de Fórmula (I)***

[162] Los procedimientos para preparar compuestos de Fórmula (I), son descritos en los Ejemplos, *infra*. En las reacciones descritas, cuando se desea que grupos funcionales reactivos estén presentes en el producto final, como por ejemplo grupos hidroxilo, amino, imino, tio o carboxi; se les puede proteger para evitar su participación indeseada en las reacciones. Se pueden usar grupos protectores convencionales de acuerdo a la práctica estándar (ver, *e.g.*, T.W. Greene y P. G. M. Wuts en "Protective Groups in Organic Chemistry," John Wiley y Sons, 1991).

[163] En ciertas realizaciones, los compuestos de Fórmula (I), proporcionados en el presente documento, son preparados como una sal de adición ácida farmacéuticamente aceptable, al hacer reaccionar la forma básica libre del compuesto de Fórmula (I) con un ácido orgánico o ácido inorgánico farmacéuticamente aceptable. En otras realizaciones, una sal de adición básica farmacéuticamente aceptable de los compuestos de Fórmula (I), proporcionados en el presente documento, son preparados al hacer reaccionar la forma ácida libre del compuesto de Fórmula (I) con una base orgánica o base inorgánica farmacéuticamente aceptable. De manera alternativa, las sales de los compuestos de Fórmula (I), proporcionados en el presente documento, son preparados usando sales de las materias primas o de los productos intermedios. En ciertas realizaciones, los compuestos de Fórmula (I), proporcionados en el presente documento, están en forma de otras sales incluyendo, pero no limitadas a, oxalatos y trifluoroacetatos. En ciertas realizaciones, se forman hemisales de ácidos y bases, por ejemplo, sales de hemisulfato y hemicalcio.

[164] Tales sales de adición ácida farmacéuticamente aceptables de los compuestos de Fórmula (I) incluyen, pero no están limitadas a, sales de hidrobromuro, clorhidrato, sulfato, nitrato, succinato, maleato, formato, acetato, adipato, besilato, bicarbonato/carbonato, propionato, fumarato, citrato, tartrato, lactato, benzoato, salicilato, glutamato, aspartato, p-toluensulfonato, bencensulfonato, metansulfonato, etansulfonato, naftalensulfonato (*e.g.* 2-naftalensulfonato), sal de hexanoato, bisulfato/sulfato, borato, camsilato, ciclamato, edisilato, esilato, gluceptato, gluconato, glucuronato, hexafluorofosfato, hibenzoato, hidrocloruro/cloruro, hidrobromuro/bromuro, hidroyoduro/yoduro, isetionato, lactato, malato, malonato, mesilato, metilsulfato, naftilato, 2-napsilato, nicotinato, orotato, oxalato, palmitato,

000048

pamoato, fosfato/ fosfato de hidrógeno/dihidrogenfosfato, piroglutamato, sacarato, estearato, tanato, tosilato, trifluoroacetato y xinofoato.

[165] Los ácidos orgánicos o inorgánicos usados para formar ciertas sales de adición ácidas farmacéuticamente aceptable de los compuestos de Fórmula (I) incluyen, pero no están limitados a, ácidos hidrobromico, hidroclicrico, sulfúrico, nítrico, fosfórico, succínico, maleico, fórmico, acético, propiónico, fumárico, cítrico, tartárico, láctico, benzoico, salicílico, glutámico, aspártico, p-toluensulfónico, bencensulfónico, metanosulfónico, etanosulfónico, naftalensulfónico tal como 2- naftalensulfónico, o hexanoico.

[166] Tales sales de adición básicas farmacéuticamente aceptable de los compuestos de Fórmula (I) incluyen, pero no están limitados a, sales de aluminio, arginina, benzatina, calcio, colina, dietilamina, diolamina, glicina, lisina, magnesio, meglumina, olamina, potasio, sodio, trometamina y zinc.

[167] En ciertas realizaciones, los compuestos de Fórmula (I) en forma de ácido libre o base libre, proporcionados en el presente documento, son preparados a partir de la correspondiente sal de adición ácida o sal de adición básica, respectivamente. Por ejemplo, un compuesto de Fórmula (I) en forma de una sal de adición ácida es convertido en su correspondiente base libre al tratarlo con una base apropiada (sólo a manera de ejemplo, una solución de hidróxido de amonio, un hidróxido de sodio, o similares). Por ejemplo, un compuesto de Fórmula (I) en forma de una sal de adición básica es convertido en su correspondiente ácido libre al tratarlo con un ácido apropiado (sólo a manera de ejemplo, ácido clorhídrico).

[168] En ciertas realizaciones, compuestos de Fórmula (I) en forma no oxidada son preparados a partir de N-óxidos de compuestos de Fórmula (I), al tratarlos con un agente reductor (sólo a manera de ejemplo, azufre, dióxido de azufre, trifenilfosfina, borohidruro de litio, borohidruro de sodio, tricloruro de fósforo, tribromuro, o similares) en una solvente orgánico inerte apropiado (sólo a manera de ejemplo, acetonitrilo, etanol, dioxano acuosos, o similares) a temperaturas desde 0 a 80°C.

[169] En ciertas realizaciones, los derivados de profármacos de los compuestos de Fórmula (I) son preparados usando métodos conocidos por aquellos con conocimientos comunes en la materia (e.g., para mayores detalles verSaulnier et al., (1994), Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters, Vol. 4, p. 1985). Por ejemplo, profármacos apropiados son preparados haciendo reaccionar un compuesto no derivatizado de Fórmula (I) con un agente de carbamitación apropiado (sólo a manera de ejemplo, 1,1-aciloxialquilcarbanocloridrato, para-nitrofenil carbonato, o similares).

000049

- [170] En ciertas realizaciones, compuestos de Fórmula (I) son preparados como derivados protegidos usando métodos conocidos por aquellos con conocimientos comunes en la materia. Una descripción detallada de las técnicas aplicables para la creación de grupos protectores y su eliminación; puede encontrarse en T. W. Greene, "Protecting Groups in Organic Chemistry," 3<sup>rd</sup> edition, John Wiley y Sons, Inc., 1999.
- [171] En ciertas realizaciones, compuestos de Fórmula (I) son preparados o formados, como solvatos (e.g., hidratos). En ciertas realizaciones, hidratos de compuestos de Fórmula (I) son preparados mediante recristalización a partir de una mezcla de solvente acuso/orgánico, usando solventes orgánicos como dioxina, tetrahidrofurano o metanol.
- [172] En ciertas realizaciones, compuestos de Fórmula (I) son preparados como sus estereoisómeros individuales. En otras realizaciones, los compuestos de Fórmula (I), proporcionados en el presente documento, son preparados como sus estereoisómeros individuales haciendo reaccionar una mezcla racémica del compuesto con un agente de separación ópticamente activo para formar un par de compuestos diastereoisoméricos, separando los diastereoisómeros y recuperando los enantiómeros ópticamente puros. En ciertas realizaciones, la separación de los enantiómeros es llevada a cabo usando derivados diastereoméricos covalentes de los compuestos de Fórmula (I), o usando complejos disociables (e.g., sales diastereoméricas cristalinas). Los diastereómeros tienen propiedades físicas distintas (e.g., puntos de fusión, puntos de ebullición, solubilidad, reactividad, etc.) y son fácilmente separados tomando ventaja de éstas diferencias. En ciertas realizaciones, los diastereómeros son separados mediante cromatografía, o mediante técnicas de separación/resolución basadas en sus diferencias de solubilidad. Entonces es recuperado el enantiómero ópticamente puro junto con el agente de separación, por cualquier medio práctico que no produzca racemización. Una descripción más detallada de las técnicas aplicables para la separación de estereoisómeros de compuestos a partir de su mezcla racémica, puede encontrarse en Jean Jacques, Andre Collet, Samuel H. Wilen, "Enantiomers, Racemates and Resolutions," John Wiley And Sons, Inc., 1981.
- [173] Compuestos de Fórmula (I) son preparados mediante procesos descritos en el presente documento y como se ilustra en los Ejemplos. En ciertas realizaciones compuestos de Fórmula (I) son preparados mediante:

(a) opcionalmente convertir un compuesto de Fórmula (I) en una sal farmacéuticamente aceptable;

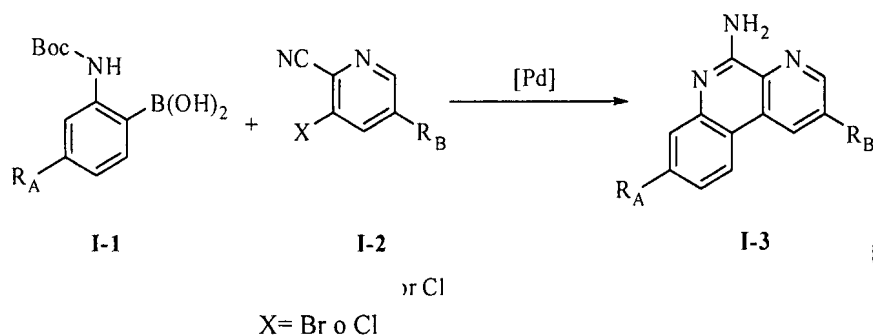
000050

- (b) opcionalmente convertir un compuesto de Fórmula (I) en su forma de sal en una forma en que no sea una sal;
- (c) opcionalmente convertir una forma no oxidada de un compuesto de Fórmula (I) en un N-óxido farmacéuticamente aceptable;
- (d) opcionalmente convertir un compuesto de Fórmula (I) en su forma de N-óxido en su forma no oxidada;
- (e) opcionalmente separar un isómero individual de un compuesto de Fórmula (I) de la mezcla de isómeros.
- (f) opcionalmente convertir un compuesto de Fórmula (I) no derivatizado en un derivado de profármaco farmacéuticamente aceptable; y
- (g) opcionalmente convertir un derivado de profármaco de un compuesto de Fórmula (I) en su forma no derivatizada.

[174] Ejemplos no limitantes de esquemas de síntesis usados para preparar compuestos de Fórmula (I), que se proporcionan en el presente documento, son ilustrados en los esquemas de reacción (I)-(XI).

[175] El esquema (I) ilustra la síntesis benzonafiridinas (I-3) por acoplamiento de ácidos de 2-(*tert*-butoxi-carbonil-amino)fenilborónico (I-1) con derivados de 3-halopicolinonitrilo (I-2) en presencia de catalizador de paladio. Sólo a manera de ejemplo, el grupo funcional halo de los derivados de 3-halopicolinonitrilo es bromo o cloro. Los grupos  $R_A$  y  $R_B$  en las benzonafiridinas (I-3), como se describen en el presente documento, son reemplazados por sustituyentes de la Fórmula (I) en sus posiciones respectivas, o  $R_A$  y  $R_B$  son grupos que son adicionalmente modificados para obtener el respectivo sustituyente de la Fórmula (I), como se describe en el presente documento.

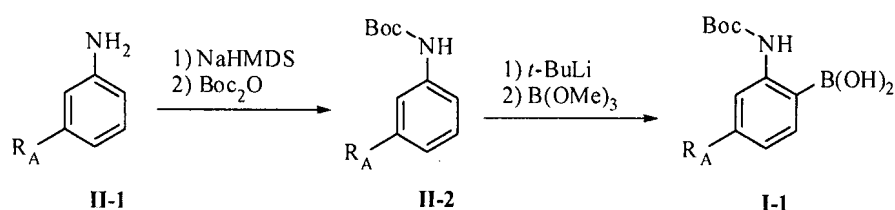
**Esquema (A)**



000051

[176] En ciertas realizaciones, los ácidos fenilborónicos usados en la síntesis de los compuestos de Fórmula (I), fueron sintetizados de acuerdo al esquema (II). En el esquema (II) la anilina está protegida por un grupo Boc bajo condiciones ácidas para producir (II-2), y luego es convertida en ácidos borónicos (I-1) mediante orto-litaci3n y reacci3n con trimetilborato, seguida por un tratamiento acuso.

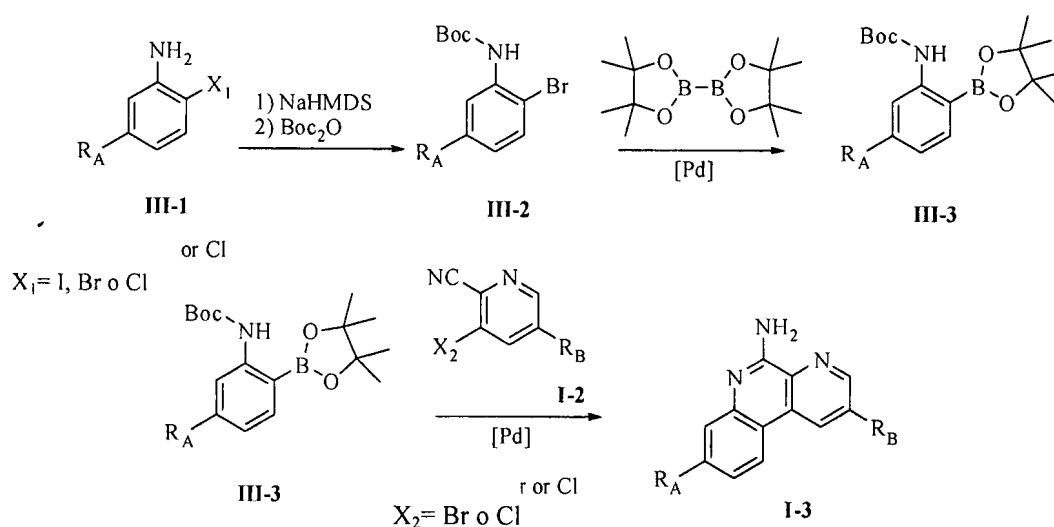
*Esquema (B)*



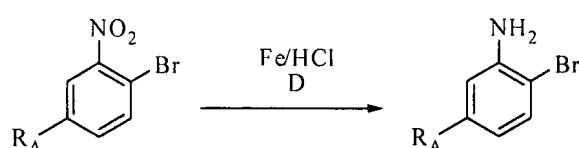
[177] Los ácidos b3ricos (I-1) son usados en esquema (I) y reaccionan con cianopiridinas (I-2) para producir benzonaftiridinas (I-3).

[178] En ciertas realizaciones, equivalentes de ácidos bor3nicos que incluyen, pero no est3n limitados a, 3steres de boronato, fueron usados en la s3ntesis de compuestos de F3rmula (I). El esquema (III) ilustra la s3ntesis de tales 3steres de boronato(III-3), los que son usados como equivalentes de ácidos bor3nicos en la s3ntesis de benzonaftiridinas(I-3). En el esquema (III) 2-haloanilinas (III-1) fueron protegidas por grupos Boc bajo condiciones ácidas para producir (III-2), los cuales fueron luego convertidas en 3steres de boronato (III-3) usando catálisis mediada por paladio. Estos 3steres de boronato (III-3) fueron usados en el esquema (I) y reaccionaron con cianopiridinas (I-2) para producir benzonaftiridinas (I-3) sustituidas o no sustituidas.

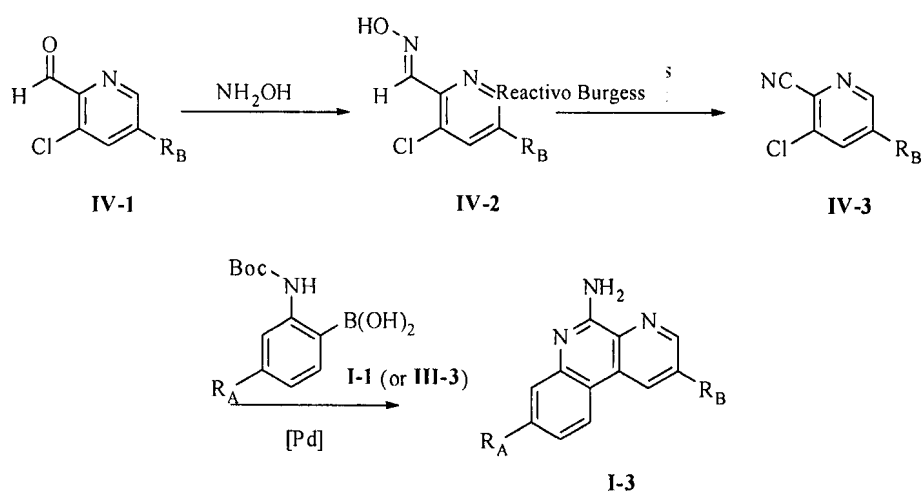
000052

*Esquema (C)*

[179] En ciertas realizaciones, las 2-bromoanilinas usadas como en el esquema (III) fueron sintetizadas a partir de sus correspondientes compuestos con nitrobenzeno, como se ilustra a continuación:



[180] En otras realizaciones, compuestos de de Fórmula (I) fueron sintetizados usando la metodologías descritas en el esquema (IV).

*Esquema (D)*

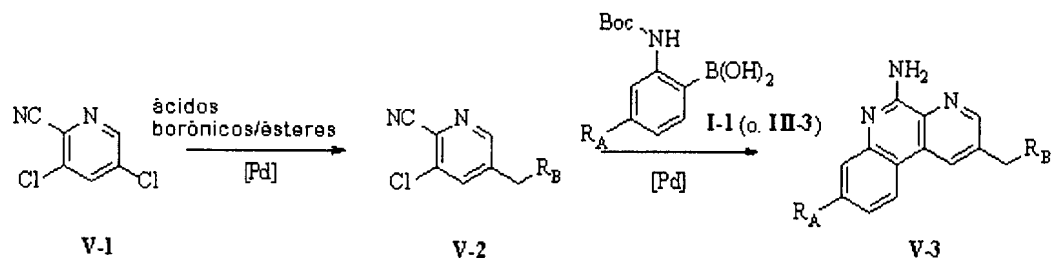
[181] En el esquema (IV), 3-clobenzaldehido (IV-1) es primero convertido en la hidroxilamina correspondiente (IV-2). La cual es luego usada para producir el nitrilo correspondiente (IV-3). Usando condiciones mediadas por paladio, como en el esquema (I), derivados de nitrilo

000053

(IV-3) son acoplados con ácidos borónicos (II) (ó ésteres de boronato (III-3)) para producir benzonaftiridino (I-3).

[182] En otras realizaciones, ciertos compuestos de Fórmula (I) que tienen sustituyentes unidos a carbono, incluyendo benzonaftiridinas con varios sustituyentes unidos a carbono en la posición 2, fueron preparados usando la vía de síntesis mostradas en el esquema (V).

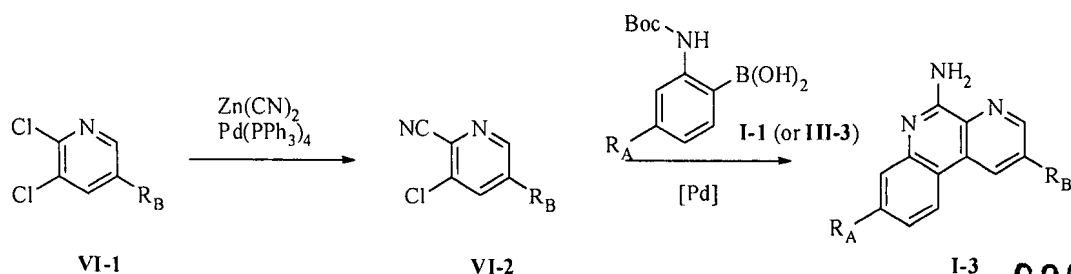
*Esquema (E)*



[183] En el esquema (V), un 3,5-dihalopiconitrilo, tal como, sólo a manera de ejemplo, 3,5-dicloropiconitrilo (V-1), es primero monosustituido usando un equivalente de ácido/éster borónico, lo que permite producir el correspondiente piconitrilo (V-2). Usando condiciones mediadas por paladio más vigorosas, como en el esquema (I), derivados de nitrilo (V-2) son acoplados con ácidos borónicos (I-1) (ó ésteres de boronato (II-3)) para producir benzonaftiridina (V-3) que tiene sustituyentes unidos a carbono en la posición 2. En ciertas realizaciones, el sustituyente unido a carbono es un alqueno, mientras que en otras realizaciones tales alquenos son adicionalmente modificados mediante hidrogenación para producir benzonaftiridinas con grupos alquilo en la posición 2.

[184] En otras realizaciones, ciertos compuestos de de Fórmula (I) que tienen varios sustituyentes, incluyendo benzonaftiridinas con varios sustituyentes en la posición 2, fueron sintetizados usando las metodologías descritas en el esquema (VI)

*Esquema (F)*

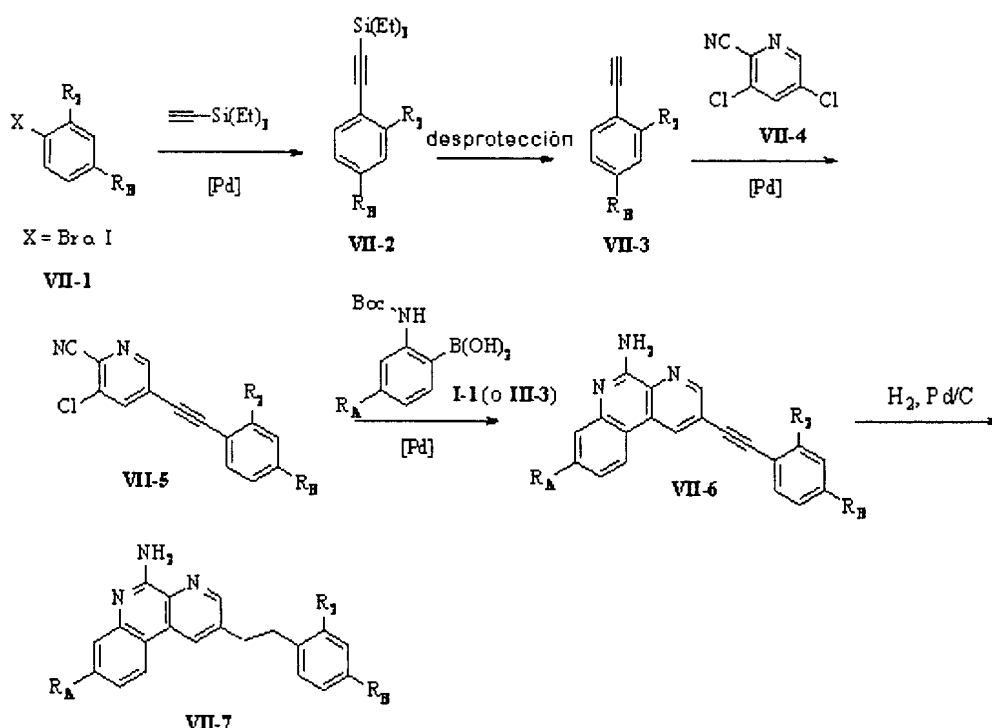


000054

[185] En el esquema (VI), una 2,3-dihalopiridina sustituida en la posición 5 (VI-1), tal como, sólo a manera de ejemplo, (5,6-dicloropiridin-3-il)metanol, es primero convertida en el nitrilo correspondiente (VI-2). Usando condiciones mediadas por paladio como en el esquema (I), derivados de nitrilo (VI-2) son acoplados con ácidos borónicos (I-1) (ó ésteres de boronato (II-3)) para producir benzonaftiridina (I-3).

[186] En otras realizaciones, ciertos compuestos de Fórmula (I) fueron sintetizados usando las metodologías descritas en el esquema (VII).

*Esquema (G)*



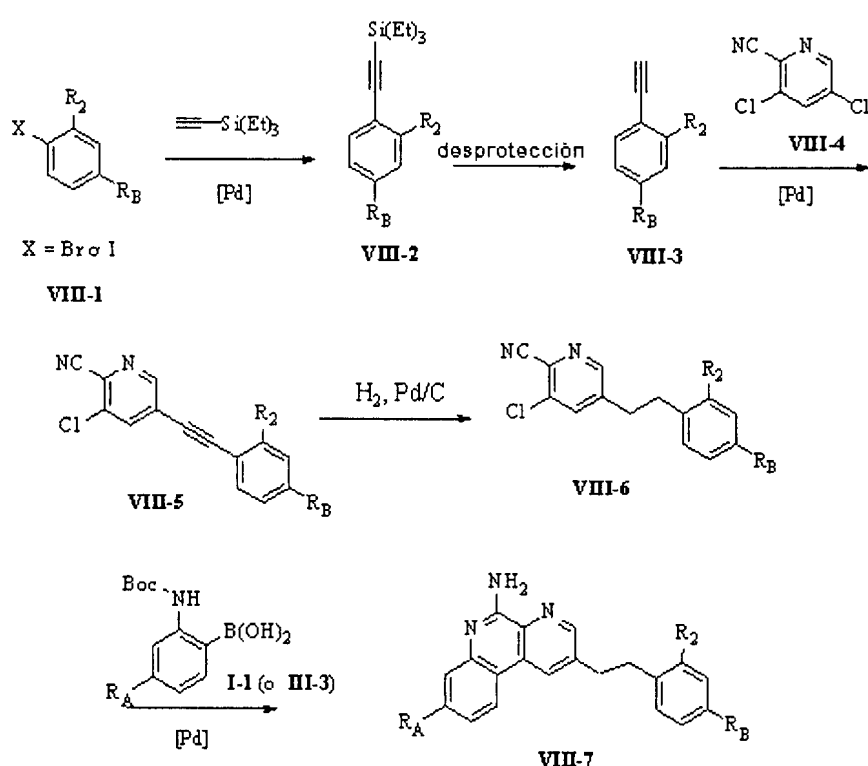
[187] En el esquema (VII) bromuros de arilo o yoduros de arilo (VII-1) son acoplados con trietil(etinil)silano (o sus equivalentes) usando condiciones mediadas por paladio para producir (VII-2). Después de la desprotección del grupo de protección sililo, los derivados de acetileno (VII-3) son acoplados con 3,5-dicloropiconitrilo (VII-4) usando condiciones mediadas por paladio para producir 3-cloro-2-cianopiridinas (VII-5). Derivados de (VII-5) tales como, pero sólo a manera de ejemplo, 3-cloro-5-(feniletinil)piconitrilo son acoplado con ácidos borónicos (I-1) (ó ésteres de boronato (II-3)) para producir benzonaftiridina (VII-6). El compuesto (VII-6) es entonces sometido a condiciones de hidrogenación para producir benzonaftiridinas (VII-7). El grupo funcional  $\text{R}^2$  es descrito en el presente documento y los grupos  $\text{R}_A$  y  $\text{R}_B$  en las benzonaftiridinas (VII-7) son descritos en el presente documento como sustituyentes de la Fórmula (I) en sus posiciones respectivas, o  $\text{R}_A$  y  $\text{R}_B$  son grupos que son

000055

adicionalmente modificados para obtener el respectivo sustituyente de la Fórmula (I), como se describe en el presente documento.

[188] En otras realizaciones, ciertos compuestos de Fórmula (I) fueron sintetizados usando las metodologías descritas en el esquema (VIII).

**Esquema (H)**

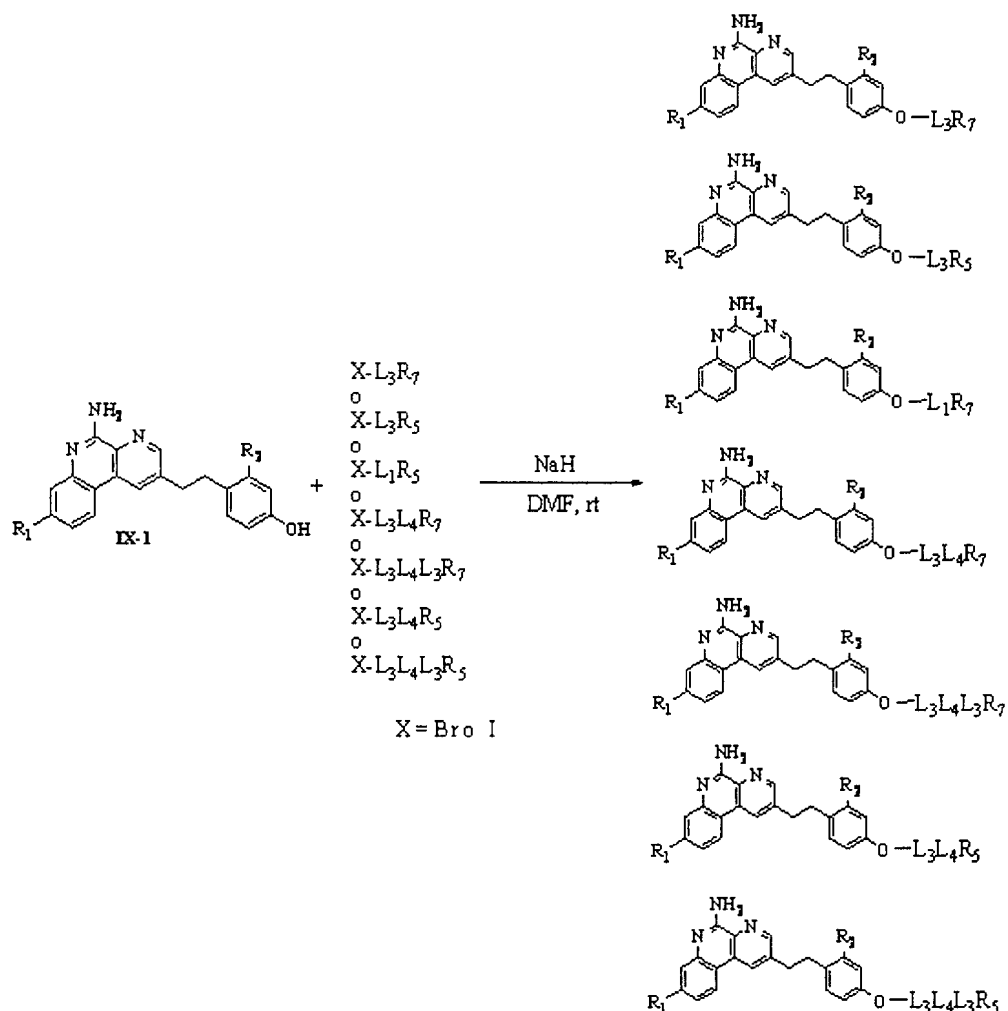


[189] En el esquema (VIII) bromuros de arilo o yoduros de arilo (VII-1) son acoplados con trietil(etinil)silano (o sus equivalentes) usando condiciones mediadas por paladio para producir (VIII-2). Después de la desprotección del grupo de protección sililo, los derivados de acetileno (VIII-3) son acoplados con 3,5-dicloropiconitrilo (VIII-4) usando condiciones mediadas por paladio para producir 3-cloro-2-cianopiridinas (VIII-5). Derivados de (VIII-5) tales como, pero sólo a manera de ejemplo, 3-cloro-5-(feniletinil)piconitrilo son reducidos al correspondiente 3-cloro-5-(feniletil)piconitrilo (VIII-6) bajo condiciones de hidrogenación. El compuesto (VIII-6) es acoplado con ácidos borónicos (I-1) (ó ésteres de boronato (II-3)) para producir benzonafitridina (VIII-7). El grupo funcional  $\text{R}^2$  es descrito en el presente documento y los grupos  $\text{R}_A$  y  $\text{R}_B$  en las benzonafitridinas (VII-7) son descritos en el presente documento como sustituyentes de la Fórmula (I) en sus posiciones respectivas, o  $\text{R}_A$  y  $\text{R}_B$  son grupos que son adicionalmente modificados para obtener el respectivo sustituyente de la Fórmula (I), como se describe en el presente documento.

000056

[190] En otras realizaciones, ciertos compuestos de Fórmula (I) fueron sintetizados usando las metodologías descritas en el esquema (IX).

*Esquema (I)*



[191] En el esquema (IX), el compuesto (IX-1) que tiene un grupo fenol, es alquilado con distintos electrófilos, donde  $R^1$ ,  $R^2$ ,  $L^1$ ,  $L^3$ ,  $L^4$ ,  $R^5$  y  $R^7$  son definidos en el presente documento. En ciertos ejemplos, análogos que contienen apéndices alcoxi en la posición del fenol fueron preparados como se ejemplifica en el Esquema I, en donde un compuesto que tiene un grupo fenol, fue alquilado con un electrófilo conteniendo fosfonato para producir un fosfonato protegido, el cual fue tratado con un agente desprotector apropiado para producir el ácido fosfónico.

[192] Los ejemplos proporcionados en el presente documento, se ofrecen para ilustrar, pero no para limitar a los compuestos de Fórmula (I) proporcionados en el presente documento, y la preparación de tales compuestos. Sólo a manera de ejemplo, ciertos compuestos de Fórmula (I) que contienen apéndices de ácido carboxílico en la posición C-8 fueron preparados como se ejemplifica en el Esquema 2.

000357

- [193] Sólo a manera de ejemplo, ciertos compuestos de Fórmula (I) con apéndices de ácido  $\alpha,\alpha'$ -difluoro fosfónico en la posición C-8 fueron preparados como se ejemplifica en el Esquema 3, en donde un alcohol primario fue oxidado a aldehído y la alquilación de éste aldehído con el reactivo tipo fosfonato apropiado produjo fosfonato. De manera adicional, la oxidación de alcohol bencílico produjo un grupo funcional ceto y la hidrólisis final produjo el derivado final de ácido fosfónico.
- [194] Sólo a manera de ejemplo, ciertos compuestos de Fórmula (I) con apéndices de ácido fosfónico en la posición C-8 fueron preparados como se muestra en el Esquema 4, en donde un aldehído fue tratado con el reactivo de Witting para producir fosfonatos vinílicos. La hidrólisis de fosfonatos con, sólo a manera de ejemplo, bromuro de trimetilsililo produce un ácido fosfónico. De manera alternativa, la hidrogenación del grupo funcional vinilo produjo un alquilo unido a fosfonato, el cual fue hidrolizado para producir un alquilo unido a ácido fosfónico.
- [195] Sólo a manera de ejemplo, ciertos compuestos de Fórmula (I) que contienen grupos de fosfato de arilo fueron preparados de acuerdo al Esquema 5, en donde un compuesto que tiene un grupo fenol fue tratado con 2-(bromoetil)-3-idobenceno y carbonato de cesio resultando en un compuesto intermedio el que fue sometido a acoplamiento cruzado con trietilfosfoato, reacción catalizada con paladio, y seguida por hidrólisis con bromuro de trimetilsililo lo que produjo un compuesto con ácido fosfónico.
- [196] Sólo a manera de ejemplo, ciertos compuestos de Fórmula (I) que contienen apéndices de ácido  $\alpha$ -ceto fosfónico en la posición C-8 son preparados como se ejemplifica en el Esquema 6, en donde el tratamiento de un aldehído con tris(trimetilsilil)fosfita seguido de la oxidación con IBX, resultó en la producción de ácido fosfónico.

### ***Farmacología y Utilidad***

- [197] Cuando un antígeno extraño desafía el sistema inmune, éste responde generando una respuesta protectora que se caracteriza por la interacción coordinada de los sistemas inmunes innato y adquirido. Estos dos sistemas interdependientes cumplen con dos requerimientos mutuamente excluyentes: rapidez (a la que contribuye el sistema de inmunidad innato) y especificidad (a la que contribuye el sistema de inmunidad adaptativo).
- [198] El sistema inmune innato sirve como primera línea de defensa en contra de los patógenos invasores, conteniendo al patógeno mientras madura la respuesta adaptativa. Se desencadena a sólo minutos de detectada la infección de una manera independiente de los antígenos,

000058

respondiendo a patrones ampliamente conservados en los patógenos (aunque no es específica, puede distinguir entre el individuo y los agentes patógenos). De manera decisiva, también genera un medio ambiente inflamatorio y co-estimulador (algunas veces llamada señal de alerta) que potencia al sistema inmune adaptativo y que lo dirige (o lo polariza) a generar las respuestas celulares o humorales más apropiadas para combatir al agente infeccioso. Se ha estudiado el desarrollo de los moduladores TLR para la orientación terapéutica de la inmunidad innata (ver Nature Medicine, 2007, 13, 552-559; Drug Discovery Today: Therapeutic Strategies, 2006, 3, 343-352 y Journal of Immunology, 2005, 174, 1259-1268).

[199] La respuesta adaptativa se vuelve efectiva después de días o semanas, pero a la larga proporciona la especificidad antigénica fina requerida para la eliminación completa del patógeno y la generación de memoria inmunológica. Está mediada principalmente por células T y células B, que han sido objeto de reordenamiento génico de su línea germinal y se caracterizan por su especificidad y su memoria a largo plazo. Sin embargo, también involucra el reclutar elementos del sistema inmune innato, incluyendo fagocitos especializados (macrófagos, neutrófilos, etc.) y granulocitos (basófilos, eosinófilos, etc.) que envuelven a las bacterias e incluso a parásitos protozoos relativamente grandes. Una vez que la respuesta inmune adaptativa ha madurado, la subsecuente exposición al patógeno resulta en su rápida eliminación, debido a que se han generado células de memoria altamente específicas que se activan rápidamente tras una subsecuente exposición a su antígeno afín (“cognate”).

[200] Las enfermedades autoinmunes, se definen por (i) la respuesta humoral o de autoanticuerpos a antígenos propios (sólo a manera de ejemplo, el hipertiroidismo primario de Graves con anticuerpos contra el receptor TSH), o (ii) la respuesta celular en donde las células inmunes destruyen células no inmunes de las cuales se ha derivado el autoantígeno (sólo a manera de ejemplo, el tirocito (tiroiditis de Hashimoto) o las células  $\beta$  del páncreas localizadas en los islotes de Langerhans (diabetes Tipo I). muchas enfermedades autoinmunes son una combinación de ambos fenómenos, por ejemplo, la tiroiditis de Hashimoto y la diabetes Tipo I también presentan autoanticuerpos, la anti-yoduro peroxidasa (TPO) o la anti-glutamato descarboxilasa (GAD)/célula islote. Las enfermedades autoinmunes a menudo tienen un componente inflamatorio que incluye, pero no está limitado a, un aumento en las moléculas de adhesión (sólo a manera de ejemplo, molécula de adhesión celular vascular-1 (VCAM-1)), y una adhesión alterada de los leucocitos a la vasculatura, tal como, sólo a manera de ejemplo, en la colitis, lupus sistémico, esclerosis sistémica, y las complicaciones vasculares de la diabetes.

000052

[201] Los receptores tipo Toll (TLRs) son proteínas de transmembrana de tipo I caracterizadas por un dominio rico de repetición de leucina (LRR, siglas en inglés de *leucine rich repeatdomain*) N-terminal extracelular, seguido por una región rica en cisteína, un dominio TM, y una cola intracelular (citoplasmática) que contiene una región conservada denominada dominio del receptor (TIR) Toll/IL-1. Los TLRs son receptores de reconocimiento de patrones (PRR) que se expresan predominantemente en células inmunes, incluyendo, pero no limitadas a, linfocitos T, macrófagos, monocitos y células “natural killer”. El dominio LRR es importante para la unión a ligando y la señalización asociada, y es una característica común de los PRRs. El dominio TIR es importante en las interacciones entre proteínas y está asociado a la inmunidad innata. El dominio TIR también reúne una más grande superfamilia de IL-1R/TLR que está compuesta por tres subgrupos. Los miembros del primer grupo poseen dominios de inmunoglobulina en sus regiones extracelulares e incluye receptores IL-1 e IL-18 y proteínas accesorias como ST2. El segundo grupo abarca los TLRs. El tercer grupo incluye proteínas de adaptación intracelulares importantes en la señalización.

[202] Los TLRs son un grupo de receptores de reconocimiento de patrones que se unen a patrones moleculares asociados a patógenos (PAMPS) de bacterias, hongos, protozoos y virus; y actúan como primera línea de defensa contra los patógenos invasores. Los TLRs son esenciales para inducir la expresión de genes involucrados en las respuestas inflamatorias, y los TLRs y el sistema inmune innato son un paso crítico en el desarrollo de la inmunidad antígeno específica adquirida.

[203] La inmunidad adaptativa (humoral o mediada por células) está asociada con el mecanismo de señalización de los TLR de la inmunidad innata. La inmunidad innata es una respuesta celular inmune protectora que se genera rápidamente para combatir las agresiones ambientales incluyendo, pero no limitadas a, agentes bacterianos y virales. La inmunidad adaptativa tiene una respuesta más lenta, que involucra la diferenciación y activación de linfocitos T naive en 2 tipos de linfocitos cooperadores T1 (Th1, sigla del inglés, *T helper cell 1*) o T2 (Th2). Los linfocitos Th1 principalmente promueven la inmunidad celular, mientras que los linfocitos Th2 principalmente promueven la inmunidad humoral. Primariamente a través de un sistema de protección al huésped, la expresión patológica de las señales de inmunidad innata generadas vía TLR están implicadas en el inicio de enfermedades inflamatorias autoinmunes.

[204] Todos los TLRs parecen funcionar ya sea como homodímeros o heterodímeros en el proceso de reconocimiento de determinantes moleculares específicos o un conjunto de determinantes moleculares específicos presentes en los organismos patógenos, incluyendo

lipopolisacáridos de superficie bacterianos, lipoproteínas, flagelina bacteriana, DNA tanto de bacterias como de virus y RNA viral. La respuesta celular a la activación de TLR involucra la activación de uno o más factores de transcripción, lo que conduce a la producción y secreción de citoquinas y moléculas coestimuladoras, tales como interferones, TNF-, interleuquinas, MIP-1 y MCP-1; los cuales contribuyen a la muerte y eliminación de la invasión patogénica.

[205] La expresión espacial de los TLR es coincidente con la interface medioambiental del huésped. Mientras que sólo unas pocas distintas proteínas tipo Toll han sido clonadas en *Drosophila*, la familia de TLR humanos está compuesta de al menos 11 miembros. Desde el TLR1 hasta el TLR 11, que provocan respuestas superpuestas pero biológicamente distintas debido a diferencias en su expresión celular y en la cascada de señales que ellas inician. Cada uno de los TLRs está expresado en un subconjunto diferente de leucocitos y cada uno de los TLRs es específico en su patrón de expresión y sensibilidad a los PAMPS; y detecta diferentes subconjuntos de patógenos, lo que permite una atenta supervisión del sistema inmune.

#### Receptor tipo Toll 1 (TLR1)

[206] El TLR1 se asigna al cromosoma 4p14 y su secuencia codifica una proteína putativa de 786 aminoácidos (aa) con 18 LRRs en el extremo N-terminal y un peso molecular calculado de 84 kDa. El TLR1 está más estrechamente relacionado con los receptores TLR6 y TLR10 con una identidad de secuencia 68% y 48% de (aa) total, respectivamente.

[207] El RNAm del TLR1 se expresa ubicuamente y se encuentra en niveles más altos que en otros TLRs. De las principales poblaciones de leucocitos, el TLR1 es más expresado por monocitos, pero también es expresado por macrófagos, células dendríticas, leucocitos polimorfonucleares, linfocitos B, T, y NK (del inglés natural killer). *In vivo*, se observan dos transcritos de TLR1 de diferente tamaño, lo que sugiere que el RNAm es alternativamente cortado para generar dos formas diferentes de la proteína. *In vitro*, el RNAm del TLR1 y la expresión de la proteína está regulada por incremento ("up regulated") en las células de leucemia monocítica (THP-1) tras diferenciación inducida por PMA. El TLR1 está sobreexpresado por IL-6 autocrina, y también está elevada por el IFN- $\gamma$ , IL-10 y TNF- $\alpha$ . Sin embargo, Los niveles de TLR1 no se ven afectados por exposición ni a bacterias Gram-positivas ni Gram-negativas. *Ex vivo*, el TLR1 se encuentra regulado por decremento ("down regulated") en monocitos y granulocitos después de exposición a bacterias Gram-negativas. El TLR1 forma un heterodímero con TLR2, también se heterodimeriza con TLR4, lo cual inhibe la actividad del TLR4.

000061

Receptor tipo Toll 2 (TLR2)

- [208] El TLR2 se asigna al cromosoma 4q31-32 y su secuencia codifica una proteína putativa de 784 aminoácidos (aa) con 19 LRRs en el extremo N-terminal y un peso molecular calculado de 84 kDa. El TLR2 está más estrechamente relacionado con el receptor TLR6 con una identidad de secuencia 31% de (aa) total.
- [209] La expresión del RNAm del TLR2 se observa en los tejidos del cerebro, corazón, pulmones y bazo y su mayor nivel se encuentra en los PBLs, específicamente aquellos de origen mielomonocítico. *In vivo*, se observan dos transcritos de TLR2 de diferente tamaño, lo que sugiere que el RNAm es alternativamente cortado. *In vitro*, el RNAm del TLR2 y la expresión de la proteína está regulada por incremento en las células de leucemia monocítica (THP-1) tras diferenciación inducida por PMA. El TLR2 está regulada por incremento por IL-6 autocrina, y también está elevada por el TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , y IL-10. La expresión del RNAm del TLR2 se encuentra elevada después de su exposición tanto a bacterias Gram-positivas como Gram-negativas. El TLR2 forma heterodímeros con TLR1, TLR6, y posiblemente con TLR10, en donde cada complejo es particularmente sensible a los subconjuntos de PAMPs asociados con TLR2. Los complejos de TLR2 reconocen una amplia gama de PAMPs, principalmente de bacteria. Estos incluyen, pero no están limitados a, lipoarabinomano (LAM), lipopolisacárido (LPS), ácido lipoteicoico (LTA), peptidoglicano (PGN), y otros glicolípidos, glicoproteínas, y lipoproteínas. Los complejos de TLR2 son capaces de detectar virus, incluyendo, pero no limitados a, virus del sarampión (MV, por su sigla en inglés, *Measles Virus*), citomegalovirus humano (HCMV, por su sigla en inglés, *human cytomegalovirus*) y virus de la hepatitis C (VHC) y PAMPs de hongos, incluyendo, pero no limitados a, zimosano. El TLR2 reconoce una variedad de lipoproteínas/lipopéptidos de varios patógenos tales como, sólo a manera de ejemplo, bacterias Gram-positivas, micobacterias, *Trypanosoma cruzi*, hongos y *Treponema*. Además, el TLR2 reconoce preparaciones de LPS de no-enterobacterias tales como, sólo a manera de ejemplo, *Leptospira interrogans*, *Porphyromonas gingivalis* y *Helicobacter pylori*. Los complejos de TLR2 son capaces de detectar tanto patrones no propios como patrones propios alterados, tales como los desplegados por las células necróticas. El TLR2 es reclutado por fagosomas y está involucrado en la internalización de productos microbianos de las células.

Receptor tipo Toll 3 (TLR3)

- [210] El TLR3 se asigna al cromosoma 4q35 y su secuencia codifica una proteína putativa de 904 aminoácidos (aa) con 24 LRRs en el extremo N-terminal y un peso molecular calculado de 99 kDa.

de 97 kDa. El TLR3 está más estrechamente relacionado con los receptores TLR5, TLR7 y TLR8 cada uno con una identidad de secuencia de 26% (aa) total.

[211] El TLR3 está expresado en sus niveles más altos en la placenta y el páncreas. El TLR3 se expresa en las células dendríticas, en las células T y NK. *In vivo*, se observan dos transcritos de TLR3 de diferente tamaño, lo que sugiere que el RNAm es alternativamente cortado para generar dos formas diferentes de la proteína. *In vitro*, el TLR de THP-1 diferenciado por PMA esta moderadamente regulada por incremento por IFN- $\gamma$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-10 autocrinas, y TNF- $\alpha$ . El RNAm del TLR3 se encuentra elevado después de su exposición a bacterias Gram-negativas y en un grado aún mayor en respuesta a bacterias Gram-positivas. *Ex vivo*, la expresión de TLR3 se encuentra elevada tanto en monocitos como en granulocitos tras su exposición a bacterias Gram-negativas. El TLR3 forma un homodímero y reconoce al RNA viral de doble hebra (RNAds). Aunque se asume generalmente que los TLRs son expresados en la superficie celular, sin embargo aquellos TLRs sensibles a PAMPs internos, tal como el RNAds, en el caso del TLR3, están localizados intracelularmente en el compartimento lisosomal.

#### Receptor tipo Toll 4 (TLR4)

[212] El TLR4 se asigna al cromosoma 9q32-33y muestra un alto grado de similitud al dToll a lo largo de la secuencia entera de (aa). La secuencia del TLR4 codifica una proteína putativa de 839 aminoácidos (aa) con 22 regiones LRRs en el extremo N-terminal y un peso molecular calculado de 90 kDa. El TLR4 está más estrechamente relacionado con los receptores TLR1 y TLR6 con una identidad de secuencia para cada uno de un 25% de (aa) total.

[213] *In vivo*, el RNAm del TLR4 está expresado en un único transcrito, y se encuentra en altos niveles en el bazo y PBLs. De la población de PBL, El TL4 es expresado por células B, células dendríticas, monocitos, macrófagos, granulocitos y células T. El TLR4 también es expresado en las células mielomonocíticas y tiene la mayor expresión en las células mononucleares. *In vitro*, el RNAm del TLR2 y la expresión de la proteína está regulada por incremento en las células THP-1 tras diferenciación inducida por PMA. El TLR4 es moderadamente regulado por incremento por IFN- $\gamma$ , IL-1 $\beta$  autocrinas. La expresión del RNAm del TLR4 en células THP-1 no se ve afectada por exposición ni a bacterias Gram-positivas ni Gram-negativas. *Ex vivo*, en granulocitos y monocitos, el TLR4 está regulado por incremento tras exposición a bacterias Gram-negativas.

[214] El TLR4 forma un homodímero y requiere la asociación extracelular de un componente adicional, MD-2. Aunque los complejos de TLR2 son capaces de reconocer lipopolisacáridos

(LPS), el TLR4 es generalmente considerado el receptor de LPS. Los homodímeros de TLR4 asociados a MD-2 no se unen directamente con LPS, sin embargo, los LPS deben estar primero unidos a la proteína de unión a LPS soluble (LBP). Solo entonces las la LBP se une ya sea mediante un CD14 soluble o un CD14 ligado a GPI. Otros componentes, dependiendo del tipo de célula, que se necesitan para que el TLR4 detecte LPS incluyen CXCR4, GDF-5, CD55, distintas proteínas de choque térmico (HSPs), y complementos de receptores (CRs). El complejo TLR4 también reconoce algunas otros PAMPs bacterianos, incluyendo LTA. Además, el complejo TLR4 reconoce virus incluyendo el virus respiratorio sincicial (VRS), el virus de la hepatitis C (HVC), y el virus del tumor mamario en ratones (MMTV). El complejo TLR4 también puede reconocer ligandos endógenos, por ejemplo, las proteínas de choque térmico (HSP60 y HSP70), fibrinógeno, dominio A de fibronectina, oligosacáridos of ácido hialurónico, heparan sulfato, proteína a surfactante (SP-A), y  $\beta$ -defensinas. El TLR4 también forma heterodímeros tanto con TLR5, lo cual aumenta su actividad, y también con TLR1, lo cual inhibe su actividad.

#### Receptor tipo Toll 5 (TLR5)

- [215] El TLR5 se asigna al cromosoma 1q41-42 y el gen codifica una proteína putativa de 858 aminoácidos (aa) con un peso molecular calculado de 91 kDa. Está más estrechamente relacionado con el receptor TLR3 con una identidad de secuencia 26% de (aa) total.
- [216] *In vivo*, el RNAm del TLR5 está expresado en un único transcrito en ovarios, próstata y PBLs. El TLR5 es expresado por varias poblaciones de PBL. Su más alta expresión se encuentra en los monocitos. El TLR5 también es expresado en el lado basolateral de las células epiteliales intestinales y en las células endoteliales intestinales del compartimento subepitelial. *In vitro*, el TLR5 presenta regulación por incremento en las células THP-1 tras diferenciación inducida por PMA por IL-6, IL-10 y TNF- $\alpha$  autocrinas, pero también se encuentra elevada por IFN- $\gamma$  $\beta$ . La expresión del RNAm del TLR5 se encuentra elevada después de su exposición tanto bacterias Gram-negativas como Gram-positivas. *Ex vivo*, en monocitos y en granulocitos el TLR5 se encuentra subexpresado tras su exposición a bacterias Gram-negativas. El TLR5 forma homodímeros también como heterodímeros con TLR4. Ambos complejos funcionan para reconocer la proteína flagelina de bacterias flageladas. La expresión de TLR5 humano en células CHO, le otorga capacidad de respuesta frente a la flagelina, un constituyente monomérico de la flagela bacteriana. La flagelina activa las células epiteliales de los pulmones para inducir la producción de citoquinas inflamatorias. Un polimorfismo del codón de terminación en TLR5 ha sido asociado con susceptibilidad a la neumonía causada por la bacteria flagelada *Legionella pneumophila*.

000064

Receptor tipo Toll 6 (TLR6)

[217] El TLR6 se asigna al cromosoma 4p14 y la secuencia del TLR6 codifica una proteína putativa de 796 aminoácidos (aa) con 20 grupos funcionales LRR en el extremo N-terminal con un peso molecular calculado de 91 kDa. El TLR6 está más estrechamente relacionado con los receptores TLR1, TLR10 y TLR2 con una identidad de secuencia respectivamente de un 68%, 46% y 31% de (aa) total.

[218] *In vivo*, el transcripto de TLR6 se observa en el timo, bazo y pulmones. La expresión del RNAm del TLR6 es más alta en células B y monocitos. *In vitro*, el RNAm del TLR6 está regulado por incremento en las células THP-1 tras diferenciación inducida por PMA. El TLR6 está moderadamente regulado por incremento por IFN- $\gamma$ , IL-1 $\beta$  autocrinas. Sin embargo, la expresión del RNAm del TLR6 no se ve afectada por exposición ni a bacterias Gram-positivas ni Gram-negativas. *Ex vivo*, el TLR6 se encuentra regulado por decremento en monocitos y granulocitos después de exposición a bacterias Gram-negativas. El TLR6 forma un heterodímero con TLR2. Tal como con TLR1, se cree que el TLR6 ayuda en la especificidad o aumenta la sensibilidad a PAMP del TLR2 y contribuye a su capacidad de señalización a través de la heterodimerización.

Receptor tipo Toll 7 (TLR7)

[219] El TLR7 se asigna al cromosoma humano Xp22 y la secuencia del TLR7 codifica una proteína putativa de 1049 aminoácidos (aa) con 27 LRRs en el extremo N-terminal con un peso molecular calculado de 121 kDa. El TLR7 está más estrechamente relacionado con los receptores TLR8, y TLR9 con una identidad de secuencia de un 43%, y 36% de (aa) total, respectivamente.

[220] *In vivo*, el RNAm del TLR7 está expresado en pulmones, placenta, bazo, ganglios linfáticos y amígdalas. La expresión del RNAm del TLR7 es más alta en células B, monocitos y células dendríticas plasmocitoideas. *In vitro*, el RNAm del TLR7 está regulado por incremento en las células THP-1 tras diferenciación inducida por PMA. El TLR7 está altamente regulado por incremento por exposición a IL-6 y en menor medida por IFN- $\gamma$ , IL-1 $\beta$  autocrinas. La expresión del RNAm del TLR7 en las células THP-1 se encuentra elevada después de su exposición tanto bacterias Gram-negativas como Gram-positivas. *Ex vivo*, la expresión de TLR7 está elevada en monocitos y en mayor medida en granulocitos, después de su exposición tanto bacterias Gram-negativas como Gram-positivas. El TLR7 está expresado en el endosoma. El rol del TLR7 es la detectar la presencia de RNA de una hebra “extraño” dentro de la célula, como una manera de responder a una invasión viral. El TLR7 es una

proteína muy conservada estructuralmente que reconoce la presencia de entidades ricas en uridina o guanosina, RNA de una hebra (RNAss) de virus tales como el virus de la inmunodeficiencia humana, la estomatitis vesicular y el virus de la influenza.

#### Receptor tipo Toll 8 (TLR8)

[221] El TLR8 se asigna al cromosoma Xp22 y la secuencia del TLR8 codifica una proteína putativa de 1041 aminoácidos (aa) con 26 LRRs en el extremo N-terminal con un peso molecular calculado de 120 kDa. El TLR8 está más estrechamente relacionado con los receptores TLR7 y TLR9 con una identidad de secuencia de un 43%, y 35% de (aa) total, respectivamente.

[222] *In vivo*, el RNAm del TLR8 está expresado en pulmones, placenta, bazo, ganglios linfáticos, médula ósea, y PBLs, su expresión más alta se encuentra en células de origen mieloide, tales como monocitos, granulocitos y células dendríticas mieloides. *In vitro*, el TLR8 está regulado por incremento en las células THP-1 tras diferenciación inducida por PMA. El TLR8 es altamente sobreexpresado por IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-10, y TNF- $\alpha$  autocrinas, y está aún más aumentado por exposición a IFN- $\gamma$ . La expresión del RNAm del TLR8 en las células THP-1 se eleva después de exposición tanto a bacterias Gram-positivas como Gram-negativas. *Ex vivo*, la expresión de TLR8 en monocitos aumenta a medida que la expresión en granulocitos disminuye tras exposición a bacterias Gram-negativas. El TLR8 se expresa en el endosoma. El rol del TLR8 es la detectar la presencia de RNA de una hebra “extraño” dentro de la célula, como una manera de responder a una invasión viral. El TLR8 es una proteína muy conservada estructuralmente que reconoce la presencia de entidades ricas en uridina o guanosina, RNA de una hebra (RNAss) de virus tales como el virus de la inmunodeficiencia humana, la estomatitis vesicular y el virus de la influenza.

#### Receptor tipo Toll 9 (TLR9)

[223] El TLR9 se asigna al cromosoma 3p21 y la secuencia del TLR9 codifica una proteína putativa de 1032 aminoácidos (aa) con 27 LRRs en el extremo N-terminal con un peso molecular calculado de 116 kDa. El TLR9 está más estrechamente relacionado con los receptores TLR7 y TLR8 con una identidad de secuencia de un 36%, y 35% de (aa) total, respectivamente.

[224] *In vivo*, el RNAm del TLR9 está expresado en bazo, ganglios linfáticos, y PBLs. Específicamente, el RNAm del TLR9 se encuentra regulado por incremento, en sus mayores niveles, en las células B y células dendríticas. *In vitro*, el TLR9 es moderadamente regulado

por incremento por IFN- $\gamma$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-10, y TNF- $\alpha$  autocrinas en las células THP-1 tras diferenciación inducida por PMA. La expresión del RNAm del TLR9 en las células THP-1 no es afectada por exposición tanto a bacterias Gram-positivas como Gram-negativas. *Ex vivo*, el TLR9 en monocitos y particularmente en granulocitos está regulado por decremento tras exposición a bacterias Gram-negativas. El TLR9 forma un homodímero y es capaz de reconocer DNA bacteriano desmetilado. El TLR9 está involucrado en la respuesta inflamatoria a DNA bacteriano y oligonucleótidos que contienen CpG desmetilado en secuencias de DNA. El TLR9 está localizado internamente, quizás en los compartimientos lisosómico y endocítico, donde es más probable que encuentre PAMPs que incluyan CpG desmetilado en secuencias de DNA.

- [225] El TLR9 es un receptor CpG de DNA, y reconoce sitios CpG de DNA bacteriano y viral. El DNA bacteriano y viral contiene sitios de CpG desmetilados, lo que le confiere su actividad inmunoestimulante. En los vertebrados, la frecuencia de sitios de CpG está severamente reducida y los residuos de citosina en los sitios de CpG están altamente metilados, lo que lleva a la supresión de la actividad inmunoestimulante. Estructuralmente, hay al menos dos tipos de sitios CpG de DNA: CpG de DNA del tipo B/K es un potente inductor de las citoquinas inflamatorias, tal como IL-12 y TNF- $\alpha$ ; y CpG de DNA del tipo A/D que tiene una mayor habilidad para inducir la producción de IFN- $\alpha$  a partir de células dendríticas plasmacitoideas (PDC). EL TLR9 también está involucrado en la patogénesis de desordenes autoinmunes, y puede ser importante en el hipertiroidismo autoinmune de Graves y la producción de factor reumatoideo por células B autorreactivas. De manera similar, la internalización del receptor Fc puede causar la inducción de PDC de IFN- $\alpha$  mediada por TLR9 por complejos inmunes que contienen IgG y cromatina, que están implicadas en la patogénesis del lupus eritematoso sistémico (SLE). El TLR9 está involucrado en la patogénesis de varias enfermedades autoinmunes, mediante el reconocimiento de la estructura de la cromatina.

#### Receptor tipo Toll 10 (TLR10)

- [226] La secuencia del TLR10 codifica una proteína putativa de 811 aminoácidos (aa) con un peso molecular calculado de 95 kDa. TLR10 está más estrechamente relacionado con el receptor TLR1 y TLR6 con una identidad de secuencia 48% y 46% de (aa) total, respectivamente.

- [227] *In vivo*, la expresión de RNAm del TLR10 es mayor en sistemas inmunes relacionados con tejidos que incluye bazo, ganglios linfáticos, timo y amígdalas. El RNAm del TLR10

000067

tiene una mayor expresión en las células B y en las células dendríticas plasmocitoides (PDCs). *In vitro*, el TLR10 es moderadamente regulado por incremento por IFN- $\gamma$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-10, y TNF- $\alpha$  autocrinas en las células THP-1 tras diferenciación inducida por PMA. La expresión del RNAm del TLR10 en las células THP-1 está elevada después de su exposición tanto a bacterias Gram-positivas como Gram-negativas. *Ex vivo*, la expresión de TLR10 en monocitos aumenta a medida que la expresión en granulocitos disminuye tras exposición a bacterias Gram-negativas.

#### Receptor tipo Toll 11 (TLR11)

[228] El TLR11 se expresa en las células epiteliales de la vejiga y media en la resistencia a la infección por bacteria uropatógenicas en ratones.

[229] Como se presenta más adelante, TLR2 y TLR4 reconocen los productos de la membrana celular de bacterias Gram-positiva y Gram-negativa respectivamente; TLR5 reconoce un epítipo estructural de la flagelina bacteriana; TLR3, TLR3, TLR7, TLR8, y TLR9 reconocen diferentes formas de ácidos nucleicos derivados de microbios.

[230] Los dominios TIR interactúan con varias moléculas adaptadoras que contienen dominios TIR (MyD88), proteína adaptadora que contiene dominio TIR (TIRAP), adaptador que contiene el dominio. TIR e induce IFN- $\beta$  (TRIF), y molécula adaptadora relacionada a TRIF (TRAM) lo cual activa una cascada de eventos que resultan en la inducción del factor de transcripción.

#### Rutas de señalización de los TLR

[231] Los TLR están distribuidos por toda la célula. Los TLR1, TLR2, TLR3 y TLR4 son expresados en la superficie celular, mientras que, TLR3, TLR7, TLR8 y TLR9 son expresados en los compartimentos intracelulares tales como endosomas. El reconocimiento mediado por TLR3-, TLR7- ó TLR9 de sus ligando requiere maduración y procesamiento endosómico. Cuando los macrófagos, monocitos, células dendríticas o células no inmunes que se transforman en células presentadoras de antígeno, envuelven a la bacteria por fagocitosis, la bacteria se degrada y el sitio CpG del DNA es liberado en los fagosomas-lisosomas o en los endosomas-lisosomas, en donde pueden interactuar con el TLR9 que ha sido reclutado desde el retículo endoplásmico tras la captación inespecífica del sitio CpG del DNA. Más aún, cuando los virus invaden células por endocitosis mediada por receptores, los contenidos virales son expuestos al citoplasma mediante la fusión de la membrana viral con la membrana endosómica. Esto resulta en la exposición de ligandos del TLR, tales como, dsRNA, ssRNA y

000068

CpG DNA al receptor TLR9 en los compartimentos fagosomal/lisosomal o endosomal/lisosomal.

[232] En las cascadas de rutas de señalización del dominio TIR, un adaptador que contiene un dominio TIR, MyD88, es esencial para la inducción de citoquinas inflamatorias como TNF- $\alpha$  y IL-12 a través de todos los TLRs. Aunque, las moléculas adaptadoras que contienen dominios TIR (MyD88) son comunes a todos los TLRs, las rutas de señalización de los TLR individuales son divergentes y la activación de TLRs específicos conduce a patrones levemente diferentes en los perfiles de expresión de genes. Sólo a manera de ejemplo, la activación de las rutas de señalización de TLR3 y TLR4 resulta en la inducción de interferones tipo I (IFNs), mientras que la activación de las rutas mediadas por TLR2- y TLR5-, no. Sin embargo, la activación de las rutas de señalización de TLR7, TLR8 y TLR9 también conduce a la inducción de IFNs tipo I, aunque esto ocurre mediante mecanismos distintos a la inducción mediada por TLR3/4-.

[233] Una vez activados, los TLRs inician una cascada de transducción de señales que lleva a la activación del NF $\kappa$ B mediante el gen88 responsable de la diferenciación mieloide primaria de la molécula adaptadora (MyD88) y el reclutamiento del receptor IL-1 asociado a quinasas (IRAK). La ruta dependiente de MyD88 es análoga a la señalización generada por los receptores IL-1, y se considera que el MyD88, que alberga un dominio TIR c-terminal y un dominio de muerte N-terminal, se asocia con el dominio TIR de los TLRs. Tras la estimulación, el MyD88 recluta IRAK-4 para TLRs a través de la interacción de los dominios de muerte de ambas moléculas, y facilita la fosforilación mediada por IRAK-4 de IRAK-1. La fosforilación de IRAK-1, conduce luego al reclutamiento del receptor TNF asociado al factor 6 (TRAF6), lo que lleva a la activación de dos rutas de señalización distintas. Una ruta conduce a la activación de los factores de transcripción AP-1 a través de la activación de quinasas MAP. Otra ruta activa el complejo TAK1/TAB, el que aumenta la actividad del complejo de quinasas I $\kappa$ B (IKK). Una vez activado, el complejo IKK induce la fosforilación y la subsecuente degradación del I $\kappa$ B inhibidor de NF $\kappa$ B, lo que conduce a la translocación del factor de transcripción NF $\kappa$ B y la iniciación de la transcripción de genes cuyos promotores contienen sitios de unión NF $\kappa$ B, tales como citoquinas. La ruta dependiente de MyD88 juega un papel crucial y es esencial en la producción de citoquinas inflamatorias a través de todos los TLRs.

[234] La estimulación de las células que expresan TLR8, tales como PBMCs, resulta en la producción de altos niveles de IL-12, IFN- $\gamma$ , IL-1, TNF- $\alpha$ , IL-6 y otras citoquinas inflamatorias. De manera similar, La estimulación de las células que expresan TLR7, tal

como las células dendríticas plasmocitoides, resulta en la producción de altos niveles de interferon- $\alpha$  (IFN $\alpha$ ) y bajos niveles de citoquinas. Así, a través de la activación de las células dendríticas y otras células presentadoras de antígeno, la participación de TLR7, TLR8 o TLR9 y la producción de citoquina es de esperar la activación de diversos mecanismos de respuesta inmune innata y adquirida, lo que lleva a la destrucción de los patógenos, células infectadas o células de tumores.

[235] Los compuestos de Fórmula (I), sales farmacéuticamente aceptables, solvatos, N-óxidos, profármacos, e isómeros de los mismos, y/o combinaciones proporcionadas en el presente documento; son agonistas de la actividad del receptor tipo Toll 7, y son usadas en el tratamiento de enfermedades y/o desordenes asociados con tales receptores TLR7.

[236] En ciertas realizaciones, los compuestos de Fórmula (I), sales farmacéuticamente aceptables, solvatos, N-óxidos, profármacos, e isómeros de los mismos, y/o combinaciones proporcionadas en el presente documento son usadas en el tratamiento de enfermedades y/o desordenes respiratorios que incluyen, pero no están limitados a, asma, asma bronquial, asma alérgico, asma intrínseco, asma extrínseco, asma inducido por esfuerzo, asma inducido por medicamentos (incluyendo aspirina e inducido por NSAID) y asma inducido por polvo, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC); bronquitis, incluyendo bronquitis infecciosa y eosinofílica, enfisema; bronquiectasia, fibrosis quística; sarcoidosis; pulmón del granjero y enfermedades relacionadas; neumonitis hipersensitiva, fibrosis pulmonar, incluyendo fibrosis criptogénica, alveolitis, neumonías intersticiales idiopáticas, fibrosis como complicación de terapias antineoplásicas infecciones crónicas, incluyendo tuberculosis y aspergilosis y otras infecciones por hongos; complicaciones de trasplantes de pulmón; desordenes trombocitos o vasculares de la vasculatura del pulmón, e hipertensión pulmonar; actividad antitusiva incluyendo el tratamiento de la tos crónica asociada con condiciones inflamatorias y secretoras de las vías aéreas, y tos iatrogénica; rinitis aguda y crónica incluyendo la rinitis medicamentosa, y la rinitis vasomotora, rinitis alérgica estacional y rinitis alérgica perenne incluyendo la rinitis nervosa (fiebre del heno); poliposis nasal; infecciones virales agudas incluyendo el resfriado común, y la infección debida a virus respiratorio sincicial, influenza, coronavirus (incluyendo SARS) y adenovirus.

[237] En ciertas realizaciones, los compuestos de Fórmula (I), sales farmacéuticamente aceptables, solvatos, N-óxidos, profármacos, e isómeros de los mismos, y/o combinaciones proporcionadas en el presente documento son usadas en el tratamiento de enfermedades y/o desordenes dermatológicos que incluyen, pero no están limitados a, psoriasis, dermatitis atópica, dermatitis de contacto y otras dermatosis eccematosas, y reacciones de

000070

hipersensibilidad del tipo tardía; fito y fotodermatitis; dermatitis seborreica, dermatitis herpetiforme, lichen planus, lichen sclerosus et atrophica, pyoderma gangrenosum, sarcoidosis de la piel, carcinoma basocelular, queratosis actínica, lupus eritematoso discoide, pénfigo, penfigoide, epidermólisis bullosa, urticaria, angioedema, vasculitis, eritemas tóxicos, eosinofilias cutáneas, alopecia areata, alopecia masculina, síndrome de Sweet, síndrome de Weber-Christian, eritema multiforme; celulitis, tanto infecciosa como no infecciosa; paniculitis; linfomas cutáneos, cáncer de piel que no es melanoma y otras lesiones displásicas; desórdenes inducidos por medicamentos incluyendo erupciones medicamentosas.

[238] En ciertas realizaciones, los compuestos de Fórmula (I), sales farmacéuticamente aceptables, solvatos, N-óxidos, profármacos, e isómeros de los mismos, y/o combinaciones proporcionadas en el presente documento son usadas en el tratamiento de enfermedades y/o desórdenes oculares que incluyen, pero no están limitados a, blefaritis; conjuntivitis, incluyendo conjuntivitis alérgica vernal y perenne, iritis; uveítis anterior y posterior; coroiditis; desórdenes autoinmunes, degenerativos o inflamatorios que afectan la retina; oftalmatitis incluyendo oftalmatitis simpática; sarcoidosis; infecciones incluyendo infecciones virales, por hongos y bacterianas.

[239] En ciertas realizaciones, los compuestos de Fórmula (I), sales farmacéuticamente aceptables, solvatos, N-óxidos, profármacos, e isómeros de los mismos, y/o combinaciones proporcionadas en el presente documento son usadas en el tratamiento de enfermedades y/o desórdenes genitourinarios que incluyen, pero no están limitados a, nefritis incluyendo nefritis intersticial y glomerulonefritis; síndrome nefrótico; cistitis incluyendo cistitis (intersticial) crónica y aguda y úlcera de Hunner; uretritis crónica y aguda, prostatitis, epididimitis, oforitis y salpingitis; vulvo-vaginitis; enfermedad de Peyronie; disfunción eréctil (tanto en hombres como en mujeres).

[240] En ciertas realizaciones, los compuestos de Fórmula (I), sales farmacéuticamente aceptables, solvatos, N-óxidos, profármacos, e isómeros de los mismos, y/o combinaciones proporcionadas en el presente documento son usadas en el tratamiento de rechazo de injertos que incluyen, pero no están limitados a, rechazo agudo o crónico después, de por ejemplo, transplantes de riñón, corazón, hígado, pulmón, médula ósea, piel o córnea o después de una transfusiones de sangre; o enfermedad injerto contra huésped.

[241] En ciertas realizaciones, los compuestos de Fórmula (I), sales farmacéuticamente aceptables, solvatos, N-óxidos, profármacos, e isómeros de los mismos, y/o combinaciones proporcionadas en el presente documento son usadas en el tratamiento de otros desórdenes

000071

alérgicos o autoinmunes que incluyen, pero no están limitados a, artritis reumatoide, síndrome del intestino irritable, lupus eritematoso sistémico, esclerosis múltiple, tiroiditis de Hashimoto, enfermedad de Crohns, enfermedad inflamatoria intestinal (IBD), enfermedad de Graves, enfermedad de Addison, diabetes mellitus, trombocitopenia púrpura idiopática, fascitis eosinofílica, síndrome de hiper-IgE, síndrome antifosfolípido y síndrome de Sazary.

[242] En ciertas realizaciones, los compuestos de Fórmula (I), sales farmacéuticamente aceptables, solvatos, N-óxidos, profármacos, e isómeros de los mismos, y/o combinaciones proporcionadas en el presente documento son usadas en el tratamiento del cáncer que incluyen, pero no están limitados a, cáncer de próstata, mamas, pulmón, ovarios, páncreas, intestinos, colon, tumores de estómago, piel y cerebro y tumores malignos que afectan la médula ósea (incluyendo las leucemias) y sistemas linfoproliferativos, tales como linfoma de Hodgking y linfoma que no es Hodgkin; incluyendo la prevención y tratamiento de metástasis y recurrencia de tumores, y síndromes paraneoplásicos. En ciertas realizaciones, Los compuestos de Fórmula (I), sales farmacéuticamente aceptables, solvatos, N-óxidos, profármacos, e isómeros de los mismos, y/o combinaciones proporcionadas en el presente documento son útiles como moduladores de la actividad de receptores tipo Toll, y son usados en el tratamiento de neoplasias que incluyen, pero no están limitadas a, carcinoma basocelular, carcinoma celular escamoso, queratosis actínica, melanoma, carcinomas, sarcomas, leucemias, carcinoma de las células renales, sarcoma de Kaposi, leucemia mieloide, leucemia linfocítica crónica y mieloma múltiple.

[243] En ciertas realizaciones, los compuestos de Fórmula (I), sales farmacéuticamente aceptables, solvatos, N-óxidos, profármacos, e isómeros de los mismos, y/o combinaciones proporcionadas en el presente documento son usadas en el tratamiento de enfermedades infecciosas incluyendo, pero no limitadas a, enfermedades virales como verrugas genitales, verrugas comunes, verrugas plantares, virus respiratorios sincicial (VRS), hepatitis B, hepatitis C, virus del dengue, virus del herpes simple (sólo a manera de ejemplo, HSV-I, HSV-II, CMV o VZV), ), molluscum contagiosum, vaccinia, viruela, lentivirus, virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) virus del papiloma humano (VPH), citomegalovirus (CMV), virus varicela zóster (VZV), rinovirus, enterovirus, adenovirus, coronavirus (e.g., SARS), influenza, parainfluenza, virus de las parotiditis, virus del sarampión, papovavirus, hepadnavirus, flavivirus, retrovirus, arenavirus (sólo a manera de ejemplo, LCM, virus de Junin, virus de Machupo, virus de Guanarito u Fiebre de Lassa) y folivirus (sólo a manera de ejemplo, virus Ébola, virus de Marburgo).

000072

[244] En ciertas realizaciones, los compuestos de Fórmula (I), sales farmacéuticamente aceptables, solvatos, N-óxidos, profármacos, e isómeros de los mismos, y/o combinaciones proporcionadas en el presente documento son usadas en el tratamiento de infecciones bacterianas, por hongos y protozoos incluyendo, pero no limitadas a, tuberculosis mycobacterium avium, lepra; pneumocystis carinii, cryptosporidiosis, histoplasmosis, toxoplasmosis, infección por trypanosoma, leishmaniasis, infecciones causadas por bacterias del género *Escherichia*, *Enterobacter*, *Salmonella*, *Staphylococcus*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Streptococcus*, y *Chlamydia*, e infecciones por hongos tales como, *candidiasis*, *aspergillosis*, *histoplasmosis*, *cryptococcal meningitis*.

[245] En ciertas realizaciones, los compuestos de Fórmula (I), sales farmacéuticamente aceptables, solvatos, N-óxidos, profármacos, e isómeros de los mismos son usados como potenciadores del sistema inmune. En ciertas realizaciones, los compuestos proporcionados en el presente documento, están incluidos en composiciones inmunogénicas o son usados en combinación con composiciones inmunogénicas. En ciertas realizaciones, las composiciones inmunogénicas son de utilidad como vacunas, y el compuesto está presente en una cantidad suficiente para mejorar la respuesta inmune a la vacuna, o a un antígeno mezclado con el compuesto. La vacuna comprende al menos un antígeno, el que puede ser un antígeno bacteriano o un antígeno asociado a cáncer, o un antígeno viral. En ciertas realizaciones, los compuestos de Fórmula (I), sales farmacéuticamente aceptables, solvatos, N-óxidos, profármacos, e isómeros de los mismos y composiciones farmacéuticas proporcionadas en el presente documento, son usados en combinación con vacunas terapéuticas. En ciertas realizaciones, los compuestos de Fórmula (I), sales farmacéuticamente aceptables, solvatos, N-óxidos, profármacos, e isómeros de los mismos y composiciones farmacéuticas proporcionadas en el presente documento, son incluidos en vacunas profilácticas o usados en combinación con vacunas profilácticas. En ciertas realizaciones, los compuestos de Fórmula (I), sales farmacéuticamente aceptables, solvatos, N-óxidos, profármacos, e isómeros de los mismos y composiciones farmacéuticas proporcionadas en el presente documento, son incluidas en, o son usadas en combinación con, vacunas virales terapéuticas. En ciertas realizaciones, los compuestos de Fórmula (I), sales farmacéuticamente aceptables, solvatos, N-óxidos, profármacos, e isómeros de los mismos y composiciones farmacéuticas proporcionadas en el presente documento, son incluidas en, o son usadas en combinación con, vacunas para el cáncer.

[246] En otras realizaciones, los compuestos de Fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable, o solvatos de los mismos, descritos en el presente documento, son de utilidad para

000073

el tratamiento de la piel dañada o envejecida, tal como para el tratamiento de marcas de cicatrización y arrugas.

[247]

### *Administración y Composiciones Farmacéuticas*

[248] Para los usos terapéuticos de compuestos de Fórmula (I), sales farmacéuticamente aceptables, solvatos, N-óxidos, profármacos, e isómeros de los mismos, descritos en el presente documento, tales compuestos son administrados en cantidades terapéuticamente efectivas, ya sea solos o como parte de una composición farmacéutica. En consecuencia, en el presente documento se proporcionan composiciones farmacéuticas, las cuales comprenden al menos un compuesto de Fórmula (I), proporcionado en el presente documento, sales farmacéuticamente aceptables y/o solvatos de las mismas, y uno o más vehículos, diluyentes o excipiente farmacéuticamente aceptables. Además, tales compuestos y composiciones son administrados individualmente o en combinación con uno o más agentes terapéuticos adicionales. El método de administración de tales compuestos y composiciones incluye, pero no está limitado a, administración oral, administración rectal, parenteral, administración intravenosa, administración intravítrea, administración intramuscular, inhalación, administración intranasal, administración tópica, administración oftálmica o administración por vía ótica.

[249] La cantidad terapéuticamente efectiva variará dependiendo de, entre otros, la enfermedad indicada, la severidad de la enfermedad, la edad y la salud relativa del sujeto, la potencia del compuesto administrado, el modo de administración y el tratamiento deseado. En ciertas realizaciones, para la dosis diaria de un compuesto de fórmula (I), se indica que se obtuvieron resultados satisfactorios sistemáticamente con dosis diarias desde aproximadamente 0,03 hasta 2,5 mg/kg de peso corporal. En ciertas realizaciones, la dosis diaria de un compuesto de fórmula (I), administrado por inhalación, está en el rango desde 0,05 microgramos por kilogramo de peso corporal ( $\mu\text{g/kg}$ ) hasta 100 microgramos por kilogramo de peso corporal ( $\mu\text{g/kg}$ ). En otras realizaciones, la dosis diaria de un compuesto de fórmula (I), administrado en forma oral, está en el rango desde 0,01 microgramos por kilogramo de peso corporal ( $\mu\text{g/kg}$ ) hasta 100 miligramos por kilogramo de peso corporal ( $\text{mg/kg}$ ). Una dosis diaria indicada en grandes mamíferos, por ejemplo, humanos, está en el rango desde aproximadamente 0,5 mg hasta aproximadamente 100 mg de un compuesto de Fórmula (I), convenientemente administrado, *e.g.*, en dosis diarias divididas en hasta cuatro veces al día o en una forma de liberación controlada. En ciertas realizaciones, las formas de

000074

unidad de dosificación para la administración oral comprenden desde aproximadamente 1 hasta 50 mg de un compuesto de Fórmula (I).

[250] Otros aspectos, proporcionados en el presente documento, son procesos para la preparación de composiciones farmacéuticas que comprende al menos un compuesto de Fórmula (I), proporcionado en el presente documento, sales farmacéuticamente aceptables y/o solvatos de los mismos. En ciertas realizaciones, tales procesos comprenden mezclar un compuesto de Fórmula (I), proporcionado en el presente documento, y sal farmacéuticamente aceptable y solvatos de los mismos, con uno o más vehículos, diluyentes o excipiente farmacéuticamente aceptables. En ciertas realizaciones, las composiciones farmacéuticas comprenden un compuesto de Fórmula (I) en su forma libre o como una sal farmacéuticamente aceptable o en forma de solvato, en asociación con al menos un vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable, preparados usando métodos de mezclado, granulado o revestimiento. En otras realizaciones, tales composiciones opcionalmente contienen excipientes, tales como preservantes, estabilizantes, agentes humectantes o emulsionantes, promotores de solución, sales para regular la presión osmótica y/o buffers. En otras realizaciones, tales composiciones están esterilizadas.

#### Formas de Dosificación Orales

[251] En ciertas realizaciones, las composiciones farmacéuticas que contienen al menos un compuesto de Fórmula (I), son administrados en forma oral como formas de dosificación discretas, dentro de tales formas de dosificación se incluyen, pero no están limitadas a, cápsulas, capsulas de gelatina, capletas, tabletas, tabletas masticables, polvos, gránulos, jarabes, soluciones o suspensiones en líquidos acuoso o no acuoso, espuma comestible o batido, y emulsiones líquidas de aceite en agua o emulsiones líquidas de agua en aceite.

[252] Las cápsulas, capsulas de gelatina, capletas, tabletas, tabletas masticables, polvos o gránulos, usados para la administración oral de al menos un compuesto de Fórmula (I), son preparados mezclando al menos un compuesto de Fórmula (I) (ingrediente activo) con al menos un excipiente; usando técnicas para preparar compuestos farmacéuticos convencionales. Ejemplos no limitantes de excipientes, usados en las formas de dosificación orales descritas en el presente documento, incluyen, pero no están limitadas a, aglutinantes, rellenos, desintegrantes, lubricantes, absorbentes, colorantes, saborizantes, preservantes y endulzantes.

[253] Ejemplos no limitantes de tales aglutinantes, incluyen, pero no están limitados a, almidón de maíz, almidón de papa, pasta de almidón, almidón pre gelatinizado, u otros almidones,

000075

azúcares, gelatina, gomas naturales y sintéticas, tales como acacia, alginato de sodio, ácido algínico, otros alginatos, tragacanto, goma guar, celulosa y sus derivados (sólo a manera de ejemplo, etilcelulosa, acetato de celulosa, carboximetilcelulosa de calcio, carboximetilcelulosa de sodio, metilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa y celulosa microcristalina), silicato de aluminio de magnesio, polivinilpirrolidona y combinaciones de los mismos.

[254] Ejemplos no limitantes de tales rellenos, incluyen, pero no está limitados a, talco, carbonato de calcio (*e.g.*, gránulos o polvo), celulosa microcristalina, celulosa en polvo, dextratos, caolín, manitol, ácido silícico, sorbitol, almidón, almidón pre-gelatinizado y mezclas de los mismos. En ciertas realizaciones, el aglutinante o relleno en una composición farmacéutica, proporcionada en el presente documento, están presentes desde aproximadamente 50 hasta aproximadamente 99 por ciento en peso de la composición farmacéutica o forma de dosificación.

[255] Ejemplos no limitantes de tales desintegrantes, incluyen, pero no está limitados a, agar-agar, ácido algínico, alginato de sodio, carbonato de calcio, carbonato de sodio, celulosa microcristalina, croscamelosa sódica, crospovidona, polacrilina de potasio, almidón glicolato de sodio, almidón de papa o tapioca, almidón pre-gelatinizado, otros almidones, arcillas, otros alginas, otras celulosas, gomas y combinaciones de las mismas. En otras realizaciones, la cantidad de desintegrante usado en las composiciones farmacéuticas, proporcionadas en el presente documento, está presente desde aproximadamente 0,5 hasta aproximadamente 15 por ciento en peso de desintegrante, mientras que en otras realizaciones la cantidad es de aproximadamente 1 hasta aproximadamente 5 por ciento en peso de desintegrante.

[256] Ejemplos no limitantes de tales lubricantes, incluyen, pero no está limitados a, estearato de sodio, estearato de calcio, estearato de magnesio, ácido esteárico, aceite mineral, aceite mineral ligero, glicerina, sorbitol, manitol, polietilenglicol, otros glicoles, lauril sulfato de sodio, talco, aceite vegetal hidrogenado (a manera de ejemplo, aceite de maní, aceite de semilla de algodón, aceite de girasol, aceite de sésamo, aceite de oliva, aceite de maíz y aceite de soja), estearato de zinc, oleato de sodio, oleato de tilo, laurato de etilo, , agar, sílice, gel de sílice siloide (AEROSIL 200, fabricado por W.R. Grace Co. de Baltimore, Md.), un aerosol coagulado de sílice sintético ( distribuido por Degussa Co. of Plano, Tex.), CAB-O-SIL ( un producto de dióxido de silicio pirogénico distribuido por Cabot Co. of Boston, Mass.) y combinaciones de los mismos. En ciertas realizaciones, la cantidad de lubricantes usada en las composiciones farmacéuticas, proporcionadas en el presente documento, es una cantidad

inferior a aproximadamente 1 por ciento en peso de la composición farmacéutica o forma de dosificación.

[257] Ejemplos no limitantes de tales diluyentes, incluyen, pero no está limitados a, lactosa, dextrosa, sacarosa, manitol, sorbitol, celulosa, glicina o combinaciones de los mismos.

[258] En ciertas realizaciones, tabletas y cápsulas son preparados mezclando uniformemente al menos un compuesto de fórmula (I) (ingrediente activo) con vehículos líquidos, vehículos sólidos finamente divididos o ambos y luego dando forma al producto en la presentación deseada, si es necesario. En ciertas realizaciones, las tabletas son preparadas por compresión. En otras realizaciones, las tabletas son preparadas por moldeo.

[259] En ciertas realizaciones, al menos un compuesto de Fórmula (I), es administrado oralmente en una forma de dosificación controlada. Tales formas de dosificación son usadas para proporcionar una liberación lenta y controlada de uno o más compuestos de Fórmula (I). La liberación controlada se obtiene usando, por ejemplo, hidroxipropilmetil celulosa, otras matrices de polímeros, geles, membranas permeables, sistemas osmóticos, recubrimientos multicapas, micropartículas, liposomas, microesferas, o combinaciones de las mismas. En ciertas realizaciones, las formas de dosificación controlada son usadas para prolongar la actividad del compuesto de Fórmula (I), reducir la frecuencia de dosificación, y aumentar el cumplimiento del paciente.

[260] La administración de compuestos de Fórmula (I), como fluidos orales tales como soluciones, jarabes y elixires se preparan en formas de dosificación de unidades de manera tal que una determinada cantidad de solución, jarabes o elixires contiene una cantidad predeterminada de un compuesto de fórmula (I). Los jarabes se preparan disolviendo el compuesto en una apropiada solución acuosa saborizada, mientras que los elixires se preparan mediante el uso de un vehículo alcohólico no tóxico. Ejemplos no limitantes de excipientes usados en o como fluidos orales para administración oral, incluyen, pero no está limitados a, solubilizantes, emulsionantes, agentes saborizantes, preservantes y colorantes. Ejemplos no limitantes de solubilizantes y emulsionantes, incluyen, pero no está limitados a, agua, glicoles, aceites, alcoholes, alcoholes isoestearílicos etoxilados y éteres de polioxietileno de sorbitol. Ejemplos no limitantes de preservantes, incluyen, pero no está limitados a, benzoato de sodio. Ejemplos no limitantes de saborizantes, incluyen, pero no está limitados a, aceite de menta o endulzantes naturales o sacarina u otros endulzantes naturales.

000077

[261]

Formas de Dosificación Parenteral

[262] En ciertas realizaciones, composiciones farmacéuticas que contiene al menos un compuesto de Fórmula (I), son administradas parenteralmente por varias vías incluyendo, pero no está limitadas a, subcutánea, intravenosa ( incluyendo bolos inyectables), intramuscular e intraarterial.

[263] Tales formas de dosificación parenteral son administradas en forma de soluciones inyectables estériles o esterilizables, suspensiones, productos secos o liofilizado listos para ser disueltos o suspendidos en un vehículo farmacéuticamente aceptable para inyección (polvos para reconstitución) y emulsiones. Vehículos usados en tales formas de dosificación incluyen, pero no están limitado a, agua para inyecciones USP; vehículos acuosos como, pero no limitados a, inyección de cloruro de sodio, inyección de Ringer, inyección de dextrosa, inyección de dextrosa y cloruro de sodio e inyección Ringer-Lactato; vehículos aguas miscibles tales como, pero no limitados a, alcohol etílico, polietilenglicol y polipropilenglicol; y vehículos no acuosos como, pero no limitados a, aceite de maíz, aceite de semilla de algodón, aceite de maní, aceite de sésamo, oleato de etilo, miristato de isopropilo y benzoato de bencilo.

Formas de Dosificación Transdérmica

[264] En ciertas realizaciones, composiciones farmacéuticas que contiene al menos un compuesto de Fórmula (I), son administradas vía transdérmica. Tales formas de dosificación transdérmica incluyen parches " tipo depósito" o "tipo matriz", que se aplica a la piel y se usan durante un período específico de tiempo para permitir la penetración de una cantidad deseada de un compuesto de fórmula (I). A modo de ejemplo solamente, tales dispositivos transdérmicos son en forma de un vendaje compuesto por una pieza de apoyo, un depósito que contiene el compuesto opcionalmente con vehículos, opcionalmente, una barrera para controlar la tasa de liberación del compuesto en la piel del huésped a un ritmo controlado y predeterminado durante un período prolongado de tiempo, y medios para asegurar el dispositivo en la piel. En otras realizaciones, se utilizan formulaciones de matriz transdérmica.

[265] Las formulaciones para la liberación transdérmica de un compuesto de Fórmula (I), incluyen una cantidad efectiva de un compuesto de Fórmula (I), un vehículo y un diluyente opcional. Un vehículo incluye pero no está limitado a, disolventes farmacológicamente

000078

aceptables que se pueden disolver para ayudar a traspasar la piel del huésped, tales como agua, acetona, etanol, etilenglicol, propilenglicol, butano-1,3-diol, miristato de isopropilo, palmitato de isopropilo, aceite mineral y combinaciones de los mismos.

[266] En ciertas realizaciones, tales sistemas para la liberación transdérmica potenciadores de la penetración para ayudar en la liberación en los tejidos de uno o más compuestos de Fórmula (I). Tales potenciadores de la penetración incluyen, pero no están limitados a, acetona; diversos alcoholes como el etanol, oleil y tetrahidrofuril; sulfóxidos alquilo como dimetilsulfóxido; dimetilacetamida; dimetilformamida; polietilenglicol; pirrolidonas como polivinilpirrolidona; tipos de Kollidon (povidona, polividona); urea; y diversos ésteres de azúcar soluble o insoluble como tween 80 (polisorbato 80) y Span 60 (monoesterato de sorbitán).

[267] En otras realizaciones, el pH de tales composiciones farmacéuticas transdérmicas o la forma de dosificación, o el tejido al cual se aplican la composición farmacéutica o la forma dosificación, es ajustado para mejorar la liberación de uno o más compuestos de Fórmula (I). En otras realizaciones, la polaridad del solvente portador, su fuerza iónica o tonicidad se ajustan para mejorar la liberación. En otras realizaciones, se agregan compuestos tales como estearatos que alteran ventajosamente la hidrofiliidad o lipofiliidad de uno o más compuestos de Fórmula (I) a fin de mejorar la liberación. En ciertas realizaciones, tales estearatos sirven como un vehículo para los lípidos para la formulación, como un agente emulsionante o surfactante y como un agente que mejora la liberación o un agente que mejora la penetración. En otras realizaciones, son usados diferentes sales, hidratos o solvatos de los compuestos de Fórmula (I), para ajustar las propiedades de la composición resultante.

#### Formas de dosificación Tópica

[268] En ciertas realizaciones, al menos un compuesto de Fórmula (I) se administra por aplicación tópica de la composición farmacéutica que contiene al menos un compuesto de Fórmula (I) en forma de lociones, geles, soluciones de ungüentos, emulsiones, suspensiones o cremas. Formulaciones adecuadas para aplicación tópica en la piel son soluciones acuosas, ungüentos, cremas o geles, mientras que las formulaciones para administración oftálmica son soluciones acuosas. Esas formulaciones opcionalmente contienen solubilizantes, estabilizantes, agentes para mejorar la tonicidad, búferes y preservantes.

[269] Tales formulaciones tópicas incluyen al menos un vehículo y, opcionalmente, al menos un diluyente. Tales vehículos y diluyentes incluyen, pero no están limitados a, agua, acetona,

etanol, etilenglicol, propilenglicol, butano-1,3-diol, miristato de isopropilo, palmitato de isopropilo, aceite mineral y combinaciones de los mismos.

[270] En ciertas realizaciones, tales formulaciones tópicas incluyen potenciadores de la penetración para ayudar en la liberación de uno o más compuestos de Fórmula (I) en los tejidos. Tales potenciadores de la penetración incluyen, pero no están limitados a, acetona; diversos alcoholes como el etanol, oleil y tetrahidrofuril; sulfóxidos alquilo como dimetilsulfóxido; dimetilacetamida; dimetilformamida; polietilenglicol; pirrolidonas como polivinilpirrolidona; tipos de Kollidon (povidona, polividona); urea; y diversos ésteres de azúcar soluble o insoluble como Tween 80 (polisorbato 80) y Span 60 (monoesterato de sorbitán).

[271] En ciertas realizaciones, composiciones farmacéuticas que contienen al menos un compuesto de Fórmula (I), son administradas mediante inhalación. Las formas de dosificación para la administración por inhalación son formuladas en aerosoles o polvos secos. Formulaciones de aerosol para administración por inhalación comprenden una solución o suspensión fina de al menos un compuesto de Fórmula (I) en un solvente acuoso o no acuoso farmacéuticamente aceptable. Además, tales composiciones farmacéuticas comprenden opcionalmente un polvo base, tal como, lactosa, glucosa, trehalosa, manitol o almidón y, opcionalmente, un modificador de rendimiento tal como L-leucina u otro aminoácido, y/o sales metálicas del ácido esteárico como estearato de magnesio o estearato de calcio.

[272] En ciertas realizaciones, los compuesto de Fórmula (I) son administrados directamente al pulmón mediante inhalación usando un Inhalador de Dosis Medida ("MDI", siglas del inglés *Metered Dose Inhaler*), el cual utiliza cartuchos que contienen un propelente apropiado de bajo punto de ebullición, *e.g.*, diclorodifluorometano, triclorofluorometano, diclorotetrafluoroetano, dióxido de carbono u otro gas adecuado, o usando Inhaladores de Polvo Seco (DPI, siglas del inglés, *Dry Powder Inhaler*), dispositivo que usa una ráfaga de gas para crear una nube de polvo seco dentro del contenedor, el cual es luego inhalado por el paciente. En ciertas realizaciones, cápsulas y cartuchos de gelatina para su uso en un inhalador o insuflador están formulados con una mezcla de polvo de un compuesto de Fórmula (I) y una base en polvo como la lactosa o almidón. En ciertas realizaciones, compuestos de Fórmula (I) se liberan en los pulmones mediante un dispositivo que libera un aerosol líquido, en donde tales dispositivos utilizan aberturas de boquilla extremadamente pequeñas para aerosolizar formulaciones líquidas de medicamentos, que luego pueden ser inhaladas directamente hacia los pulmones. En otras realizaciones, compuestos de Fórmula (I), son liberados en los

000080

pulmones usando un aparato nebulizador, en donde un nebulizador crea un aerosol de las formulaciones de medicamento líquidos, mediante energía ultrasónica, para de esa manera crear partículas finas que pueden ser fácilmente inhaladas. En otras realizaciones, compuestos de Fórmula (I), son liberados en los pulmones usando un aparato aerosol electrohidrodinámico ("EHD"), en donde tal aerosol EHD usa energía eléctrica para aerosolizar soluciones o suspensiones de líquidas de medicamentos.

[273] En ciertas realizaciones, composiciones farmacéuticas que contienen al menos un compuesto de Fórmula (I), o sales farmacéuticamente aceptables y solvatos de los mismos, descritos en el presente documento, también contienen uno o más potenciadores de absorción. En ciertas realizaciones, tales potenciadores de absorción incluyen, pero están limitados a, glycocolato de sodio, caprato de sodio, N-lauril- $\beta$ -D-maltopiranosida, EDTA y micelas mixtas.

[274] En ciertas realizaciones, composiciones farmacéuticas que contienen al menos un compuesto de Fórmula (I), son administradas nasalmente. Las formas de dosificación para la administración nasal, son formuladas como aerosoles, soluciones, gotas, geles o polvos secos.

[275] En ciertas realizaciones, composiciones farmacéuticas que contienen al menos un compuesto de Fórmula (I), son administrados rectalmente en forma desupositorios, enemas, ungüentos, cremas rectales, espumas o geles rectales. En ciertas realizaciones, tales supositorios son preparados a partir de emulsiones o suspensiones grasas, manteca de cacao u otros glicéridos.

[276] En ciertas realizaciones, composiciones farmacéuticas que contienen al menos un compuesto de Fórmula (I), son administradas oftálmicamente como gotas para los ojos. Tales formulaciones son soluciones acuosas que contienen opcionalmente solubilizantes, estabilizantes, agentes para mejorar la tonicidad, búferes y preservantes.

[277] En ciertas realizaciones, composiciones farmacéuticas que contienen al menos un compuesto de Fórmula (I), son administrados por vía ótica como gotas para los oídos. Tales formulaciones son soluciones acuosas que contienen opcionalmente solubilizantes, estabilizantes, agentes para mejorar la tonicidad, búferes y preservantes.

[278] En ciertas realizaciones, composiciones farmacéuticas que contienen al menos un compuesto de Fórmula (I), son formuladas como preparación de absorción lenta y prolongada "preparaciones depot". Tales formulaciones son administradas vía implantación (por ejemplo por vía subcutánea o intramuscular) o por inyección intramuscular. En ciertas

000081

realizaciones, tales formulaciones incluyen materiales poliméricos o hidrofóbicos (por ejemplo, como una emulsión en un aceite aceptable) o resinas de intercambio iónico, o como derivados escasamente solubles, por ejemplo, como una sal escasamente soluble.

- [279] En una realización adicional, las composiciones farmacéuticas que contienen al menos un compuesto de Fórmula (I), son adaptadas para administración oral para el tratamiento de enfermedades y/o desordenes virales asociados con la actividad del TLR7.
- [280] En una realización adicional, las composiciones farmacéuticas que contienen al menos un compuesto de Fórmula (I), son adaptadas para administración oral para el tratamiento de enfermedades y/o desordenes infecciosos asociados con la actividad del TLR7.
- [281] En una realización adicional, las composiciones farmacéuticas que contienen al menos un compuesto de Fórmula (I), son adaptadas para administración oral para el tratamiento de enfermedades y/o desordenes bacterianos asociados con la actividad del TLR7.
- [282] En una realización adicional, las composiciones farmacéuticas que contienen al menos un compuesto de Fórmula (I), son adaptadas para administración oral para el tratamiento de enfermedades y/o desordenes provocados por hongos asociados con la actividad del TLR7.
- [283] En una realización adicional, las composiciones farmacéuticas que contienen al menos un compuesto de Fórmula (I), son adaptadas para administración oral para el tratamiento de cánceres asociados con la actividad del TLR7.
- [284] En una realización adicional, las composiciones farmacéuticas que contienen al menos un compuesto de Fórmula (I), son adaptadas para administración intravenosa para el tratamiento de cánceres asociados con la actividad del TLR7.
- [285] En una realización adicional, las composiciones farmacéuticas que contienen al menos un compuesto de Fórmula (I), son adaptadas para administración oral para el tratamiento de rechazo de injertos asociados con la actividad del TLR7.
- [286] En una realización adicional, las composiciones farmacéuticas que contienen al menos un compuesto de Fórmula (I), son adaptadas para administración oral para el tratamiento de enfermedades y/o desordenes genitourinarios asociados con la actividad del TLR7.
- [287] En una realización adicional, las composiciones farmacéuticas que contienen al menos un compuesto de Fórmula (I), son adaptadas para administración de gotas oculares para el

000082

tratamiento de enfermedades y/o desordenes oftalmológicos asociados con la actividad del TLR7.

- [288] En una realización adicional, las composiciones farmacéuticas que contienen al menos un compuesto de Fórmula (I), son adaptadas para administración tópica para el tratamiento de enfermedades y/o desordenes dermatológicos asociados con la actividad del TLR7.
- [289] En una realización adicional, las composiciones farmacéuticas que contienen al menos un compuesto de Fórmula (I), son adaptadas para administración tópica para el tratamiento de la queratosis actínica. En una realización adicional, las composiciones farmacéuticas que contienen al menos un compuesto de Fórmula (I), son adaptadas para administración tópica, como una crema, para el tratamiento de la queratosis actínica
- [290] En una realización adicional, las composiciones farmacéuticas que contienen al menos un compuesto de Fórmula (I), son adaptadas para administración tópica para el tratamiento del carcinoma basocelular. En una realización adicional, las composiciones farmacéuticas que contienen al menos un compuesto de Fórmula (I), son adaptadas para administración tópica, como una crema, para el tratamiento del carcinoma basocelular.
- [291] En una realización adicional, las composiciones farmacéuticas que contienen al menos un compuesto de Fórmula (I), son adaptadas para administración por inhalación para el tratamiento de enfermedades y/o desordenes respiratorios asociados con la actividad del TLR7. En ciertas realizaciones, la enfermedad respiratoria es asma alérgica.
- [292] En el presente documento se proporcionan compuestos de Fórmula (I), sales farmacéuticamente aceptable y solvatos de los mismos y composiciones farmacéuticas que contienen al menos un compuestos de Fórmula (I) y/o sales farmacéuticamente aceptables y solvatos de los mismos, para su uso en la inactivación de la actividad del TLR7, y por lo tanto son usados para la prevención o tratamiento de enfermedades y/o desordenes asociados con la actividad del TLR7. Tales compuestos de Fórmula (I), sales farmacéuticamente aceptables y solvatos de los mismos y composiciones farmacéuticas son agonistas del TLR7.
- [293] También se proporcionan en el presente documento métodos para el tratamiento de un sujeto que padece de una enfermedad y/o desorden asociado con la actividad del TLR7, en donde los métodos incluyen administrar al sujeto una cantidad efectiva de un compuesto de Fórmula (I) o sales farmacéuticamente aceptables, solvatos; ya sea solos o como parte de una composición farmacéutica, como se describe en el presente documento.

000083

[294] En el presente documento se proporcionan el uso de un compuesto de Fórmula (I), sal farmacéuticamente aceptable o solvatos de los mismos, en la preparación de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad o desorden asociado con la actividad del TLR7.

### *Combinaciones de tratamientos*

[295] En ciertas realizaciones, un compuesto de Fórmula (I), proporcionado en el presente documento, o una sal farmacéuticamente aceptable o un solvato de los mismos, o una composición farmacéutica que contiene al menos un compuesto de Fórmula (I), proporcionado en el presente documento, es administrado sólo (sin un agente terapéutico adicional) para el tratamiento de una o más de las enfermedades y/o desordenes asociados con las actividad del TLR7, como se describe en el presente documento.

[296] En otras realizaciones, En ciertas realizaciones, un compuesto de Fórmula (I), proporcionado en el presente documento, o una sal farmacéuticamente aceptable o un solvato de los mismos, o una composición farmacéutica que contiene al menos un compuesto de Fórmula (I), proporcionado en el presente documento, es administrado en combinación con uno o más agentes terapéuticos adicionales, para el tratamiento de una o más de las enfermedades y/o desordenes asociados con las actividad del TLR7, como se describe en el presente documento.

[297] En otras realizaciones, En ciertas realizaciones, un compuesto de Fórmula (I), proporcionado en el presente documento, o una sal farmacéuticamente aceptable o un solvato de los mismos, o una composición farmacéutica que contiene al menos un compuesto de Fórmula (I), proporcionado en el presente documento, es formulado en combinación con uno o más agentes terapéuticos adicionales, para el tratamiento de una o más de las enfermedades y/o desordenes asociados con las actividad del TLR7, como se describe en el presente documento.

[298] En un compuesto de Fórmula (I), proporcionado en el presente documento, o una sal farmacéuticamente aceptable o un solvato de los mismos, o una composición farmacéutica que contiene al menos un compuesto de Fórmula (I), proporcionado en el presente documento, es administrado secuencialmente con uno o más agentes terapéuticos adicionales, para el tratamiento de una o más de las enfermedades y/o desordenes asociados con las actividad del TLR7, como se describe en el presente documento.

[299] En otras realizaciones, las combinaciones de tratamientos, proporcionadas en el presente documento, incluyen la administración de un compuesto de Fórmula (I), en el presente

000084

documento, o una sal farmacéuticamente aceptable o un solvato de los mismos, o una composición farmacéutica que contiene un compuesto de Fórmula (I), antes de la administración de uno o más agentes terapéuticos adicionales, para el tratamiento de una o más de las enfermedades y/o desordenes asociados con las actividad del TLR7, como se describe en el presente documento.

[300] En otras realizaciones, las combinaciones de tratamientos, proporcionadas en el presente documento, incluyen la administración de un compuesto de Fórmula (I), en el presente documento, o una sal farmacéuticamente aceptable o un solvato de los mismos, o una composición farmacéutica que contiene un compuesto de Fórmula (I), después de la administración de uno o más agentes terapéuticos adicionales, para el tratamiento de una o más de las enfermedades y/o desordenes asociados con las actividad del TLR7, como se describe en el presente documento.

[301] En otras realizaciones, las combinaciones de tratamientos, proporcionadas en el presente documento, incluyen la administración de un compuesto de Fórmula (I), en el presente documento, o una sal farmacéuticamente aceptable o un solvato de los mismos, o una composición farmacéutica que contiene un compuesto de Fórmula (I), en forma concurrente a la administración de uno o más agentes terapéuticos adicionales, para el tratamiento de una o más de las enfermedades y/o desordenes asociados con las actividad del TLR7, como se describe en el presente documento.

[302] En ciertas realizaciones, las combinaciones de tratamientos, proporcionadas en el presente documento, incluyen la administración de un compuesto de Fórmula (I), en el presente documento, o una sal farmacéuticamente aceptable o un solvato de los mismos, o una composición farmacéutica que contiene un compuesto de Fórmula (I) formulado con uno o más agentes terapéuticos adicionales, para el tratamiento de una o más de las enfermedades y/o desordenes asociados con las actividad del TLR7, como se describe en el presente documento.

[303] En ciertas realizaciones, las combinaciones de tratamientos, proporcionadas en el presente documento, incluyen la administración de un compuesto de Fórmula (I), en el presente documento, o una sal farmacéuticamente aceptable o un solvato de los mismos, son agonistas de la actividad del TLR7.

[304] En ciertas realizaciones de las combinaciones de tratamientos, proporcionadas en el presente documento, incluyen la administración de un compuesto de Fórmula (I), en el presente documento, o una sal farmacéuticamente aceptable o un solvato de los mismos, y él

000085

o los agentes terapéuticos adicionales actúan aditivamente. En ciertas realizaciones de las combinaciones de tratamientos, proporcionadas en el presente documento, incluyen la administración de un compuesto de Fórmula (I), en el presente documento, o una sal farmacéuticamente aceptable y un solvato de los mismos, y él o los agentes terapéuticos adicionales actúan sinérgicamente.

[305] En otras realizaciones, un compuesto de Fórmula (I), proporcionado en el presente documento, o una sal farmacéuticamente aceptable o un solvato de los mismos, o una composición farmacéutica que contiene al menos un compuesto de Fórmula (I), es administrado a un paciente que no ha sido sometido o no está actualmente siendo sometido a tratamiento con otro agente terapéutico.

[306] Los agentes terapéuticos adicionales usados en combinación con al menos un compuesto de Fórmula (I), proporcionado en el presente documento, o una sal farmacéuticamente aceptable o un solvato de los mismos, incluyen, pero no están limitados a, agentes antibióticos o antibacterianos, agentes antieméticos, agentes antimicóticos, agentes antiinflamatorios, agentes antivirales, agentes inmunomoduladores, citoquinas, antidepresivos, hormonas, agentes alquilantes, antimetabolitos, antibióticos antitumorales, agentes antimitóticos, inhibidores de la topoisomerasa, agentes citostáticos, agentes anti-invasión, agentes antiangiogénicos, inhibidores de los inhibidores de la función de factor de crecimiento de la replicación viral, inhibidores de enzimas virales, antineoplásicos, interferón  $\alpha$ , interferones  $\beta$ , ribavirina, hormonas, citoquinas y otros moduladores de receptores tipo Toll.

[307] Los antibióticos o agentes antibacterianos usados en combinación con al menos un compuesto de Fórmula (I), proporcionado en el presente documento, o una sal farmacéuticamente aceptable o un solvato de los mismos, incluyen, pero no están limitados a, clorhidrato de valganciclovir, metronidazol, un betalactamo, macrólidos (tales como, sólo a modo de ejemplo, azitromicina, tobramicina (TOBI <sup>TM</sup>)), cefalosporinas (tales como, sólo a modo de ejemplo, cefaclor, cefadroxil, cefalexina, cefadrina, cefamandol, cefatrizina, cefazedona, cefixime, cefozopran, cefpimizol, cefuroxima, cefpiramida, cefprozil, cefpirome, KEFLEX <sup>TM</sup> VELOSEF <sup>TM</sup>, CEFTIN <sup>TM</sup>, CEFZIL <sup>TM</sup>, 2o <sup>TM</sup>, SUPRAX <sup>TM</sup> y DURICEF <sup>TM</sup>), una claritromicina (tal como, solo a manera de ejemplo, claritromicina y BIAXIN <sup>TM</sup>), una eritromicina (tal como, solo a manera de ejemplo, eritromicina y EMYCIN <sup>TM</sup>), ciprofloxacino, CIPRO <sup>TM</sup>, una norfloxacina (tal como, sólo a manera de ejemplo, NOROXIN <sup>TM</sup>), antibióticos aminoglucósidos (tal como, sólo a manera de ejemplo, apramicina, arbekacina, bambermicina, butirosina, dibekacina, neomicina, undecilenato, netilmicina, paromomicina, ribostamicina, sisomicina y espectinomicina), antibióticos

000086

anfenicoles (tal como, sólo a manera de ejemplo azidamfenicol, cloranfenicol, florfenicol y tiamfenicol), antibióticos tipo ansamicina (tal como, solo a manera de ejemplo rifampicina y rifamida), antibióticos tipo carbacefem (tal como, solo a manera de ejemplo, loracarbef), antibióticos tipo carbapenem (tal como, solo a manera de ejemplo, biapenem y imipenem), antibióticos tipo ertapenem (tal como, solo a manera de ejemplo, cefbuperazona, cefmetazola y cefminox), monobactámicos (tal como, sólo a manera de ejemplo, aztreonam, carumonam y el tigemonam), antibióticos tipo oxacefem (tal como, sólo a manera de ejemplo, flomoxef y moxalactam), penicilinas (tal como, sólo a manera de ejemplo amdinocilina, pivoxil amdinocilina, amoxicilina, bacampicilina, ácido benzilpenicilinaico, bencilpenicilina de sodio, epicilina, fenbenicilina, floxacilina, penamcilina, hidriodido de penetamato, penicilina o-benetamina, penicilina O, penicilina V, penicilina V benzatinica, penicilina V hidrabamina, penimepiciquina, potasio de fencihicilina, K V-CILLIN <sup>TM</sup> y PEN VEE K <sup>TM</sup>), lincosamida (tal como, sólo a manera de ejemplo, clindamicina y lincomicina), amfomicina, bacitracina, capreomicina, colistina, enduracidina, enviomicina, tetraciclinas (tal como, sólo a manera de ejemplo, apiciclina, clortetraciclina, clomociclinay demeclociclina), 2, 4-diaminopirimidinas (tal como, sólo a manera de ejemplo, brodimoprima), nitrofuranos (tal como, sólo a manera de ejemplo, furaltadonay cloruro de flurazolium), quinolonas y sus análogos (tal como, sólo a manera de ejemplo, fluoroquinolona, ofloxacino, cinoxacina, clinafloxacin, flumequina, grepagloxacina y FLOXIN <sup>TM</sup>), sulfonamidas (tal como, sólo a manera de ejemplo, acetil sulfametoxipirazina, benzilsulfamida, noprilsulfamida, ftalilsulfacetamida, sulfacrisoidina y sulfacitina), sulfonas (tal como, sólo a manera de ejemplo, diatimosulfona, glucosulfona de sodio y solasulfona), cicloserina, mupirocina, tuberina y combinaciones de los mismos.

[308] Los agentes antieméticos usados en combinación con al menos un compuesto de Fórmula (I), proporcionado en el presente documento, o una sal farmacéuticamente aceptable o un solvato de los mismos, incluyen, pero no está limitados a, metoclopromida, domperidona, proclorperazina, prometazina, clorpromazina, trimetobenzamida, ondansetrón, granisetrona, hidroxizina, acetilleucina monoetanolamina, alizaprida, azasetrona, benzquinamida, bietanautina, bromoprida, buclizina, cleboprida, ciclizina, dimenhidrinato, difenidol, dolasetron, meclizina, metalatal, metopimazina, nabilona, oxiperndila, pipamazina, escopolamina, sulpirida, tetrahidrocannabinolas, tietilperazina, tioproperazina, tropisetrona, y combinaciones de los mismos.

[309] Los agentes antimicóticos usados en combinación con al menos un compuesto de Fórmula (I), proporcionado en el presente documento, o una sal farmacéuticamente aceptable o un solvato de los mismos, incluyen, pero no está limitados a, amfotericina B, itraconazola, ketoconazola, fluconazola, fosfluconazola, intratecal, flucitosina, miconazola, butoconazola,

000087

itraconazola, clotrimazola, nistatina, terconazola, tioconazola, voriconazola, ciclopirox, econazola, haloprogrin, naftifina, terbinafina, undecilenato, y griseofulvina.

[310] Los agentes antiinflamatorios usados en combinación con al menos un compuesto de Fórmula (I), proporcionado en el presente documento, o una sal farmacéuticamente aceptable o un solvato de los mismos, incluyen, pero no están limitados a, fármacos antiinflamatorios no esteroideos tal como ácido salicílico, ácido acetilsalicílico, salicilato de metilo, diflunisal, salsalato, olsalazona, sulfasalazona, acetaminofen, indometacina, sulindac, etodolac, ácido mefenámico, meclofenamatode sodio, tolmetin, ketorolaco, diclofenaco, ibuprofeno, naproxeno, naproxeno de sodio, fenoprofeno, ketoprofeno, flurbiprofeno, oxaprozin, piroxicam, meloxicam, ampiroxicam, droxicam, pivoxicam, tenoxicam, nabumetona, fenilbutazona, oxifenbutazona, antipirona, aminopirona, apazonay nimesulida, antagonistas de leucotrieno incluyendo, pero no limitados a, zileuton, aurotioglucosa, tiomalato sódico de oro y auranofin, esteroides incluyendo, pero no limitados a, dipropionato de alclometasona, amcinonida, beclometasona dipropionato, betametasona, benzoato de betametasona, dipropionato de betametasona, betametasonafosfato sódico, betametasona valerato, propionato de clobetasol, pivalato de clocortolona, hidrocortisona, derivados de hidrocortisona, desonida, desoximetasona, dexametasona, flunisolida, fluocinolida, flurandrenolida, halcinocida, medrisona, metilprednisolona, acetato de metilprednisolona, succinato sódico de metilprednisolona, furoato de mometasona, acetato de parametasona, prednisolona, acetato de prednisolona, fosfato sódico de prednisolona, tebutato de prednisolona, prednisona, triamcinolona, acetónido de triamcinolona, diacetato de triamcinolona, y hexacetónido de triamcinolona y otros agentes antiinflamatorios incluyendo, pero no limitados a, metotrexato, colchicina, alopurinol, probenecid, talidomida o derivados de los mismos, ácido 5-aminosalicílico, retinoides, diltiazem o calcipotriol, sulfonamidas y benzbromarona.

[311] Los agentes antivirales usados en combinación con al menos un compuesto de Fórmula (I), proporcionado en el presente documento, o una sal farmacéuticamente aceptable o un solvato de los mismos, incluyen, pero no están limitados a, inhibidores de la proteasa, inhibidores nucleósidos/nucleótidos de la transcriptasa reversa (NRTIs), inhibidores de la transcriptasa inversa no nucleósidos (NNTR), antagonista de CCR1, antagonistas del CCR5 y análogos de nucleósidos. Los agentes antivirales incluyen, pero no están limitados a, fomivirsen, didanosina, lamivudina, estavudina, zalcitabina, zidovudina, aciclovir, famciclovir, valaciclovir, ganciclovir, valganciclovir, cidofovir, zanamivir, oseltamavir, vidarabina, idoxuridina, trifluridina, levovirina, iridovir y ribavirina, también como foscarnet, amantadina, rimantadina, saquinavir, indinavir, nelfinavir, amprenavir, lopinavir,

ritonavir, los  $\alpha$ -interferones;  $\beta$ -interferones; adefovir, clevadina, entecavir, pleconaril, VHC-086, EMZ702, emtricitabina, celgosivir, valopicitabina, inhibidores de la VHC proteasa, tal como BILN 2061, SCH-503034, ITMN-191 o VX-950, inhibidores de la NS5B polimerasa, tal como NM107 (y sus profármacos NM283), R1626, R7078, BILN1941, GSK625433, GILD9128 ó VHC-796, efavirenz, HBY-097, nevirapina, TMC-120 (dapivirina), TMC-125, BX-471, etravirina, delavirdina, DPC-083, DPC-961, capravirina, rilpivirina, 5-{[3,5-dietil-1-(2-hidroxietil)-1H-pirazol-4-il]oxi}isofalonitrilo, GW-678248, GW-695634, MIV-150, calanolida, TAK-779, SC-351125, ancriviroc, vicriviroc, maraviroc, PRO-140, aplaviroc 40, Ono-4128, AK-602), AMD-887 CMPD-167, metil 1-endo-{8-[(3S)-3-(acetilamino)-3-(3-fluorofenil)propil]-8-azabicyclo[3.-2.1]oct-3-il}-2-metil-4,5,6,7-tetrahidro-1H-imidazo[4,5-c]piridina-5-carboxilato, metil 3-endo-{8-[(3S)-3-(acetamido)-3-(3-fluorofenil)propil]-8-azabicyclo[3.2.-1]oct-3-il}-2-metil-4,5,6,7-tetrahidro-3H-imidazo[4,5-c]piridina-5-carboxilato, etil 1-endo-{8-[(3S)-3-(acetilamino)-3-(3-fluorofenil)propil]-8-azabicyclo[3.-2.1]oct-3-il}-2-metil-4,5,6,7-tetrahidro-1H-imidazo[4,5-c]piridina-5-carboxilato, y N-{(1S)-3-[3-endo-(5-Isobutiril-2-metil-4,5,6,7-tetrahidro-1H-imidazo[4,-5-c]piridin-1-il)-8-azabicyclo[3.2.1]oct-8-il]-1-(3-fluorofenil)propil}acetamida), BMS-806, BMS-488043, ácido carboxílico de 5-{(1S)-2-[(2R)-4-benzoil-2-metil-piperazin-1-il]-1-metil-2-oxo-etioxi}-4-metioxi-piridina-2-metilamida y 4-{(1S)-2-[(2R)-4-benzoil-2-metil-piperazin-1-il]-1-metil-2-oxo-etioxi}-3-metoxi-N-metil-benzamida, enfuvirtida (T-20), sifuvirtida SP-01A, T1249, PRO 542, AMD-3100, soluble CD4, inhibidores de HMG-CoA reductasa, atorvastatina, ácido de 3-O-(3'3'-dimetilsuccinil) betulico (también conocido como PA-457) y  $\alpha$ HGA.

- [312] Los agentes inmunomoduladores usados en combinación con al menos un compuesto de Fórmula (I), proporcionado en el presente documento, o una sal farmacéuticamente aceptable o un solvato de los mismos, incluyen, pero no están limitados a, azatioprina, tacrolimus, ciclosporina metotrexato, leflunomida, corticosteroides, ciclofosfamida, ciclosporina A, ciclosporina G, micofenolato mofetilo, ascomicina, rapamicina (sirolimus), FK-506, mizoribina, deoxiespergualina, malononitriloamindas, brequinar, ácido micofenólico (tal como, sólo a manera de ejemplo, leflunamida), moduladores de los receptores de las células T y moduladores de receptores de citoquinas, péptidos análogos y anticuerpos (tal como, sólo a manera de ejemplo, humano, humanizado, quimérico, monoclonales, policlonales, fragmentos Fvs, ScFv, Fab o F(ab)2 o fragmentos de unión de epítipo), moléculas de ácido nucleico (tal como, sólo a manera de ejemplo, moléculas de ácido nucleico antisentido, y hélices triples), pequeñas moléculas, compuestos orgánicos y compuestos inorgánicos. Ejemplos de moduladores de los receptores de las células T, incluyen, pero no están limitados a, anticuerpos anti-receptores de células T (tal como, sólo a manera de ejemplo, anticuerpos anti-CD4 (tal como, sólo a manera de ejemplo, cM-T412 (Boehringer), IDEC-CE9.1<sup>TM</sup> (IDEC y SKB), mAB 4162W94, Orthoclone y OKTcdr4a (Janssen-Cilag)), anticuerpos anti-

000089

CD3 (tal como, sólo a manera de ejemplo, Nuvion (Product Design Labs), OKT3 (Johnson & Johnson), o Rituxan (IDEC)), anticuerpos anti-CD5 (tal como, sólo a manera de ejemplo, un inmunoconjugado unido a ricina anti-CD5), anticuerpos anti-CD7 (tal como, sólo a manera de ejemplo, CHH-380 (Novartis)), anticuerpos anti-CD8, anticuerpos anti-ligando monoclonal CD40 (tal como, sólo a manera de ejemplo, IDEC-131 (IDEC)), anticuerpos anti-CD52 (tal como, sólo a manera de ejemplo, CAMPATH 1H (Ilex)), anticuerpos anti-CD2, anticuerpos anti-CD11 (tal como, sólo a manera de ejemplo, Xanelim (Genentech)), anticuerpos anti-CB7 (tal como, sólo a manera de ejemplo, IDEC-114 (IDEC)), CTLA4-immunoglobulina, y otros moduladores de receptores Toll (TLR). Ejemplos de moduladores de receptores de citoquina incluyen, pero no están limitados a, receptores de citoquina solubles (tal como, sólo a manera de ejemplo, el dominio extracelular de un receptor TNF- $\alpha$  o un fragmento del mismo, el dominio extracelular de un receptor IL-1 $\beta$  o un fragmento del mismo, el dominio extracelular de un receptor IL-6 o un fragmento del mismo), citoquinas o fragmentos de las mismas (tal como, sólo a manera de ejemplo, interleucina (IL)-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-11, IL-12, IL-15, TNF- $\alpha$ , interferón (IFN)- $\alpha$ , IFN- $\beta$ , IFN- $\gamma$ , y GM-CSF), anticuerpos anti-receptores de citoquina (tal como, sólo a manera de ejemplo, anticuerpos anti-receptores de IFN, anticuerpos anti-receptores de IL-2 (tal como, sólo a manera de ejemplo, Zenapax (Protein Design Labs)), anticuerpos anti-receptores de IL-4, anticuerpos anti-receptores de IL-6, anticuerpos anti-receptores de IL-10, y anticuerpos anti-receptores de IL-12), anticuerpos anti-citoquinas (tal como, sólo a manera de ejemplo, anticuerpos anti-IFN, anticuerpos anti-TNF- $\alpha$ , anticuerpos anti-IL-1 $\beta$ , anticuerpos anti-IL-6, anticuerpos anti-IL-8 (tal como, sólo a manera de ejemplo, ABX-IL-8 (Abgenix)), y anticuerpos anti-IL-12).

- [313] Las citoquinas o moduladores de la función de las citoquinas usados en combinación con al menos un compuesto de Fórmula (I), proporcionado en el presente documento, o una sal farmacéuticamente aceptable o un solvato de los mismos, incluyen, pero no están limitados a, interleucina-2 (IL-2), interleucina-3 (IL-3), interleucina-4 (IL-4), interleucina-5 (IL-5), interleucina-6 (IL-6), interleucina-7 (IL-7), interleucina-9 (IL-9), interleucina-10 (IL-10), interleucina-12 (IL-12), interleucina 15 (IL-15), interleucina 18 (IL-18), factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF), eritropoyetina (Epo), factor de crecimiento epidérmico (EGF), factor de crecimiento de fibroblastos (FGF), factor estimulante de macrófagos de granulocitos (GM-CSF), factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF), factor estimulante de colonias de macrófagos (M-CSF), prolactina, alfa, beta y gamma-interferón, el interferón  $\beta$ -1a, interferón  $\beta$ -1b, interferón  $\alpha$ -1, interferón  $\alpha$ -2a (roferon), interferón  $\alpha$ -2b, Interferón pegilado (a modo de ejemplo solamente, peginterferón  $\alpha$ -2a y peginterferón  $\alpha$ -2b), intrón, Peg-Intron, Pegasys, interferón de consenso (infergen), albúmina-interferón  $\alpha$  y albuferon.

000090

[314] Los antidepresivos usados en combinación con al menos un compuesto de Fórmula (I), proporcionado en el presente documento, o una sal farmacéuticamente aceptable o un solvato de los mismos, incluyen, pero no está limitados a, binadalina, caroxazona, citalopram, dimetazan, fencamina, indalpina, clorhidrato de indeloxazina, nefopam, nomifensina, oxitriptan, oxipertina, paroxetina, sertralina, tiazesim, trazodona, benmoxina, yoduro de equinopsidina, etriptamina, iproclozida, iproniazida, isocarboxazida, mebanazina, metfendrazina, nialamida, pargilina, octamoxina, fenelzina, feniprazina, fenoxipropazina, pivhidrazina, safrazina, selegilina, l-deprenilo, cotinina, roliciprina, rolipram, maprotilina, metralindolo, mianserin, mirtazepina, adinazolam, amitriptilina, amitriptilinoxido, amoxapina, butriptilina, clomipramina, demexiptilina, desipramina, dibenzepina, dimetacrina, dotiepina, doxepina, fluacizina, imipramina, N-oxido de imipramina, iprindolo, lofepramina, melitracen, metapramina, nortriptilina, noxiptilina, opipramol, pizotilina, propizepina, protriptilina, quinupramina, tianeptina, trimipramina, adrafinil, benactizina, bupropion, butacetina, dioxadrol, duloxetina, etoperidona, febarbamate, femoxetina, fenpentadiol, fluoxetina, fluvoxamina, hematoporfirina, hipericina, levofacetoperano, medifoxamina, milnacipran, minaprina, moclobemida, nefazodona, oxaflozano, piberalina, prolintano, pirisuccideanol, ritanserina, roxindolo, cloruro de rubidium, sulpirida, tandospirona, tozalinona, tofenacina, toloxatona, tranilcipromina, L-triptofano, venlafaxina, viloxazina, y zimeldina.

[315] En ciertas realizaciones, los antidepresivos usados en combinación al menos un compuesto de Fórmula (I), proporcionado en el presente documento, o una sal farmacéuticamente aceptable o un solvato de los mismos, son inhibidores MAO, incluyendo, pero no limitados a, benmoxina, yoduro de equinopsidina, etriptamina, iproclozida, iproniazida, isocarboxazida, mebanazina, metfendrazina, moclobamida, nialamida, pargilina, fenelzina, feniprazina, fenoxipropazina, pivhidrazina, safrazina, selegilina, l-deprenilo, toloxatona y tranilcipromina.

[316] Las hormonas usadas con al menos un compuesto de Fórmula (I), proporcionado en el presente documento, o una sal farmacéuticamente aceptable o un solvato de los mismos incluyen, pero no está limitados a, hormona liberadora de la hormona luteinizante (LHRH), hormona de crecimiento (GH), hormona liberadora de la hormona de crecimiento, ACTH, somatostatina, somatotropina, somatomedina, hormona paratiroidea, factores de liberación hipotalámicos, insulina, glucagón, encefalinas, vasopresina, calcitonina, heparina, heparina de bajo peso molecular, heparinoides, timoestimulina, opiáceos sintéticos y naturales, insulina, hormonas estimulantes de la tiroides y endorfinas.

000091

[317] Los agentes alquilantes usados con al menos un compuesto de Fórmula (I), proporcionado en el presente documento, o una sal farmacéuticamente aceptable o un solvato de los mismos incluyen, pero no está limitados a, mostazas de nitrógeno, etileniminas, metilmelaminas, sulfonatos de alquilo, nitrosoureas, carmustina, lomustina, triazenos, melfalán, mecloretamina, cis-platino, oxaliplatino, carboplatino, ciclofosfamida, ifosfamida, melfalán, clorambucil, hexametilmelaina, tiotepa, busulfan, carmustina, estreptozocina, dacarbazina y temozolomida.

[318] Los antimetabolitos usados con al menos un compuesto de Fórmula (I), proporcionado en el presente documento, o una sal farmacéuticamente aceptable o un solvato de los mismos incluyen, pero no está limitados a, citarabino, gemcitabina y antifolatos tal como, sólo a manera de ejemplo, fluoropirimidinas (tal como, sólo a manera de ejemplo, 5-fluorouracil y tegafur), raltitrexed, methotrexato, citosina arabinosida, e hidroxiurea.

[319] Los antibióticos antitumorales usados con al menos un compuesto de Fórmula (I), proporcionado en el presente documento, o una sal farmacéuticamente aceptable o un solvato de los mismos incluyen, pero no está limitados a, antraciclinas, bleomicina, doxorubicina, daunomicina, epirubicina, idarubicina, mitomicina-C, dactinomicina y mitramicina.

[320] Los agentes antimicóticos usados con al menos un compuesto de Fórmula (I), proporcionado en el presente documento, o una sal farmacéuticamente aceptable o un solvato de los mismos incluyen, pero no está limitados a, alcaloides de la vinca (sólo a manera de ejemplo, vincristina, vinblastina, vindesina y vinorelbina), taxoides (sólo a manera de ejemplo, taxol, paclitaxel y taxotero) e inhibidores de la poloquinasa.

[321] Los inhibidores de topoisomerasas usados con al menos un compuesto de Fórmula (I), proporcionado en el presente documento, o una sal farmacéuticamente aceptable o un solvato de los mismos incluyen, pero no está limitados a epipodofilotoxinas, sólo a manera de ejemplo, etoposida y teniposida, amsacrina, topotecán, irinotecán y camptotecina.

[322] Los agentes citostáticos usados con al menos un compuesto de Fórmula (I), proporcionado en el presente documento, o una sal farmacéuticamente aceptable o un solvato de los mismos incluyen, pero no está limitados a antiestrógenos (tales como, sólo a manera de ejemplo, tamoxifen, fulvestrant, toremifeno, raloxifeno, droloxifeno y iodoxifeno), antiandrógenos (tales como, sólo a manera de ejemplo, bicalutamida, flutamida, nilutamida, acetato de ciproterona), antagonistas LHRH o agonistas LHRH (tales como, sólo a manera de ejemplo, goserelina, leuprorelina, leuprolide y buserelina), progestágenos (tales como, sólo a manera de ejemplo, acetato de megestrol), inhibidores de la aromatasa (tales como, sólo a

manera de ejemplo, como anastrozol, letrozol, vorazol y exemestano) e inhibidores de la 5 $\alpha$ -reductasa (tales como, sólo a manera de ejemplo, finasterida).

[323] Los agentes “anti-invasión” usados con al menos un compuesto de Fórmula (I), proporcionado en el presente documento, o una sal farmacéuticamente aceptable o un solvato de los mismos incluyen, pero no están limitados a los inhibidores de la familia de la c-Src quinasa (tales como, sólo a manera de ejemplo, 4-(6-cloro-2,3- metilenedioxianilino)-7-[2-(4-metilpiperazin-1-il)etoxi]-5-tetrahidropiran-4- iloxiquinazolina (AZD0530) y N-(2- cloro-6-metilfenil)-2-{6-[4-(2-hidroxietil)piperazin-1-il]-2-metilpirimidin-4- ilamino}tiazole-5-carboxamida (dasatinib, BMS-354825)), y inhibidores de metaloproteínasa (tales como, sólo a manera de ejemplo, marimastat, inhibidores de la función del receptor del activador plasminógeno de la uroquinasa, y anticuerpos para Heparanasa).

[324] Los agentes antiangiogénicos usados con al menos un compuesto de Fórmula (I), proporcionado en el presente documento, o una sal farmacéuticamente aceptable o un solvato de los mismos incluyen, pero no están limitados a aquellos que inhiben los efectos del factor de crecimiento endotelial vascular, tal como, sólo a manera de ejemplo, anticuerpo anti-factor de crecimiento de células endoteliales vasculares bevacizumab (AVASTIN™) y los inhibidores de los receptores del VEGF de la tirosina quinasa, tal como 4-(4-bromo-2-fluoroanilino)-6-metoxi-7-(1-metilpiperidin-4-ilmetoxi)quinazolina (ZD6474), 4-(4-fluoro-2-metilindol-5-iloxi)-6-metoxi-7-(3-pirrolidin-1 - ilpropoxi) quinazolina (AZD2171), vatalanib (PTK787) y SU1 1248 (sunitinib), linomida y los inhibidores de la función de la integrina  $\alpha\text{v}\beta 3$  y angiostatina.

[325] Los factores de la función del factor de crecimiento usados con al menos un compuesto de Fórmula (I), proporcionado en el presente documento, o una sal farmacéuticamente aceptable o un solvato de los mismos incluyen, pero no están limitados a, anticuerpos del factor de crecimiento y anticuerpos del receptor de factor de crecimiento (tal como, sólo a manera de ejemplo, el anticuerpo anti-erbB2 trastuzumab (HERCEPTIN™), el anticuerpo anti-EGFR panitumumab, el anticuerpo anti-erbB1 cetuximab (Erbix, C225), inhibidores de la tirosina-quinasa, tales como, sólo a manera de ejemplo, inhibidores del factor de crecimiento epidérmico (por ejemplo, los inhibidores tirosina-quinasa de la familia EGFR, tal como, sólo a manera de ejemplo, N-(3-cloro-4-fluoropenil)-7-metoxi-6-(3-orpolinopropoxi)quinazolin-4-amina (gefitinib, ZD1 839), N-(3-etinilfenil)-6,7-bis(2-metoxietoxi)quinazolin-4-amina (erlotinib, OSI-774) y 6-acrilamido-N-(3-cloro-4-fluorofenil)-7-(3- morfolinopropoxi)-quinazolin-4-amina (CI 1033), inhibidores de la tirosina-quinasa erbB2 tal como, sólo a manera de ejemplo, lapatinib, inhibidores de la familia de factores de crecimiento de los

000093

hepaticitos, inhibidores de la familia de factores de crecimiento derivados de plaquetas, tal como, imatinib, GLEEVEC™, inhibidores de las serina/treoninaquinasas (tal como, sólo a manera de ejemplo, inhibidores de la señalización Ras/Raf, tal como los inhibidores de la farnisil transferasa, por ejemplo sorafenib (BAY 43-9006)), inhibidores de la señalización en células a través de MEK y/o inhibidores de las AKT quinases, inhibidores de la familia de factores de crecimiento de los hepaticitos, inhibidores c-kit, inhibidores de la abl quinasa, receptor IGF (factor de crecimiento tipo inulina) inhibidores de quinasa; inhibidores de aurora quinasa (por ejemplo AZD1152, PH739358, VX-680, MLv8054, R763, MP235, MP529, VX-528 y AX39459) y inhibidores de quinases dependientes de ciclina, tal como, CDK2 y/o inhibidores CDK4.

[326] En otras realizaciones, al menos un compuesto de Fórmula (I), proporcionado en el presente documento, o una sal farmacéuticamente aceptable o un solvato de los mismos, son usados en combinación con agentes de daño vascular, tal como, sólo a manera de ejemplo, Combretastatin A4.

[327] En otras realizaciones, al menos un compuesto de Fórmula (I), proporcionado en el presente documento, o una sal farmacéuticamente aceptable o un solvato de los mismos, son usados en combinación con terapias antisentido, tal como, sólo a manera de ejemplo, ISIS 2503, un antisentido anti-ras.

[328] En otras realizaciones, al menos un compuesto de Fórmula (I), proporcionado en el presente documento, o una sal farmacéuticamente aceptable o un solvato de los mismos, son usados en combinación con métodos de terapia génica, incluyendo por ejemplo métodos para reemplazar genes aberrantes, tales como, p53 o aberrante BRCA1 ó BRCA2; el método GDEPT (gen de enzima dirigido en terapia con profármacos), tal como aquellos que usan citosina-deaminasa, timidinkinasa, o una nitroreductasa bacteriana y métodos para aumentar la tolerancia de los pacientes a la quimioterapia o la radioterapia, tal como en la terapia génica para la resistencia a múltiples medicamentos.

[329] En otras realizaciones, al menos un compuesto de Fórmula (I), proporcionado en el presente documento, o una sal farmacéuticamente aceptable o un solvato de los mismos, son usados en combinación con métodos de inmunoterapia, incluyendo por ejemplo, métodos *ex-vivo* e *in-vivo* para aumentar la inmunogenicidad de los pacientes con células tumorales; tal como, la transfección con citoquinas, tal como, interleucina-2 o interleucina-4 o factor estimulante de colonias granulocitos-macrófagos, métodos para disminuir la energía de las células T, métodos que usan células inmunes transfectadas, tal como, células dendríticas

000094

transfectadas con citoquina, métodos que usan líneas celulares tumorales transfectadas con citoquinas y métodos que usan anticuerpos anti-idiotipicos.

[330] En otras realizaciones, al menos un compuesto de Fórmula (I), proporcionado en el presente documento, o una sal farmacéuticamente aceptable o un solvato de los mismos, son usados en combinación con otros métodos de tratamiento que incluyen, pero no están limitados a, cirugía y radioterapia (radiación  $\gamma$ , radioterapia de haz de neutrones, radioterapia de haz de electrones, la terapia con protones, braquiterapia y isótopos radiactivos sistémicos).

[331] En otras realizaciones, al menos un compuesto de Fórmula (I), proporcionado en el presente documento, o una sal farmacéuticamente aceptable o un solvato de los mismos, son usados en combinación con potenciador de la absorción, que incluyen, pero no están limitados a, glicocolato de sodio, caprato de sodio, N-lauril- $\beta$ -D-maltopiranosida, EDTA, micelas mixtas. En ciertas realizaciones, tales potenciadores de la absorción se focalizan en el sistema linfático.

[332] En ciertas realizaciones, el o los agentes terapéuticos son usados en las terapias de combinación descritas en el presente documento, pero no están limitadas a, agentes tales como, inhibidores del factor de necrosis tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ) (tal como los anticuerpos monoclonales anti-TNF (sólo a manera de ejemplo, Remicade, CDP-870 y adalimumab) y moléculas de inmunoglobulina para receptor TNF (sólo a manera de ejemplo, Enebre); inhibidores no selectivos de la ciclo-oxigenasa COX-1/COX-2 (sólo a manera de ejemplo, piroxicam, diclofenaco, ácidos propionicos tales como, naproxeno, flubiprofeno, fenoprofeno, ketoprofeno, ibuprofeno, fenamatos, tales como, ácido mefenámico, indometacina, sulindac, azapropazona, pirazolonas, tales como, fenilbutazona, salicilatos, talnes como, aspirina), inhibidores de COX-2 (sólo a manera de ejemplo, meloxicam, celecoxib, rofecoxib, valdecoxib, lumarocoxib, parecoxib y etoricoxib); glucocorticoesteroides; metotrexato, lefunomida; hidroxiclороquina, d-penicilamina, auranofin u otras preparaciones parenterales u orales de oro.

[333] En otras realizaciones, las combinaciones descritas en el presente documento, incluyen combinaciones de un compuesto de Fórmula (I), proporcionado en el presente documento, o una sal farmacéuticamente aceptable o un solvato de los mismos con inhibidores de la síntesis de leucotrieno, inhibidor de la 5-lipoxigenasa (5-LO) o proteína activante de la 5-lipoxigenasa (FLAP) antagonistas tales como; zileuton; ABT-761; fenleuton; tepoxalina; Abbott-79175; Abbott-85761; una N-(5-substituido)-tiofeno-2-alkilsulfonamida; 2,6-di-tert-butilfenolhidrazonas; un metoxitetrahidropirano, tal como, Zenoca ZD-2138; el compuesto

000095

SB-210661; un compuesto de 2-cianonaftalenopiridinil-substituido, tal como, L-739,010; un compuesto de 2- cianoquinolina, tal como, L-746,530; o un compuesto de indolo o quinolina, tal como, MK-591, MK-886, y BAYx1005.

[334] En otras realizaciones, las combinaciones descritas en el presente documento, incluyen combinaciones de un compuesto de Fórmula (I), proporcionado en el presente documento, o una sal farmacéuticamente aceptable o un solvato de los mismos con un antagonista de los receptores para leucotrienos ((LT B<sub>4</sub>, LTC<sub>4</sub>, LTD<sub>4</sub>, y LTE<sub>4</sub>) seleccionados de un grupo que consiste en fenotiazin-3-Is, tal como, L-651,392; compuestos de amidino, tales como, CGS-25019c; benzoxalaminas, tales como, ontazolast; benzenecarboximidamidas, tales como, BIIL 284/260; y compuestos tales como zafirlukast, ablukast, montelukast, SINGULAIR™, pranlukast, verlukast (MK-679), RG-12525, Ro-245913, iralukast (CGP 45715A), y BAYx7195.

[335] En otras realizaciones, las combinaciones descritas en el presente documento, incluyen combinaciones de un compuesto de Fórmula (I), proporcionado en el presente documento, o una sal farmacéuticamente aceptable o un solvato de los mismos con un inhibidor de fosfodiesterasa (PDE), tal como, metilxantánina, incluyendo teofilina y aminofilina; un inhibidor selectivo de una isoenzima de PDE incluyendo un inhibidor de PDE<sub>4</sub>, incluyendo, pero no limitado a, cilomilast o roflumilast, un inhibidor de la isoforma PDE<sub>4D</sub>, o un inhibidor de PDE<sub>5</sub>.

[336] En otras realizaciones, las combinaciones descritas en el presente documento, incluyen combinaciones de un compuesto de Fórmula (I), proporcionado en el presente documento, o una sal farmacéuticamente aceptable o un solvato de los mismos con un antagonista de un receptor tipo 1 de histamina, tal como, cetirizina, loratadina, desloratadina, fexofenadina, acrivastina, terfenadina, astemizol, azelastina, levocabastina, clorfeniramina, prometazina, ciclizina, o mizolastina.

[337] En otras realizaciones, las combinaciones descritas en el presente documento, incluyen combinaciones de un compuesto de Fórmula (I), proporcionado en el presente documento, o una sal farmacéuticamente aceptable o un solvato de los mismos con un antagonista de un receptor tipo 4 de histamina gastroprotectora. En otras realizaciones, las combinaciones descritas en el presente documento, incluyen combinaciones de un compuesto de Fórmula (I), proporcionado en el presente documento, o una sal farmacéuticamente aceptable o un solvato de los mismos, descritos en el presente documento, con un un antagonista de un receptor tipo 4 de histamina.

000096

- [338] En otras realizaciones, las combinaciones descritas en el presente documento, incluyen combinaciones de un compuesto de Fórmula (I), proporcionado en el presente documento, o una sal farmacéuticamente aceptable o un solvato de los mismos con un agente simpatomimético vasoconstrictor agonista de los adrenoreceptores alfa-1/alfa-2, tal como, propilhexedrina, fenilefrina, fenilpropanolamina, efedrina, pseudoefedrina, clorhidrato de nafazolina, clorhidrato de oximetazolina, clorhidrato de tetrahidrozolina, clorhidrato de xilometazolina, clorhidrato de tramazolina ó clorhidrato de etilnorepinafrina.
- [339] En otras realizaciones, las combinaciones descritas en el presente documento, incluyen combinaciones de un compuesto de Fórmula (I), proporcionado en el presente documento, o una sal farmacéuticamente aceptable o un solvato de los mismos con un agente anticolinérgico, incluyendo antagonistas de receptores muscarínicos (M1, M2, y M3), tales como, atropina, hioscina, glicopirrolato, bromuro de ipratropium, bromuro de tiotropium, bromuro de oxitropium, pirenzepina o telenzepina.
- [340] En otras realizaciones, las combinaciones descritas en el presente documento, incluyen combinaciones de un compuesto de Fórmula (I), proporcionado en el presente documento, o una sal farmacéuticamente aceptable o un solvato de los mismos con un agonista de adrenoreceptores beta (incluyendo receptores beta subtipos 1-4), tal como, isoprenalina, salbutamol, albuterol, formoterol, salmeterol, terbutalina, orciprenalina, mesilato de bitolterol, y pirbuterol.
- [341] En otras realizaciones, las combinaciones descritas en el presente documento, incluyen combinaciones de un compuesto de Fórmula (I), proporcionado en el presente documento, o una sal farmacéuticamente aceptable o un solvato de los mismos con una cromona, tal como, cromoglicato de sodio o nedocromil sódico.
- [342] En otras realizaciones, las combinaciones descritas en el presente documento, incluyen combinaciones de un compuesto de Fórmula (I), proporcionado en el presente documento, o una sal farmacéuticamente aceptable o un solvato de los mismos con un mimético del factor de crecimiento insulínico tipo 1 (IGF-I).
- [343] En otras realizaciones, las combinaciones descritas en el presente documento, incluyen combinaciones de un compuesto de Fórmula (I), proporcionado en el presente documento, o una sal farmacéuticamente aceptable o un solvato de los mismos con un glucocorticoide, tal como, flunisolida, acetonida de triamcinolona, dipropionato de beclometasona, budesonida, propionato de fluticasona, ciclesonida o furoato de mometasona.

000097

[344] En otras realizaciones, las combinaciones descritas en el presente documento, incluyen combinaciones de un compuesto de Fórmula (I), proporcionado en el presente documento, o una sal farmacéuticamente aceptable o un solvato de los mismos con un inhibidor de metaloproteinasas de la matriz extracelular (MMPs), i.e., las estromelisinas, las colagenasas, y las gelatinasas, también como aggrecanasa; especialmente colagenasa-1 (MMP-I), colagenasa-2 (MMP-8), colagenasa-3 (MMP-13), estromelisina-1 (MMP-3), estromelisina-2 (MMP-10), y estromelisina-3 (MMP-11) y MMP-9 y MMP-12.

[345] En otras realizaciones, las combinaciones descritas en el presente documento, incluyen combinaciones de un compuesto de Fórmula (I), proporcionado en el presente documento, o una sal farmacéuticamente aceptable o un solvato de los mismos con moduladores de la función del receptor de la quemoquina, tales como, antagonistas de CCR1, CCR2, CCR2A, CCR2B, CCR3, CCR4, CCR5, CCR6, CCR7, CCR8, CCR9, CCR10 y CCR11 (para la familia C-C); CXCR1, CXCR2, CXCR3, CXCR4 y CXCR5 (para la familia C-X-C) y CX3CR1 para la familia C-X3-C.

[346] En otras realizaciones, las combinaciones descritas en el presente documento, incluyen combinaciones de un compuesto de Fórmula (I), proporcionado en el presente documento, o una sal farmacéuticamente aceptable o un solvato de los mismos con una inmunoglobulina (Ig), gamaglobulina, preparación de Ig o un antagonista o anticuerpo modulador de la función de Ig, tal como, anti-IgE (omalizumab).

#### ***Compuestos de Fórmula (I) como Inmunopotenciadores***

[347] En ciertas realizaciones, las combinaciones descritas en el presente documento, incluyen combinaciones de un compuesto de Fórmula (I), proporcionado en el presente documento, o una sal farmacéuticamente aceptable o un solvato de los mismos, son composiciones inmunogénicas. En ciertas realizaciones, tales composiciones inmunogénicas son útiles como vacunas. En ciertas realizaciones, tales vacunas son profilácticas (i.e., para evitar la infección), mientras que en otras realizaciones, tales vacunas son terapéuticas (i.e., para tratar la infección).

[348] En otras realizaciones, las combinaciones descritas en el presente documento, incluyen combinaciones de un compuesto de Fórmula (I), proporcionado en el presente documento, o una sal farmacéuticamente aceptable o un solvato de los mismos, son inmunopotenciadores e imparten un efecto inmunoestimulante tras su administración en comparación con las formulaciones inmunogénicas que no contengan compuesto(s) de fórmula (I). En ciertas realizaciones, compuestos de fórmula (I) imparten un efecto de inmunoestimulante tras su

000098

administración cuando se incluyen en una composición inmunogénica que tiene uno o más agentes inmunoreguladores, mientras que en otras realizaciones, compuestos de fórmula (I) imparten un efecto de inmunoestimulante tras su administración cuando se incluyen en una composición inmunogénica sin la presencia de otros agentes regulatorios.

[349] El efecto inmunoestimulante al que se hace referencia en el presente documento, es a menudo un aumento del efecto de la composición inmunogénica. En ciertas realizaciones el aumento de la eficacia de la composición inmunogénica es por lo menos un 10% respecto al efecto de la composición inmunogénica en ausencia del potenciador inmune. En ciertas realizaciones, el aumento de la eficacia de la composición inmunogénica es por lo menos el 20% respecto al efecto de la composición inmunogénica en ausencia del potenciador inmune. En ciertas realizaciones, el aumento de la eficacia de la composición inmunogénica es por lo menos un 30% respecto al efecto de la composición inmunogénica en ausencia del potenciador inmune. En ciertas realizaciones, el aumento de la eficacia de la composición inmunogénica es por lo menos el 40% respecto al efecto de la composición inmunogénica en ausencia del potenciador inmune. En ciertas realizaciones, el aumento de la eficacia de la composición inmunogénica es por lo menos el 50% respecto al efecto de la composición inmunogénica en ausencia del potenciador inmune. En ciertas realizaciones, el aumento de la eficacia de la composición inmunogénica es por lo menos el 60% respecto al efecto de la composición inmunogénica en ausencia del potenciador inmune. En ciertas realizaciones, el aumento de la eficacia de la composición inmunogénica es por lo menos el 70% respecto al efecto de la composición inmunogénica en ausencia del potenciador inmune. En ciertas realizaciones, el aumento de la eficacia de la composición inmunogénica es por lo menos el 80% respecto al efecto de la composición inmunogénica en ausencia del potenciador inmune. En ciertas realizaciones, el aumento de la eficacia de la composición inmunogénica es por lo menos el 90% respecto al efecto de la composición inmunogénica en ausencia del potenciador inmune. En ciertas realizaciones, el aumento de la eficacia de la composición inmunogénica es por lo menos el 100% respecto al efecto de la composición inmunogénica en ausencia del potenciador inmune.

[350] En ciertas realizaciones, el aumento del efecto de la composición inmunogénica se mide por el aumento de la efectividad de la composición inmunogénica para lograr sus efectos protectores. En ciertas realizaciones, este aumento de la efectividad se mide como una probabilidad menor de que un sujeto recibiendo la composición inmunogénica experimente una condición para que la composición inmunogénica se considere protectora, o una disminución en la duración o gravedad de los efectos de tal condición. En ciertas

000099

realizaciones, este aumento de la efectividad se mide como un aumento de un título del anticuerpo provocado por la composición inmunogénica en un sujeto que ha sido tratado.

[351] Junto con uno o más compuestos de Fórmula (I), proporcionado en el presente documento, o una sal farmacéuticamente aceptable o un solvato de los mismos, tales composiciones inmunogénica incluyen una cantidad efectiva de uno o más antígenos y un vehículo farmacéuticamente aceptable. Tales vehículos incluyen, pero no están limitados a, proteínas, polisacáridos, ácidos polilácticos, ácidos poliglicólicos, aminoácidos poliméricos, aminoácido de copolímeros, sacarosa, trehalosa, lactosa, agregados de lípidos (como gotitas de aceite o liposomas) y partículas del virus inactivo. Las composiciones inmunogénicas normalmente también contienen diluyentes, tales como agua, soluciones salinas y glicerol y opcionalmente contienen otros excipientes, como agentes humectantes o emulsionantes y sustancias tamponadoras.

[352] En ciertas realizaciones, las composiciones inmunogénicas opcionalmente incluyen a uno o más agentes regulatorios. En ciertas realizaciones, uno o más de los agentes inmunoreguladores incluyen uno o más adyuvantes. Tales adyuvantes incluyen, pero no están limitados a, un adyuvante TH1 y/o un coadyuvante TH2, sobre los que se discute más adelante. En ciertas realizaciones, los adyuvantes usados en composiciones inmunogénicas proporcionados en el presente documento, incluyen, pero no están limitados a:

- A. Composiciones que contienen minerales;
- B. Emulsiones de aceite;
- C. Formulaciones de saponinas;
- D. Virosomas y partículas tipo virus;
- E. Derivados bacterianos o microbianos;
- F. Inmunomoduladores humanos;
- G. Bioadhesivos y Mucoadhesivos,
- H. Micropartículas;
- I. Liposomas;

000100

J. Formulaciones de Éter de polioxietileno y Éster de polioxietileno;

K. Polifosfaceno (PCPP);

L. Péptidos de muramilo, y

M. Compuestos de Imidazoquinolona.

[353] Composiciones que contienen minerales, adecuadas para su uso como adyuvantes incluyen, pero están limitadas a, sales minerales, tales como sales de aluminio y sales de calcio. Sólo a modo de ejemplo, dichas sales minerales incluyen, hidróxidos (por ejemplo, oxihidróxidos, incluyendo hidróxidos de aluminio y oxihidróxidos de aluminio), fosfatos (por ejemplo, hidroxifosfatos y ortofosfatos, incluyendo fosfatos de aluminio, hidroxifosfatos de aluminio, ortofosfatos de aluminio y fosfato de calcio), sulfatos (e.g., sulfato de aluminio) o mezclas de diferentes compuestos minerales. Tales sales minerales están en cualquier forma adecuada, tales como, sólo a modo de ejemplo, gel, formas cristalinas y amorfas. En ciertas realizaciones, tales composiciones que contienen minerales están formuladas como una partícula de la sal metálica. En ciertas realizaciones, componentes de las composiciones inmunogénicas, descritos en el presente documento, son adsorbidos por tales sales minerales. En ciertas realizaciones, un adyuvante de hidróxido de aluminio y/o fosfato de aluminio se utiliza en las composiciones inmunogénica descritas en el presente documento. En otras realizaciones, antígenos utilizados en una composición inmunogénica, descrita en el presente documento, son adsorbidos en tales adyuvantes de hidróxido de aluminio y/o fosfato de aluminio. En ciertas realizaciones, un adyuvante de fosfato de calcio es utilizado en las composiciones inmunogénicas, descritas en el presente documento. En otras realizaciones, antígenos utilizados en una composición inmunogénica, descrita en el presente documento, son adsorbidos en tales adyuvantes de fosfato de calcio.

[354] En ciertas realizaciones, fosfatos de aluminio son usados como un adyuvante en las composiciones inmunogénicas, descritas en el presente documento. En otras realizaciones, fosfatos de aluminio se utilizan como un adyuvante en las composiciones inmunogénicas, descritas en el presente documento, en donde tales composiciones incluyen un antígeno de sacárido *H.influenzae*. En ciertas realizaciones, el adyuvante es hidroxifosfato de aluminio amorfo con una razón molar de  $\text{PO}_4/\text{Al}$  entre 0,84 y 0,92, incluida a 0,6 mg  $\text{Al}^{+3}/\text{ml}$ . En otras realizaciones, se usa una adsorción con una dosis baja de fosfato de aluminio, sólo a modo de ejemplo, entre 50 y 100  $\mu\text{g}$  de  $\text{Al}^{+3}$  por conjugado por dosis. En una composición donde hay más de un conjugado, no todos los conjugados necesitan ser adsorbidos.

000101

[355] Aceite de emulsiones adecuado para su uso como adyuvantes incluyen, pero no están limitados a, emulsiones de escualeno-agua (tales como MF59 (5% escualeno, 0,5% Tween80 y 0,5% Span 85, formulado en partículas de submicrónicas utilizando un microfluidizador), adyuvante completo de Freund (CFA) y adyuvante incompleto de Freund (IFA).

[356] Las saponinas son un grupo heterólogo de glicósidos de esteroides y glicósidos triterpenoides que se encuentran en la corteza, hojas, tallos, raíces y e incluso flores de una amplia gama de especies vegetales. Las formulaciones de saponina adecuadas para su uso como adyuvantes incluyen, pero están limitadas a, saponinas de la corteza del árbol Quillay, de *Smilax ornata* (zarzaparilla), *Gypsophilla paniculata* (velo de novia) y *Saponaria officianalis* (raíz de jabón). En ciertas realizaciones, formulaciones de saponina adecuadas para utilizar como adyuvantes incluyen, pero no están limitadas a, formulaciones purificadas que incluyen, pero no están limitadas a, QS7, QS17, QS18, QS21, QH-A, QH-B y QH-C. QS21 es comercializado como STIMULOM™. En otras realizaciones, formulaciones de saponina incluyen esteroides, colesterol y formulaciones de lípidos, tales como partículas únicas formadas por la combinación de saponinas y colesterol llamados complejos inmunoestimulantes (ISCOMs). En ciertas realizaciones, los ISCOMs también incluyen un fosfolípido, tal como, fosfatidiletanolamina o fosfatidilcolina. Puede utilizarse cualquier saponina conocida en los ISCOMs. En ciertas realizaciones, el ISCOM incluye uno o más de QuilA, QHA & QHC. En otras realizaciones, los ISCOMS están opcionalmente desprovistos de un detergente adicional.

[357] Los virosomas y partículas tipo virus (VLPs) adecuadas para su uso como adyuvantes incluyen, pero no se limitan a, una o más proteínas de un virus opcionalmente combinadas o formuladas con un fosfolípido. Tales virosomas y VLPs son generalmente no patógenos, no replicantes y generalmente no contienen nada del genoma viral nativo. En ciertas realizaciones, las proteínas virales están producidas mediante técnicas recombinantes, mientras que en otras realizaciones las proteínas virales están aisladas virus completos.

[358] Las proteínas virales adecuadas para su uso en virosomas o VLPs incluyen, pero no se limitan a, proteínas derivadas de virus de la influenza (como HA o NA), virus de la Hepatitis B (como las proteínas del núcleo o de la cápside), virus de la Hepatitis E, virus del sarampión, Sindbis virus, Rotavirus, virus de la fiebre aftosa, Retrovirus, virus Norwalk, virus de papiloma humano, VIH, fagos de RNA, fago Qβ (como las proteínas de recubrimiento), fago GA, fago fr, fago AP205 y Ty (tal como retrotransposones Ty proteína p1).

[359] Derivados bacterianos o microbianos adecuados para sus usos como adyuvantes incluyen,

pero no se limitan a, derivados bacterianos o microbianos, tales como derivados de lipopolisacárido enterobacteriano (LPS) no tóxicos, derivados de lípidos A, oligonucleótidos inmunoestimulantes y toxinas ADP-ribolisante y sus derivados detoxificados. tales derivados no tóxicos de LPS incluyen, pero no se limitan a, lípido A monofosforilo (MPL) y MPL 3-O-deacilado (3dMPL). 3dMPL es una mezcla de 3 lípidos A monofosforilos de-O-acilados con 4, 5 o 6 cadenas aciladas. Otros derivados de LPS no tóxicos incluyen compuestos que se semejan al lípido A monofosforilo, tales como derivados de fosfato de aminoalquil glucosaminida (e.g., RC-529). Derivados de lípidos a incluyen, pero no se limitan a, derivados de lípidos A de la *Escherichia coli* (e.g., OM-174).

[360] Los oligonucleótidos inmunoestimulantes utilizados como adyuvantes incluyen, pero no se limitan a, secuencias de nucleótidos que contiene un grupo funcional CpG (una secuencia de dinucleótidos que contiene una citosina no metilada unida por un enlace de fosfato a un guanosina). Tales secuencias CpG pueden ser de doble hebra o de hebra simple. En ciertas realizaciones, tales secuencias de nucleótidos son RNAs de doble hebra u oligonucleótidos que contienen secuencias palindrómicas o poli(dG). En otras realizaciones, el CpG incluye modificaciones y análogos de nucleótidos como modificaciones fosforotioato.

[361] En ciertas realizaciones, la secuencia de CpG está direccionada a TLR9 y en ciertas realizaciones el motivo es GTCGTT o TTCGTT. En ciertas realizaciones, la secuencia de CpG es específica para inducir una respuesta inmune Th1 secuencia, tales como, sólo a modo de ejemplo, un CpG-A ODN o en otras realizaciones, la secuencia de CpG es más específica para inducir una respuesta de células B, tal como, sólo a modo de ejemplo, una CpG-B ODN. En ciertas realizaciones, el CpG es un CpG-A ODN.

[362] En ciertas realizaciones, el oligonucleótido CpG es construido para el extremo 5' sea accesible para el reconocimiento del receptor. En otras realizaciones, dos secuencias de oligonucleótidos CpG están opcionalmente unidas en sus extremos 3' para formar "inmunomeros".

[363] Un adyuvante particularmente útil basado en oligonucleótidos inmunoestimulantes es conocido como IC31 <sup>TM</sup>. En ciertas realizaciones, un adyuvante usado con composiciones inmunogénicas, descritas en el presente documento, incluye una mezcla de (i) un oligonucleótido (tal como, sólo a modo de ejemplo, entre 15-40 nucleótidos) incluyendo al menos uno (y preferiblemente múltiples) motivos de CpI (tal como, sólo a modo de ejemplo, una citosina unida a una inosina para formar un dinucleótido), and (ii) un polímero policatiónico, tal como, sólo a modo de ejemplo, un oligopéptido (tal como, sólo a modo de ejemplo, entre 5-20 aminoácidos) incluyendo al menos uno (y preferiblemente múltiples) secuencia(s) tripéptidas Lys-Arg-Lys. En ciertas realizaciones, el oligonucleótido es un

deoxinucleótido que comprende una secuencia 5'-(IC) 13-3' 26-mer (SEQ ID NO: 7). En otras realizaciones, el polímero policationico es un péptido que comprende la secuencia de aminoácidos KLKLLLLLKLK 11-mer (SEQ ID NO: 8).

[364] En ciertas realizaciones, toxinas de ADP-ribolisante bacteriano y sus derivados detoxificados se utilizan como adyuvantes en las composiciones inmunogénicas descritas en el presente documento. En ciertas realizaciones, tales proteínas se derivan de *E. coli* (enterotoxina "LT" de *Escherichia coli* lábil al calor), cólera ("CT"), o tos ferina o pertussis ("PT"). En otras realizaciones, la toxina o toxoide está en forma de una holotoxina, que comprende dos subunidades A y B. En otras realizaciones, la subunidad contiene una mutación detoxificante; mientras que la subunidad B no está mutada. En otras realizaciones, el adyuvante es un mutante LT detoxificado, tal como LT-K63, LT-R72 y LT-G192.

[365] Los inmunomoduladores humanos adecuados para su uso como adyuvantes incluyen, pero no se limitan a, citoquinas, tales como, sólo a modo de ejemplo, interleucinas (IL-1, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-12), interferones (tales como, sólo a modo de ejemplo, interferón- $\gamma$ ), factor estimulante de colonias de macrófagos y factor de necrosis tumoral.

[366] La bioadhesivos y mucoadhesivos utilizados como adyuvantes en las composiciones inmunogénicas, descritas en el presente documento, incluyen, pero no se limitan a, microesferas de ácido hialurónico esterificadas y derivados de poli(ácido acrílico) reticulados, alcohol de polivinilo, polivinil pirrolidona, polisacáridos y carboximetilcelulosa. En ciertas realizaciones, quitosano y sus derivados se utilizan en las composiciones de vacunas, descritas en el presente documento, como adyuvantes.

[367] Las micropartículas adecuadas para su uso como adyuvantes incluyen, pero no se limitan a, micropartículas formadas a partir de materiales que son biodegradables y no tóxicos (e.g., un poli (.alfa.-hidroxi ácido), un ácido polihidroxibutírico, un poliortoéster, un polianhidrido, una policaprolactona, etc.), con poli(lactido-co-glicolido). En ciertas realizaciones, tales micropartículas son tratados para tener una superficie cargada negativamente (e.g., con SDS) o una superficie cargados positivamente (e.g., con un detergente catiónico, como CTAB). Las micropartículas adecuadas para su uso como adyuvantes tienen un diámetro de partícula de aproximadamente 100 nm hasta aproximadamente 150  $\mu$ m de diámetro. En ciertas realizaciones, el diámetro de la partícula es de aproximadamente 200 nm hasta aproximadamente 30  $\mu$ m y en otras realizaciones, el diámetro de la partícula es aproximadamente 500 nm hasta 10  $\mu$ m.

[368] Las formulaciones de éter de polioxietileno y éster polioxietileno adecuadas para su uso como adyuvantes incluyen, pero no se limitan, a los surfactantes de éster de sorbitan de polioxietileno en combinación con un octoxinol y éteres de alquilo de polioxietileno en

combinación con al menos un surfactante no iónico adicional como un octoxinol. En ciertas realizaciones, los éteres de polioxietileno son seleccionados de entre, polioxietileno-9-lauril éter (laureth 9), polioxietileno-9-estearil éter, polioxietileno-8-estearil éter, polioxietileno-4-lauril éter, polioxietileno-35-lauril éter, y polioxietileno-23-lauril éter.

[369] Los péptidos muramilo adecuados para su uso como adyuvantes incluyen, pero no se limitan a, N-acetil-muramil-L-treonil-D-isoglutamina (thr-MDP), N-acetil-normuramil-L-alanil-D-isoglutamina (no-MDP), y N-acetilmuramil-L-alanil-D-isoglutaminil-L-alanina-2-(1'-2'-dipalmitoil-s- n-glicero-3-hidroxifosforiloxi)-etilamina MTP-PE).

[370] En ciertas realizaciones, se incluyen uno o varios compuestos de Fórmula (I) utilizados como un potenciador inmune en composiciones con combinaciones de uno o más de los adyuvantes identificados anteriormente. Tales combinaciones incluyen, pero no se limitan a,

- (1) Una saponina y un emulsión de aceite en agua;
- (2) Una saponina (e.g. QS21) + un derivado no-tóxico de LPS (e.g. 3dMPL);
- (3) Una saponina (e.g. QS21) + un derivado no-tóxico de LPS (e.g. 3dMPL) + un colesterol;
- (4) Una saponina (e.g. QS21)+ 3dMPL + IL-12 (opcionalmente incluyendo un estero);
- (5) Combinaciones de 3dMPL con , por ejemplo, QS21 y/o emulsiones de aceite en agua;
- (6) SAF, que contiene 10% escualeno, 0,4% de Tween 80.TM., 5% de polímero en bloque plurónicoL121 y thr-MDP, ya sea microfluidizada en una emulsión submicrónica o agitada para generar una emulsión de tamaño de partícula mayor;
- (7) Sistema de adyuvantes RIBI™ (RAS), (Ribi Immunochem) que contiene un 2% escualeno, 0,2% Tween 80, y uno o más componentes de la pared celular bacteriana de entre el grupo formado por monofosforilipido A (MPL), trehalosa dimicolato (TDM), y el esqueleto de la pared celular (CWS), preferentemente MPL+CWS (Detox.TM.); y
- (8) uno o más sales minerales (como una sal de aluminio) + un derivado no tóxico de LPS (tal como, 3dMPL).

[371] En otras realizaciones, las combinaciones de adyuvante utilizadas en las combinaciones inmunogénicas aquí facilitadas incluyan combinaciones de coadyuvantes Th1 y Th2 tales como, sólo a modo de ejemplo, CpG y alumbre (“alum”) o resiquimod y alumbre.

[372] En ciertas realizaciones, las composiciones inmunogénicas, descritas en el presente documento, provocan tanto una respuesta inmune mediada por células, como una respuesta inmune humoral. En otras realizaciones, la respuesta inmune induce anticuerpos de larga duración (e.g, neutralización) y una inmunidad mediada celular que responde rápidamente tras la exposición al agente infeccioso.

000105

- [373] Dos tipos de células T, las células CD4 y CD8, se cree generalmente que son necesarias para iniciar o mejorar la inmunidad humoral y la inmunidad mediada por células. Las células T CD8 puede expresar un coreceptor CD8 y comúnmente se conocen como células T citotóxicas (CTL). Las células T CD8 son capaces de reconocer o interactuar con antígenos desplegados en moléculas Clase I del CMH.
- [374] Las células T CD4 pueden expresar un co-receptor CD4 y comúnmente se denominan células T cooperadores. Las células T CD4 son capaces de reconocer péptidos antgénicos unidos a moléculas clase II del CMH. Tras la interacción con una molécula clase II del CMH, las células CD4 pueden secretar factores tales como las citoquinas. Estas citoquinas secretadas pueden activar a las células clase II B, T citotóxicas, macrófagos y otras células que participan en una respuesta inmune. Las células T cooperadoras o células CD4 +, pueden además dividirse en dos subconjuntos funcionalmente distintos: fenotipo TH1 y fenotipos TH2, que difieren en sus funciones de citoquinas y efectores.
- [375] Las células TH1 activadas mejoran la inmunidad celular (incluyendo un aumento en la producción de CTL antígeno específico) y por tanto son de particular valor para responder a las infecciones intracelulares. Las células TH1 activadas pueden secretar uno o más de IL, IFN- $\gamma$  y TNF- $\beta$ . Una respuesta inmunitaria TH1 puede provocar reacciones inflamatorias locales mediante la activación de los macrófagos, células NK (natural killer) y células T citotóxicas CD8 (CTL). La respuesta inmunitaria TH1 pueden funcionar también para ampliar la respuesta inmune estimulando el crecimiento de las células B y T con IL-12. Las células B estimuladas por células TH1 pueden secretar IgG2a.
- [376] Las células TH2 activadas aumentan la producción de anticuerpos y por tanto son valiosas para responder a las infecciones extracelulares. Las células TH2 activadas pueden secretar uno o más de IL-4, IL-5, IL-6 e IL 10. Una respuesta inmune por TH2 puede resultar en la producción de células B IgG1, IgE, IgA y células B de memoria, para protección futura.
- [377] Una respuesta inmune mejorada puede incluir uno o más de, una respuesta inmune mejorada de las células TH1 y una respuesta inmune mejorada de células TH2.
- [378] Una respuesta inmune TH1 puede incluir uno o más de, un aumento en CTLs, un aumento de una o más de las citoquinas asociadas con una respuesta inmune TH1 (tal como, IL, IFN- $\gamma$ , TNF- $\beta$ ), un aumento de macrófagos activados, un aumento en la actividad NK o un aumento en la producción de IgG2a. Preferentemente, la respuesta inmune TH1 mejorada incluirá un aumento en la producción de IgG2a.
- [379] Los adyuvantes de TH1 pueden utilizarse para provocar una respuesta inmune de TH1. Un adyuvante TH1 generalmente provoca mayores niveles de producción de IgG2a con respecto a la inmunización del antígeno sin adyuvante. Los adyuvantes de TH1 adecuados

para su uso en composiciones inmunogénicas, proporcionadas en el presente documento, incluyen, pero no se limitan a, formulaciones de saponina, virosomas y virus tipo partículas, derivados no tóxicos de lipopolisacárido enterobacterial (LPS), oligonucleótidos inmunoestimulantes. En ciertas realizaciones, los oligonucleótidos inmunoestimulantes utilizados como adyuvantes de TH1 en las composiciones inmunogénicas, proporcionadas en el presente documento, contienen un motivo CpG.

- [380] Una respuesta inmune TH2 puede incluir uno o más de, un aumento en uno o más de las citoquinas asociadas con respuesta inmune TH2 (tales como IL-4, IL-5, IL-6 e IL-10), o un aumento en la producción de IgG1, IgE, IgA y células B memoria. Preferentemente, la respuesta inmune TH2 aumentada incluirá un aumento en la producción de IgG1.
- [381] Los adyuvantes de TH2 pueden usarse para provocar una respuesta inmune TH2. Un adyuvante TH2 generalmente provoca un aumento en los niveles de producción de IgG1 con respecto a la inmunización del antígeno sin adyuvante. Los adyuvantes de TH2 adecuados para su uso en composiciones inmunogénicas, proporcionadas en el presente documento, incluyen, pero no se limitan a, composiciones que contengan minerales, emulsiones de aceite y toxinas de ADP-ribosilante y derivados detoxificados de los mismos. En ciertas realizaciones, el mineral que contiene composiciones usadas como adyuvantes de TH2 en las composiciones inmunogénicas, proporcionadas en el presente documento, son sales de aluminio.
- [382] En ciertas realizaciones, las composiciones inmunogénicas, proporcionadas en el presente documento, incluyen un adyuvante TH1 y un adyuvante TH2. En otras realizaciones, tales composiciones provocan una respuesta TH1 y TH2 aumentadas, tal como un aumento en la producción de tanto IgG1 como IgG2a con respecto a la inmunización sin adyuvante. En aún otras realizaciones, tales composiciones que comprenden una combinación de adyuvantes de TH1 y TH2 provocan una respuesta inmune TH1 y/o TH2 aumentada con respecto a la inmunización con un único adyuvante (i.e., con respecto a la inmunización con un adyuvante TH1 sólo o a la inmunización con un adyuvante TH2 sólo).
- [383] En ciertas realizaciones, la respuesta inmune es una respuesta inmune TH1 o una respuesta inmune TH2, o ambas. En otras realizaciones, se proporciona una respuesta inmune TH1 aumentada o una respuesta inmune TH2 aumentada, o ambas.
- [384] En ciertas realizaciones, la respuesta inmune aumentada es una respuesta inmune sistémica o una respuesta inmune en las mucosas, o ambas. En otras realizaciones, se proporciona una respuesta inmune sistémica aumentada o una respuesta inmune en las mucosas aumentada, o ambas. En ciertas realizaciones, la respuesta inmune en la mucosa es una respuesta inmune TH2. En ciertas realizaciones, la respuesta inmune en la mucosa

incluye un aumento en la producción de IgA.

[385] En ciertas realizaciones, las composiciones inmunogénicas, proporcionadas en el presente documento se utilizan como vacunas, en donde tales composiciones incluyen una cantidad inmunológicamente efectiva de uno o más antígenos.

[386] Los antígenos para su uso en las composiciones inmunogénicas proporcionadas en el presente documento, pueden ser proporcionadas en una cantidad efectiva (e.g., una cantidad efectiva para su uso en métodos terapéuticos, profilácticos o de diagnóstico). Por ejemplo, las composiciones inmunogénicas de la invención pueden ser usadas para tratar o prevenir infecciones causadas por cualquiera de los patógenos enumerados a continuación.

[387] Los antígenos para su uso en las composiciones inmunogénicas proporcionadas en el presente documento, son normalmente macromoléculas (e.g., polipéptidos, polisacáridos, polinucleótidos) que son extraños al huésped e incluyen, pero no se limitan a, uno o más de los antígenos que se indican a continuación, o antígenos derivados de uno o más de los patógenos que se indican a continuación.

#### Antígenos bacterianos

[388] Los antígenos bacterianos adecuados para su uso en composiciones inmunogénicas proporcionadas en el presente documento, incluyen, pero no se limitan a, proteínas, polisacáridos, lipopolisacáridos, polinucleótidos y vesículas de membrana externa que son aislados, purificados o derivados de una bacteria. En ciertas realizaciones, los antígenos bacterianos incluyen lisados bacterianos y formulaciones de bacterias inactivadas. En ciertas realizaciones, los antígenos bacterianos son producidos por expresión recombinante. En ciertas realizaciones, los antígenos bacterianos incluyen epítomos que están expuestos en la superficie de la bacteria durante al menos una etapa de su ciclo de vida. Los antígenos bacterianos se conservan preferentemente a través de múltiples serotipos. En ciertas realizaciones, los antígenos bacterianos incluyen antígenos derivados de uno o más de las bacterias que se indican a continuación, así como ejemplos de antígenos específicos que se identifican a continuación:

*Neisseria meningitidis*: los antígenos de *Meningitidis* incluyen, pero no están limitados a, proteínas, sacáridos (incluyendo un polisacárido, oligosacáridos, lipooligosacárido o lipopolisacárido) o vesículas de membrana externa purificadas o derivadas de un serogrupo de *N. meningitidis*, tal como, A, C, W135, Y, X y/o B. En ciertas realizaciones, los antígenos de la proteína meningitidis son seleccionados de adherencias, autotransportadores, toxinas, proteínas de adquisición de Fe y proteínas

000108

asociadas membrana (proteína de membrana externa preferentemente íntegra).

*Streptococcus pneumoniae*: Los antígenos de *Streptococcus pneumoniae* incluyen, pero no están limitados a, un sacárido (incluyendo un polisacárido o un oligosacáridos) o una proteína de *Streptococcus pneumoniae*. El sacárido puede ser un polisacárido tenga el tamaño con el que surge durante la purificación del sacárido de bacterias, o puede ser un oligosacárido obtenido de la fragmentación de tales polisacáridos. En el producto 7-valente PREVNAR™, por ejemplo, 6 de los sacáridos están presentes como polisacáridos intactos mientras uno (el serotipo C18) está presente como un oligosacárido. En ciertas realizaciones, antígenos sacáridos son seleccionados de uno o más de los siguientes serotipos de neumococos: 1, 2, 3, 4, 5, 6A, 6B, 7F, 8, 9N, 9V, 10A, 11A, 12F, 14, 15B, 17F, 18C, 19A, 19F, 20, 22F, 23F, y/o 33F. Una composición inmunogénica puede incluir varios serotipos e.g. 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23 ó más serotipos. Combinaciones conjugadas 7-valente, 9-valente, 10-valente, 11-valente y 13-valente ya son conocidos en la técnica, también como lo es una combinación conjugada 23-valente. Por ejemplo, una combinación conjugada 10-valente puede incluir sacáridos de serotipos 1, 4, 5, 6B, 7F, 9V, 14, 18C, 19F y 23F. Una combinación conjugada 11-valente puede además incluir sacáridos de serotipo 3. Una combinación conjugada 12-valente puede ser añadida a la mezcla 10-valente: serotipos 6A y 19A; 6A y 22F; 19A y 22F; 6A y 15B; 19A y 15B; y 22F y 15B; una combinación conjugada 13-valente puede ser añadida a la mezcla 11-valente: los serotipos 19A y 22F; 8 y 12F; 8 y 15B; 8 y 19A; 8 y 22F; 12F y 15B; 12F y 19A; 12F y 22F; 15B y 19A; 15B y 22F. *etc.* En ciertas realizaciones, antígenos de proteína pueden seleccionarse desde una proteína identificada en WO98/18931, WO98/18930, Patente de E.U.A 6,699,703, Patente de E.U.A 6,800,744, WO97/43303, WO97/37026, WO 02/079241, WO 02/34773, WO 00/06737, WO 00/06738, WO 00/58475, WO 2003/082183, WO 00/37105, WO 02/22167, WO 02/22168, WO 2003/104272, WO 02/08426, WO 01/12219, WO 99/53940, WO 01/81380, WO 2004/092209, WO 00/76540, WO 2007/116322, LeMieux *et al.*, Infect. Imm. (2006) 74:2453-2456, Hoskins *et al.*, J. Bacteriol. (2001) 183:5709-5717, Adamou *et al.*, Infect. Immun. (2001) 69(2):949-958, Briles *et al.*, J. Infect. Dis. (2000) 182:1694-1701, Talkington *et al.*, Microb. Pathog. (1996) 21(1):17-22, Bethe *et al.*, FEMS Microbiol. Lett. (2001) 205(1):99-104, Brown *et al.*, Infect. Immun. (2001) 69:6702-6706, Whalen *et al.*, FEMS Immunol. Med. Microbiol. (2005) 43:73-80, Jomaa *et al.*, Vaccine (2006) 24(24):5133-5139. En ciertas realizaciones, las proteínas de *Streptococcus pneumoniae* pueden seleccionarse desde la Familia de la Tríada de Poli-Histidina

(PhtX), la Familia de Proteínas de Enlace a Colina (CbpX), truncados de CbpX, familia LytX, truncados de LytX, truncados de proteínas quiméricas de truncados de CbpX LytX-trunca, pneumolisina (Ply), Ahpp, PsaA, Spl28, Spl30 Spl25, Spl33, subunidades de neumococo pilus.

*Streptococcus pyogenes (Group A Streptococcus)*: Los antígenos del Streptococcus del Grupo A incluyen, pero no se limitan a, una proteína identificada en WO 02/34771 o WO 2005/032582 (incluyendo GAS 40), fragmentos de fusión de proteínas GAS M (incluyendo aquellas descritas en WO 02/094851, y Dale, Vaccine (1999) 17:193-200, y Dale, Vaccine 14(10): 944-948), proteína de unión a fibronectina (Sfb1), proteína hemo asociada a estreptococo (Shp), yetreptolisina S (SagA).

*Moraxella catarrhalis*: Los antígenos de Moraxella incluyen, pero no están limitados a, antígenos identificados en WO 02/18595 y WO 99/58562, antígenos de proteínas de membrana externa (HMW-OMP), C-antígeno o LPS.

*Bordetella pertussis*: Los antígenos de Pertussis incluyen, pero no están limitados a, holotoxina de pertussis (PT) y hemaglutinina filamentosa (FHA) de *B. pertussis*, Opcionalmente, también en combinación con pertactina y aglutinógenos 2 y 3.

*Burkholderia*: Los antígenos de Burkholderia incluyen, pero no están limitados a, *Burkholderia mallei*, *Burkholderia pseudomallei* y *Burkholderia cepacia*.

*Staphylococcus aureus*: Los antígenos de *Stafilococos aureus* incluyen, pero no se limitan a, una proteína y/o un polisacárido de *S. aureus*. Los polisacáridos de *S. aureus* incluyen, pero no se limitan a, polisacáridos capsulares tipo 5 y tipo 8 (Cp5 y CP8) opcionalmente conjugados con exotoxina A no tóxica recombinante de *Pseudomonas aeruginosa*, tales como StaphVAX™, polisacáridos tipo 336 (336PS), adhesiones intercelulares de polisacáridos (PIA, también conocidas como PNAG). Las proteínas de *S. aureus* incluyen, pero no se limitan a, antígenos derivados de proteínas superficiales, invasinas (leucocidina, quinasas, hialuronidasa), factores de superficie que inhiben la fagocitosis (cápsula, proteína A), carotenoides, producción de catalasa, proteína A, coagulasa, factor de coagulación y/o toxinas que dañan la membrana (opcionalmente detoxificadas) que lisan las membranas celulares de eucariotas (hemolisinas, leucotoxinas, leucocidina). En ciertas realizaciones, los antígenos de *S. aureus* pueden ser seleccionados de una proteína identificada en WO 02/094868, WO 2008/019162, WO 02/059148, WO 02/102829, WO 03/011899, WO

000110

2005/079315, WO 02/077183, WO 99/27109, WO 01/70955, WO 00/12689, WO 00/12131, WO 2006/032475, WO 2006/032472, WO 2006/032500, WO 2007/113222, WO 2007/113223, WO 2007/113224. En otras realizaciones, los antígenos de *S. aureus* pueden ser seleccionados de IsdA, IsdB, IsdC, SdrC, SdrD, SdrE, ClfA, ClfB, SasF, SasD, SasH (AdsA), Spa, EsaC, EsxA, EsxB, Emp, HlaH35L, CP5, CP8, PNAG, 336PS.

*Staphylococcus epidermis*: Los antígenos de *S. epidermidis* incluyen, pero no están limitados a, antígeno asociado al limo (SAA).

*Clostridium tetani* (Tetanus): Los antígenos de Tetanus incluyen, pero no están limitados a, toxoide de tetanus (TT). En ciertas realizaciones tales antígenos son usados como proteínas transportadoras en conjunto/conjugados con composiciones inmunogénicas proporcionadas en el presente documento.

*Clostridium perfringens*: Los antígenos incluyen, pero no están limitados a, toxinas Epsilon de *Clostridium perfringen*.

*Clostridium botulinums* (Botulism): Los antígenos de Botulism incluyen, pero no están limitados a, aquellos derivados de *C. botulinum*.

*Corynebacterium diphtheriae* (difteria): Los antígenos de difteria incluyen, pero no se limitan a, la toxina de la difteria, preferentemente detoxificada, tal como CRM197. Además los antígenos capaces de modulación, inhibición y asociación con ribosilación de ADP están contemplados para su combinación/co-administración/conjugación con las composiciones inmunogénicas proporcionadas en el presente documento. En ciertas realizaciones, los toxoides de difteria se utilizan como proteínas transportadoras.

*Haemophilus influenzae B* (Hib): Los antígenos de Hib incluyen, pero no están limitados a, un antígeno sacárido de Hib.

*Pseudomonas aeruginosa*: Los antígenos de *Pseudomonas* incluyen, pero no están limitados a, endotoxina A, proteína Wzz, LPS de *P. aeruginosa*, LPS aislados de PAO1 (serotipo O5), y/o Proteínas de Membrana Externa, incluyendo la Proteína de Membrana Externa F (OprF).

*Legionella pneumophila*. Antígenos bacterianos derivados de *Legionella*

000111

*pneumophila.*

*Coxiella burnetii.* Antígenos bacterianos derivados *Coxiella burnetii*

*Brucella.* Antígenos bacterianos derivados *Brucella*, que incluyen, pero no están limitados a, *B. abortus*, *B. canis*, *B. melitensis*, *B. neotomae*, *B. ovis*, *B. suis* y *B. pinnipediae*.

*Francisella.* Antígenos bacterianos derivados *Francisella*, que incluyen, pero no están limitados a, *F. novicida*, *F. philomiragia* y *F. tularensis*.

*Streptococcus agalactiae* (Group B *Streptococcus*): Los antígenos de los estreptococos del Grupo A incluyen, pero no están limitados a, un antígeno que es un sacárido o proteína identificado en WO 02/34771, WO 03/093306, WO 04/041157, o WO 2005/002619 (incluyendo las proteínas GBS 80, GBS 104, GBS 276 y GBS 322, e incluyendo antígenos sacáridos derivados de los serotipos Ia, Ib, Ia/c, II, III, IV, V, VI, VII y VIII).

*Neisseria gonorrhoeae:* Los antígenos de *Gonorrhoeae* incluyen, pero no están limitados a, proteína Por (o porina), tal como PorB (ver Zhu *et al.*, *Vaccine* (2004) 22:660 - 669), una proteína de unión de transferencia tal como, TbpA y TbpB (Ver Price *et al.*, *Infection and Immunity* (2004) 71(1):277 - 283), una proteína de opacidad (tal como Opa), una proteína de reducción modificable (Rmp), y preparaciones de vesículas de membrana externa (OMV) (ver Plante *et al.*, *J Infectious Disease* (2000) 182:848 - 855), también ver, *e.g.*, WO99/24578, WO99/36544, WO99/57280, WO02/079243).

*Chlamydia trachomatis:* Los antígenos de *Chlamydia trachomatis* incluyen, pero no están limitados a, antígenos derivados de los serotipos A, B, Ba y C (agentes de tracoma, una causa de ceguera), serotipos L1, L2 & L3 (asociado a Lymphogranuloma venereum), y serotipos, D-K. En ciertas realizaciones, los antígenos para tracoma causado por clamidia incluyen, pero no están limitados a, un antígeno identificado en WO 00/37494, WO 03/049762, WO 03/068811, o WO 05/002619, incluyendo PepA (CT045), LcrE (CT089), ArtJ (CT381), DnaK (CT396), CT398, OmpH-like (CT242), L7/L12 (CT316), OmcA (CT444), AtosS (CT467), CT547, Eno (CT587), HrtA (CT823), y MurG (CT761).

*Treponema pallidum* (Syphilis): Los antígenos de la sífilis incluyen, pero no están

limitados a, antígeno TmpA.

*Haemophilus ducreyi* (que causa chancroide): Los antígenos de Ducreyi incluyen, pero no están limitados a, proteínas de membrana externa (DsrA).

*Enterococcus faecalis* o *Enterococcus faecium*: Los antígenos incluyen, pero no están limitados a, una unidad repetida de trisacárido u otros antígenos derivados de *Enterococcus*.

*Helicobacter pylori*: Los antígenos de *H. pylori* incluyen, pero no están limitados a, Cag, Vac, Nap, HopX, HopY y/o un antígeno de ureasa.

*Staphylococcus saprophyticus*: Los antígenos incluyen, pero no están limitados a, el antígeno de la hemaglutinina de 160 kDa de *S. saprophyticus*.

*Yersinia enterocolitica*: Los antígenos incluyen, pero no están limitados a, LPS.

*E. coli*: Los antígenos de *E. coli* pueden ser obtenidos de *E. coli* enterotoxigénica (ETEC), *E. coli* enteroagregativa (EAaggEC), *E. coli* de adherencia difusa (DAEC), *E. coli* enteropatógena (EPEC), *E. coli* patógena extraintestinal (ExPEC) y/o *E. coli* enterohemorrágica (EHEC). Los antígenos de ExPEC incluyen, pero no están limitados a, factor de colonización accesorio (orf3526), orf353, dominio tipo Ig bacteriano (grupo 1) proteína (orf405), orf1364, transportador de salida del factor de la lipoproteína de la membrana de la familia NodT (orf1767), gspK (orf3515), gspJ (orf3516), receptor de sideróforos dependiente de tonB (orf3597), proteína fimbrial (orf3613), upec-948, upec-1232, Un precursor de cadena de la proteína fimbrial tipo 1 (upec-1875), homólogo de yap H (upec-2820), y hemolisina A (recp-3768).

*Bacillus anthracis* (anthrax): Los antígenos de *B. anthracis* incluyen, pero no están limitados a, componentes A (factor letal (LF) factor de edema (EF)), ambos pueden compartir un componente común B conocido como antígeno protector (PA). En ciertas realizaciones, los antígenos de *B. anthracis* están opcionalmente detoxificados.

*Yersinia pestis* (peste): Los antígenos de la peste incluyen, pero no están limitados a, antígeno capsular F1, LPS, antígeno V de *Yersinia pestis*

*Mycobacterium tuberculosis*: Los antígenos de la Tuberculosis incluyen, pero no están limitados a, lipoproteínas, LPS, antígenos BCG, una proteína de fusión del

antígeno 85B (Ag85B), ESAT-6 opcionalmente formulada en vescículas lípidas catiónicas, antígenos asociados a isocitrato deshidrogenasa de *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb), y antígenos MPT51.

*Rickettsia*: Los antígenos incluyen, pero no están limitados a, proteínas de membrana externa, incluyendo la proteína de membrana externa A y/o B (OmpB), LPS, y antígenos de proteína de superficie (SPA).

*Listeria monocytogenes*: Los antígenos bacterianos incluyen, pero no están limitados a, aquellos obtenidos de *Listeria monocytogenes*.

*Chlamydia pneumoniae*: Los antígenos incluyen, pero no están limitados a, aquellos identificados en WO 02/02606.

*Vibrio cholerae*: Los antígenos incluyen, pero no están limitados a, antígenos de proteinasas, LPS, particularmente lipopolisacáridos de *Vibrio cholerae* II, polisacáridos O-específicos de O1 Inaba, *V. cholera* O139, antígenos de la vacuna IEM108 y toxina Zonula occludens (Zot).

*Salmonella typhi* (fiebre tifoidea): Los antígenos incluyen, pero no están limitados a, polisacáridos capsulares preferentemente conjugados (Vi, i.e. vax-TyVi).

*Borrelia burgdorferi* (enfermedad de Lyme): Los antígenos incluyen, pero no están limitados a, lipoproteínas (tal como OspA, OspB, Osp C y Osp D), otras proteínas de superficie tales como, proteínas relacionadas con OspE (Erps), proteínas unidas a decorina (tal como DbpA), y proteínas VI antigénicamente variable, tal como los antígenos asociados con P39 y P13 (una proteína integral de membrana, Proteína de Variación Antigénica VlsE).

*Porphyromonas gingivalis*: Los antígenos incluyen, pero no están limitados a, proteínas de membrana externa (OMP) de *P. gingivalis*.

*Klebsiella*: Los antígenos incluyen, pero no están limitados a, una OMP, incluyendo OMP A, ó un polisacárido opcionalmente conjugado con un toxoide de tétano.

[389] Otros antígenos bacterianos utilizados en las composiciones inmunogénicas proporcionadas en el presente documento incluyen, pero no se limitan a, antígenos capsulares, antígenos de polisacáridos, antígenos de proteínas o antígenos de polinucleótido de cualquiera

000114

de las anteriores. Otros antígenos bacterianos utilizados en las composiciones inmunogénicas proporcionadas en el presente documento incluyen, pero no se limitan a, una preparación de vesículas de la membrana externa (OMV). Además, otros antígenos bacterianos utilizados en las composiciones inmunogénicas proporcionadas en el presente documento incluyen, pero no se limitan a, versiones atenuadas y/o purificadas de cualquiera de las bacterias ya mencionadas. En ciertas realizaciones, los antígenos bacterianos utilizados en las composiciones inmunogénicas proporcionadas en el presente documento, son obtenidos de bacterias Gram-negativas, mientras que en otras realizaciones, se obtienen de bacterias Gram-positivas. En ciertas realizaciones, los antígenos bacterianos utilizados en las composiciones inmunogénicas proporcionadas en el presente documento se obtienen de bacterias aerobias, mientras que en otras realizaciones se obtienen de bacterias anaerobias.

- [390] En ciertas realizaciones, cualquiera de los anteriores sacáridos obtenidos de bacterias (polisacáridos, LPS, LOS o oligosacáridos) son conjugados con otro agente o antígeno, tal como una proteína transportadora (por ejemplo CRM197). En ciertas realizaciones, tales conjugaciones son conjugaciones directas efectuadas por aminación reductiva del grupo funcional carbonilo en el sacárido a amino grupos en la proteína. En ciertas realizaciones, los sacáridos se conjugan a través de un enlazador, tal como, con succinamida u otros enlazadores proporcionados en *Bioconjugate Techniques*, 1996 y *CRC, Chemistry of Protein Conjugation and Cross-Linking*, 1993.
- [391] En ciertas realizaciones, útiles para el tratamiento o la prevención de la infección por *Neisseria* y enfermedades y desórdenes relacionados; proteínas recombinantes de *Neisseria meningitidis* para su uso en las composiciones inmunogénicas proporcionadas en el presente documento pueden encontrarse en WO99/24578, WO99/36544, WO99/57280 WO00/22430, WO96/29412, WO01/64920, WO03/020756, WO2004 y 048404 y WO2004/032958. Tales antígenos pueden utilizarse solos o en combinaciones. Cuando se combinan múltiples proteínas purificadas entonces es útil usar una mezcla de 10 o menos (e.g., 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2) antígenos purificados.
- [392] Una combinación particularmente útil de antígenos para su uso en las composiciones inmunogénicas proporcionadas en el presente documento, es divulgada en Giuliani *et al.* (2006) *Proc Natl Acad Sci U S A* 103(29):10834-9 y WO2004/032958, por lo tanto, una composición inmunogénica puede incluir 1, 2, 3, 4 ó 5 de: (1) una proteína 'NadA' (aka GNA1994 y NMB1994); (2) una proteína 'fHBP' (aka '741', LP2086, GNA1870, y NMB1870); (3) una proteína '936' (aka GNA2091 y NMB2091); (4) una proteína '953' (aka GNA1030 y NMB1030); y (5) una proteína '287' (aka GNA2132 y NMB2132). Otras

posibles combinaciones de antígeno pueden constar de una proteína transferrina (e.g. TbpA y/o TbpB) y un antígeno Hsf. Otros posibles antígenos purificados para su uso en las composiciones inmunogénicas proporcionadas en el presente documento incluyen, proteínas que comprende una de las siguientes secuencias de aminoácidos: SEQ ID NO:650 del documento WO99/24578; SEQ ID NO:878 del documento WO99/24578; SEQ ID NO:884 del documento WO99/24578; SEQ ID NO:4 del documento WO99/36544; SEQ ID NO:598 del documento WO99/57280; SEQ ID NO:818 del documento WO99/57280; SEQ ID NO:864 del documento WO99/57280; SEQ ID NO:866 del documento WO99/57280; SEQ ID NO:1196 del documento WO99/57280; SEQ ID NO:1272 del documento WO99/57280; SEQ ID NO:1274 del documento WO99/57280; SEQ ID NO:1640 del documento WO99/57280; SEQ ID NO:1788 del documento WO99/57280; SEQ ID NO:2288 del documento WO99/57280; SEQ ID NO:2466 del documento WO99/57280; SEQ ID NO:2554 del documento WO99/57280; SEQ ID NO:2576 del documento WO99/57280; SEQ ID NO:2606 del documento WO99/57280; SEQ ID NO:2608 del documento WO99/57280; SEQ ID NO:2616 del documento WO99/57280; SEQ ID NO:2668 del documento WO99/57280; SEQ ID NO:2780 del documento WO99/57280; SEQ ID NO:2932 del documento WO99/57280; SEQ ID NO:2958 del documento WO99/57280; SEQ ID NO:2970 del documento WO99/57280; SEQ ID NO:2988 del documento WO99/57280 (cada una de las secuencias de aminoácidos precedentes se incorpora por referencia del documento citado); o un polipéptido que comprende una secuencia de aminoácidos que: (a) tiene el 50% o más identidad (e.g., 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 99% o más) con dichas secuencias; o (b) comprende un fragmento de al menos n aminoácidos consecutivos de dichas secuencias, donde n es 7 o más (e.g., 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 25, 30, 35, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 150, 200, 250 o más). Fragmentos preferidos para (b) comprenden un epítipo de la secuencia pertinente. Más de uno (e.g., 2, 3, 4, 5, 6) de estos polipéptidos pueden incluirse en las composiciones inmunogénicas.

- [393] El antígeno de fHBP cae dentro de tres distintas variantes (WO2004/048404). Una vacuna de serogrupo de *Neisseria meningitidis* basada en las composiciones inmunogénicas divulgadas en el presente documento, utilizando uno de los compuestos divulgados en el presente documento, puede incluir una única variante de fHBP, pero será útil incluir un fHBP de cada una de las dos o todas las tres variantes. Así, la composición inmunogénica puede incluir una combinación de dos o tres diferentes fHBPs purificados, seleccionados a partir de: (a) una primera proteína, que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un a% de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 1 y/o que comprende una secuencia de aminoácidos que consta de un fragmento de al menos x aminoácidos contiguos de la SEQ ID NO: 1; (b) una segunda proteína, que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al

menos un b% de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 2 y/o que comprende una secuencia de aminoácidos que consta de un fragmento de al menos y aminoácidos contiguos de la SEQ ID NO: 2; y/o (c) una tercera proteína, que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un c% de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 3 y/o que comprende una secuencia de aminoácidos que consta de un fragmento de al menos z aminoácidos contiguos de la SEQ ID NO: 3;

**[394] SEQ ID NO: 1**

VAADIGAGLADALTAPLDHKDKGLQSLTLDQSVRKNEKLKLAAQGAEKTYGNGDSLNT  
GKLKNDKVSRLFDFIRQIEVDGQLITLESGEFQVYKQSHSALTAFQTEQIQDSEHSGKMVA  
KRQFRIGDIAGEHTSFDKLPEGGRATYRGTAFGSDDAGGKLTYTIDFAAKQGNGKIEHLK  
SPELNVDLAAADIKPDGKRHAVISGSVLYNQAEEKGSYSLGIFGGKAQEVAGSAEVKTVN  
GIRHIGLAAKQ

**[395] SEQ ID NO: 2**

VAADIGAGLADALTAPLDHKDKSLQSLTLDQSVRKNEKLKLAAQGAEKTYGNGDSLNT  
GKLKNDKVSRLFDFIRQIEVDGQLITLESGEFQIYKQDHSVVALQIEKINNPDKIDSLINQR  
SFLVSGLGGEHTAFNQLPDGKAEYHGKAFSSDDAGGKLTYTIDFAAKQGHGKIEHLKTP  
EQNVELAAAEKKADEKSHAVILGDTRYGSEEKGTYHLALFGDRAQEIAGSATVKIGEKV  
HEIGIAGKQ

**[396] SEQ ID NO: 3**

VAADIGTGLADALTAPLDHKDKGLKSLTLED SIPQNGTLTSLAQGAEKTFKAGDKDNSL  
NTGKLKNDKISRDFVQKIEVDGQTITLASGEFQIYKQNHSAVVALQIEKINNPDKTDSL  
NQRSFLVSGLGGEHTAFNQLPGGKAEYHGKAFSSDDPNGLHYSIDFTKKQGYGRIEHL  
KTLEQNVELAAAEKKADEKSHAVILGDTRYGSEEKGTYHLALFGDRAQEIAGSATVKIG  
EKVHEIGIAGKQ

**[397]** El valor de a es al menos 85, *e.g.*, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 99.5, o más. El valor de b es al menos 85, *e.g.*, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 99.5, o más. El valor de c es al menos 85, *e.g.*, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 99.5, o más. Los valores de a, b y c no están intrínsecamente relacionados entre sí.

**[398]** El valor de x es al menos 7, *e.g.*, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23,

24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 35, 40, 45, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 120, 140, 160, 180, 200, 225, 250). El valor de  $y$  es al menos 7, *e.g.*, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 35, 40, 45, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 120, 140, 160, 180, 200, 225, 250). El valor de  $z$  es al menos 7, *e.g.*, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 35, 40, 45, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 120, 140, 160, 180, 200, 225, 250). Los valores de  $x$ ,  $y$  y  $z$  no están intrínsecamente relacionados entre sí.

[399] En algunas realizaciones, las composiciones inmunogénicas como se divulgan en el presente documento, incluyen proteína o proteínas fHBP que están lipidadas, por ejemplo, en el extremo N-terminal de en una cisteína. En otras realizaciones no se encontrará lipídada.

[400] Una composición inmunogénica de utilidad como la divulgada en el presente documento, incluye proteínas purificadas que comprende una mezcla de: (i) un primer polipéptido que tiene una secuencia de aminoácidos SEQ ID NO: 4; (ii) un segundo polipéptido que tiene una secuencia de aminoácidos SEQ ID NO: 5; y (iii) un tercer polipéptido que tiene una secuencia de aminoácidos SEQ ID NO: 6. Véase Giuliani *et al.* (2006) *Proc Natl Acad Sci U S A* 103(29):10834-9 y el documento WO2004/032958. Una composición inmunogénica de utilidad como la divulgada en el presente documento incluye proteínas purificadas que comprende una mezcla de: (i) un primer polipéptido que tiene al menos una identidad de secuencia de  $a\%$  con la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO: 4; (ii) un segundo polipéptido que tiene al menos una identidad de secuencia de  $b\%$  con la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO: 5; y (iii) un tercer polipéptido que tiene al menos una identidad de secuencia de  $c\%$  con la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO: 6.

**[401] SEQ ID NO: 4**

MASPDVKSADTLSPAAPVVSEKETEAKEDAPQAGSQGGAPSAGGGQDMAAVSEENT  
GNGGAAATDKPKNEDEGAQNMPQNAADTDSLTPNHTPASNMPAGNMENQAPDAGES  
EQPANQPDMAANTADGMQGGDDPSAGGENAGNTAAQGTNQAENNQTAGSQNPASSTNPS  
ATNSGGDFGRITNVGNSVVIDGPSQNTLTHCKGDSCSGNNFLDEEVQLKSEFEKLSDAD  
KISNYKKDGKNDGKNDKDFVGLVADSVQMKGINQYIIFYKPKPTSFARFRRSARSRRSLPA  
EMPLIPVNQADTLIVDGEAVSLTGHSGNIFAPEGNRYLYTYGAEKLPGGSYALRVQGEPS  
KGEMLAGTAVYNGEVLHFHTENGRPSRGRFAAKVDFGSKSVDGIIDSGDGLHMGTDQ  
KFKAAIDGNGFKGTWTENGGGDVSGKFYGPAGEEVAGKYSYRPTDAEKGGFGVFAGK  
KEQDGSGGGGATYKVDEYHANARFAIDHFNTSTNVGGFYGLTGSVEFDQAKRDGKIDIT  
IPVANLQSGSQHFTDHLKSADIFDAAQYPDIRFVSTKFNFNKGKLVSDGNLTMHGKTA  
PVKLKAEKFNCYQSPMAKTEVCGGDFSTTIDRTKWGVLDYLVNVGMTKSVRIDIQIEAAK  
Q

## [402] SEQ ID NO: 5

MVSAVIGSAAVGAksAVDRRTTGAQTDDNVMALRIETTARSYLQRNNQTKGYTPQISV  
 VGYNRHLLLLGQVATEGEKQFVGQIARSEQAAEGVYNYITVASLPRTAGDIAGDTWNTS  
 KVRATLLGISPATQARVKIVTYGNVTYVMGILTPEEQAQITQKVSTTVGVQKVITLYQNY  
 VQRGSGGGGVAADIGAGLADALTAPLDHKDKGLQSLTLDQSVRKNEKLKLAQAQGAEK  
 TYGNGDSLNTGKLKNDKVSFRDFIRQIEVDGQLITLESGEFQVYKQSHSALTAFQTEQIQ  
 DSEHSGKMVAKRQFRIGDIAGEHTSFDKLPEGGRATYRGTAFGSDDAGGKLTYTIDFAA  
 KQGNGKIEHLKSPELNVDLAAADIKPDGKRHAVISGSVLYNQAEEKSYSGLIFGGKAQE  
 VAGSAEVKTVNGIRHIGLAAKQ

## [403] SEQ ID NO: 6

ATNDDDVKKAATVAIAAAYNNGQEINGFKAGETIYDIDEDGTITKKDATAADVEADDF  
 KGLGLKKVVTNLTKTVNENKQNVDAKVKAASEIEKLTTKLADTDAALADTDAALDA  
 TTNALNKLGENITTFAEETKTNIVKIDEKLEAVADTVDKHAEAFNDIADSLDETNTKADE  
 AVKTANEAKQTAEETKQNVDAKVKAETAAGKAEAAAGTANTAADKAEAVAANKVTD  
 IKADIATNKDNIAKKANSADVITREESDSKFVRIDGLNATTEKLDTRLASAEKSIADHDT  
 RLNGLDKTVSDLRKETRQGLAEQAALSGLFQPYNVG

Antígenos de Vesículas Bacterianas

[404] Las composiciones inmunogénicas, como las divulgadas en el presente documento, pueden incluir vesículas de membrana externa. Tales vesículas de membrana externa pueden obtenidas de una amplia gama de bacterias patógenas y usadas como componentes antigénicos de las composiciones inmunogénicas divulgada en el presente documento. Vesículas para su uso como componentes antigénicos en tales composiciones inmunogénicas, incluyen cualquier vesícula proteoliposómica obtenida al romper una membrana externa bacteriana para formar vesículas de la misma, las que incluyen componentes de proteínas de la membrana externa. Así, el término incluye OMVs (a veces denominadas 'bebs'), microvesículas (MVs, véase, e.g., WO02/09643) y 'OMVs nativos' ('NOMVs' véase, por ejemplo, Katial *et al.* (2002) *Infect. Immun.* 70:702-707). Las composiciones inmunogénicas, como las divulgadas en el presente documento, que incluyen vesículas de una o más bacterias patógenas pueden ser usadas en el tratamiento o la prevención de la infecciones causadas por esas bacterias patógenas y para el tratamiento o prevención de enfermedades y desórdenes relacionados.

[405] Las MVs y NOMVs son vesículas de membranas de origen natural que se forman espontáneamente durante el crecimiento bacteriano y se liberan en el medio de cultivo. Las MVs pueden obtenerse por cultivo de bacterias como la *Neisseria* en caldo de cultivo, separando las células completas de los más pequeños MVs en el caldo de cultivo (por ejemplo, mediante filtración o centrifugación de baja velocidad para que sedimenten sólo las células y no las vesículas pequeñas), y, a continuación, recolectando los MVs de medio empobrecido en células (e.g., por filtración, por precipitación diferencial o agregación de los MVs, por centrifugación de alta velocidad para que sedimenten las MVs). La cepa para uso en producción de MVs generalmente puede ser seleccionadas sobre la base de la cantidad de MVs producidos en el cultivo (véase, e.g., patente de E.U.A. 6.180.111 y WO01/34642 que describen *Neisseria* que presentan una alta producción de MV).

[406] Los OMVs son preparados artificialmente a partir de bacterias, y puede prepararse usando un tratamiento con detergentes (e.g., con desoxicolato), o por medios que no sean detergentes (véase, e.g., WO04/019977). Los métodos para obtener preparaciones de OMV adecuadas son bien conocidos en la técnica. Técnicas para formar OMVs incluyen el tratamiento de bacterias con un detergente sal de ácido biliar (por ejemplo, sales de ácido litocólico, ácido quenodesoxicólico, ácido ursodesoxicólico, ácido deoxicólico, ácido cólico, ácido ursocólico, etc., con desoxicolato de sodio (EP0011243 y Fredriksen *et al.* (1991) *NIPH Ann.* 14(2):67-80) que son las preferidas para tratar *Neisseria*) a un pH lo suficientemente alto para que no precipite el detergente (véase, e.g., WO01/91788). Otras técnicas pueden sustancialmente llevarse a cabo en la ausencia de detergente (véase, e.g., WO04/019977) utilizando técnicas tales como la sonicación, homogeneización, microfluidización, cavitación, choque osmótico, molienda, prensa francesa, mezclado, etc. Métodos que no usan o usan muy poco detergente pueden conservar antígenos útiles, tal como NspA en las OMVs de *Neisseria*. Así, un método puede utilizar un búfer de extracción de OMV con aproximadamente 0,5% o menos de desoxicolato, e.g., aproximadamente 0,2%, aproximadamente 0,1%, < 0,05% ó cero.

[407] Un proceso útil para la preparación de OMV se describe en el documento WO05/004908 e implica la ultrafiltración de una preparación sin purificar de OMVs, en lugar de hacerlo por centrifugación a alta velocidad. El proceso puede incluir un paso de ultracentrifugación después que tiene lugar la ultrafiltración.

[408] Las vesículas pueden ser preparadas a partir de cualquier cepa patógena tal como, *Neisseria meningitidis* para su uso con la invención. Las vesículas de *Neisseria meningitidis* serogrupo B pueden ser de cualquier serotipo (e.g., 1, 2a, 2b, 4, 14, 15, 16, etc.), cualquier serosubtipo y cualquier inmunotipo (e.g., L1; L2; L3; L3,3,7; L10; etc.). El meningococo puede ser de cualquier linaje adecuado, incluidos los linajes hiperinvasivos.

hipervirulento, por ejemplo, cualquiera de los siguientes siete linajes de hipervirulento: Subgrupo I; subgrupo III; subgrupo IV 1; complejo ET 5; complejo ET 37; clúster A4; linaje 3. Estos linajes han sido definidos por electroforesis de enzimas multilocus (MLEE), tipificación por secuencia de multilocus (MLST) también ha sido usados para clasificar meningococos, *e.g.*, el complejo ET 37 es el complejo ST 11 mediante MLST, el complejo ET 5 es ST-32 (ET-5), el linaje 3 es ST 41/44, etc. Las vesículas pueden ser preparadas de cepas que tienen uno de los siguientes subtipos: P1.2; P1.2,5; P1.4; P1.5; P1.5,2; P1.5,c; P1.5c,10; P1.7,16; P1.7,16b; P1.7h,4; P1.9; P1.15; P1.9,15; P1.12,13; P1.13; P1.14; P1.21,16; P1.22,14.

[409] Las vesículas incluidas en las composiciones inmunogénicas divulgadas en el presente documento pueden prepararse a partir cepas patógenas de tipo salvaje como cepas de *Neisseria meningitidis* o de cepas mutantes. A modo de ejemplo, el documento WO98/56901 divulga preparaciones de vesículas obtenidas de *N.meningitidis* con un gen *fur* modificado. WO02/09746 enseña que la expresión de ATC debería regularse por incremento con knockout *porA* y *cps* concomitante. Mutantes knockout adicionales de *N.meningitidis* para la producción de OMV son divulgados en WO02/0974, WO02/062378, y WO04/014417. El documento WO06/081259 divulga vesículas en las cuales el *fHBP* está regulado por incremento. Claassen *et al.* (1996) 14(10):1001-8, divulgan la construcción de vesículas de cepas modificadas para expresar seis diferentes subtipos *PorA*. También puede ser usada una cepa mutante de *Neisseria* con bajos niveles de endotoxinas, que se obtiene por knockout de las enzimas involucradas en la biosíntesis de LPS (véase, *e.g.*, WO99/10497 y Steeghs *et al.* (2001) i20:6937-6945). Estos u otros mutantes pueden todos ser utilizados con la invención.

[410] Así las cepas del serogrupo B de *N. meningitidis* incluidas en las composiciones inmunogénicas divulgadas en el presente documento pueden expresar más de un subtipo de *PorA*. Cepas seis valente y nueve valente de *PorA* han sido previamente construidas. La cepa puede expresar 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 ó 9 de los subtipos *PorA*: P1.7,16; P1.5-1,2-2; P1.19,15-1; P1.5-2,10; P1.12 1,13; P1.7-2,4; P1.22,14; P1.7-1,1 y/o P1.18-1,3,6. En otras realizaciones una cepa puede haber sido regulada a la baja para la expresión de *PorA*, por ejemplo, en la que la cantidad de *PorA* ha sido reducida en al menos un 20% (*e.g.*, > 30%, > 40%, > 50%, > 60%, > 70%, > 80%, > 90%, > 95%, etc.), o incluso eliminadas, con respecto a los niveles que se encuentran en el tipo salvaje (por ejemplo, en relación a la cepa H44 76, como se divulga en el documento WO03/105890).

[411] En algunas realizaciones las cepas del serogrupo B de *N. meningitidis* pueden regular por incremento o sobreexpresar ciertas proteínas (en relación a la correspondiente cepa del tipo silvestre). Por ejemplo, cepas pueden sobreexpresar *NspA*, la proteína 287 (WO01/52885

NMB2132 y GNA2132), uno o más fHBP (WO06/081259 y la Patente de E.U.A. publicada 2008/0248065 - también conocida como proteína 741, NMB1870 y GNA1870), TbpA y/o TbpB (WO00/25811), Cu,Zn-superoxido dimutasa (WO00/25811), etc

[412] En algunas realizaciones las cepas del serogrupo B de *N. meningitidis* pueden incluir una o más de las mutaciones de sobreexpresión y/o knockout. Los genes preferidos para la regulación a la baja y/o knockout incluyen: (a) Cps, CtrA, CtrB, CtrC, CtrD, FrpB, GalE, HtrB/MsbB, LbpA, LbpB, LpxK, Opa, Opc, PilC, PorB, SiaA, SiaB, SiaC, SiaD, TbpA, y/o TbpB (WO01/09350); (b) CtrA, CtrB, CtrC, CtrD, FrpB, GalE, HtrB/MsbB, LbpA, LbpB, LpxK, Opa, Opc, PhoP, PilC, PmrE, PmrF, SiaA, SiaB, SiaC, SiaD, TbpA, y/o TbpB (WO02/09746); (c) ExbB, ExbD, rmpM, CtrA, CtrB, CtrD, GalE, LbpA, LpbB, Opa, Opc, PilC, PorB, SiaA, SiaB, SiaC, SiaD, TbpA, y/o TbpB (WO02/062378); y (d) CtrA, CtrB, CtrD, FrpB, Opa, Opc, PilC, PorB, SiaD, SynA, SynB, y/o SynC (WO04/014417).

[413] Cuando se utiliza una cepa mutante, en algunas realizaciones puede tener una o más o todas de las siguientes características: (i) regulación por decremento o knocked-out LgtB y/o GalE para truncar los LOS meningocócicos; (ii) regulación por incremento de TbpA; (iii) regulación por incremento de Hsf; (iv) regulación por incremento de Omp85; (v) regulación por incremento de LbpA; (vi) regulación por incremento de NspA; (vii) knocked-out de PorA; (viii) regulación por decremento o knocked-out de FrpB; (ix) regulación por decremento o knocked-out de Opa; (x) regulación por decremento o knocked-out de Opc; (xii) eliminación del complejo de genes cps. A LOS truncado puede ser uno que no incluya un epítipo sialil-lacto-N-neotetraosa, e.g., puede ser un LOS deficiente en galactosa. Los LOS puede no tener una cadena  $\alpha$ .

[414] Si los LOS están presentes en una vesícula entonces es posible tratar la vesícula para enlazar sus LOS y los componentes de la proteína (conjugación "intra-bleb" (WO04/014417)).

[415] Las composiciones inmunogénicas como las divulgadas en el presente documento, pueden incluir mezclas de vesículas de diferentes cepas. A modo de ejemplo, WO03/105890 divulga una vacuna que incluye composiciones de vesículas meningocócica multivalentes, que comprenden una primera vesícula derivada de una cepa meningocócica con un serosubtipo prevalente en el país de utilización y una segunda vesícula derivada de una cepa que no necesita tener un serosubtipo que deba ser evitado en el país de uso. El documento WO06/024946 divulga combinaciones útiles de diferentes vesículas. En algunas realizaciones puede utilizarse una combinación de vesículas de cepas de cada uno de los inmutipos L2 y

L3.

- [416] Antígenos basados en vesículas pueden ser preparados a partir de serogrupos de *N. meningitidis* diferentes al serogrupo B (e.g., WO01/91788 divulga un procedimiento para el serogrupo A). En consecuencia, las composiciones inmunogénicas divulgadas en el presente documento, pueden incluir vesículas preparadas de serogrupos distintos del serogrupo B (e.g. A, C, W135 y/o Y) y de bacterias patógenas distintas *Neisseria*.

### Antígenos Virales

- [417] Antígenos virales adecuados para su uso en las composiciones inmunogénicas proporcionada en el presente documento incluyen, pero están limitadas a, virus inactivado (o muertos), virus atenuados, formulaciones con fragmentos de virus, formulaciones de subunidades purificadas, las proteínas virales que pueden ser aisladas, purificados o derivados de un virus, como partículas como virus (VLPs) y antígenos polinucleótidos que pueden ser aislados, purificados o derivados de un virus o sintetizados recombinantemente. En ciertas realizaciones, antígenos virales se obtienen de virus que están propagados en cultivos celulares o en otro sustrato. En otras realizaciones, antígenos virales se expresan recombinantemente. En ciertas realizaciones, antígenos virales preferentemente incluyen epítomos que están expuestos en la superficie del virus durante al menos una etapa de su ciclo de vida. Los antígenos virales se conservan preferentemente a través de serotipos o aislados múltiples. Antígenos virales adecuados para su uso en las composiciones inmunogénicas proporcionadas en el presente documento, incluyen, pero no están limitados a, antígenos derivados de uno o más de los virus que se indican a continuación, así como los ejemplos de antígenos específicos identificados a continuación.

*Orthomyxovirus*: Antígenos virales que incluyen, pero no están limitados a aquellos derivados de un Ortomixovirus, tal como la el de la gripe A, B y C. En ciertas realizaciones, antígenos de ortomixovirus son seleccionados de uno o más de las proteínas virales, incluida la hemaglutinina (HA), neuraminidasa (NA), nucleoproteína (NP), proteína de matriz (M1), proteínas de membrana (M2), uno o más de los componentes de la transcriptasa (PB1, PB2 y PA). En ciertas realizaciones el antígeno viral incluyen HA y NA. En ciertas realizaciones, los antígenos de la influenza se derivan de cepas gripe interpandémicas (anuales), mientras que en otras realizaciones, los antígenos de influenza son derivados de cepas con el potencial para provocar una pandemia o un brote pandémico (es decir, cepas de la influenza con una nueva hemaglutinina en comparación con la hemaglutinina en las cepas actualmente

000123

circulantes, o cepas de gripe que son patógenas en sujetos aviares y tienen el potencial para ser transmitidas horizontalmente en la población humana, o cepas de influenza que son patógenas para los humanos).

*Paramyxoviridae* virus: Antígenos virales incluyen, pero no están limitados a, aquellos derivados de los virus paramixovirus, tales como neumovirus (VRS), Pparamixovirus (PIV), Metaneumovirus y Morbillivirus (sarampión).

*Pneumovirus*: Antígenos virales incluyen, pero no están limitados a, aquellos derivados de un Pneumovirus, tales como virus respiratorio sincicial (VRS), virus respiratorio sincicial bovino, virus de la neumonía de ratones y virus de rinotraqueítis de Turquía. Preferentemente, el Pneumovirus es RSV. En ciertas realizaciones, antígenos de neumovirus son seleccionados de una o más de las siguientes proteínas, incluyendo las proteínas de superficie de Fusión (F), Glicoproteína (G) y pequeñas proteínas hidrofóbicas (SH), proteínas de la matriz M y M2, proteínas nucleocápsidas N, P y L y proteínas estructurales NS1 y NS2. En otras realizaciones, antígenos de neumovirus incluyen F, G y M. En ciertas realizaciones, antígenos de neumovirus son también formulados en o derivados de virus quiméricos, tales como, sólo a modo de ejemplo, virus quiméricos RSV/PIV que comprende los componentes tanto de RSV como de PIV.

*Paramyxovirus*: Antígenos virales incluyen, pero no están limitados a, aquellos derivados de un paramixovirus, tales como virus parainfluenza tipos 1-4 (PIV), parotiditis, virus Sendai, Simian virus 5, virus parainfluenza bovina, virus Nipah, Henipavirus y virus de la enfermedad de Newcastle. En ciertas realizaciones, el paramixovirus es PIV ó virus de la parotiditis. En ciertas realizaciones, antígenos de paramixovirus son seleccionados de una o más de las siguientes proteínas: Hemagglutinina –Neuraminidasa (HN), proteínas de fusión F1 y F2, nucleoproteínas (NP), Fosfoproteínas (P), Gran proteína (L) y proteína de Matriz (M). En otras realizaciones, las proteínas de paramixovirus incluyen HN, F1 y F2. En ciertas realizaciones, antígenos de paramixovirus también son formulados en o derivados de virus quiméricos, tales como, sólo a modo de ejemplo, virus quiméricos RSV/PIV que comprende los componentes tanto de RSV como de PIV. Las vacunas disponibles comercialmente para la parotiditis incluyen virus vivo atenuado de parotiditis, ya sea en forma monovalente o en combinación con las vacunas contra el sarampión y la rubéola (MMR). En otras realizaciones, el paramixovirus es virus Nipah o Henipavirus y los antígenos son seleccionados de una o más de las siguientes proteínas: proteína de fusión

(F), glicoproteína (G), proteína de Matriz (M), proteína nucleocápsida (N), proteína grande (L) y Fosfoproteínas (P).

*Poxviridae*: Los antígenos virales incluyen, pero no están limitados a, aquellos derivados de *Orthopoxvirus* tal como *Variola vera*, incluyendo, pero no limitado a, *Variola major* y *Variola minor*

*Metapneumovirus*: los antígenos virales incluyen, pero no están limitados a, metaneumovirus, como metaneumovirus humano (hMPV) y metapneumovirus aviar (aMPV). En ciertas realizaciones, los antígenos de metaneumovirus son seleccionados de una o más de las siguientes proteínas, incluida la proteína de fusión (F) de superficie, glicoproteína (G) y proteínas hidrofóbicas pequeñas (SH), proteínas de la matriz M y M2, proteínas nucleocápsidas N, P y L. En otras realizaciones, antígenos de neumovirus incluyen F, G y M. En ciertas realizaciones, antígenos de metaneumovirus son también formulados en o derivados de virus quiméricos.

*Morbillivirus*: Los antígenos virales, incluyen, pero no están limitados a, aquellos derivados de un Morbillivirus, tales como el sarampión. En ciertas realizaciones, los antígenos de morbillivirus son seleccionados de una o más de las siguientes proteínas: hemaglutinina (H), glicoproteína (G), factor (F) de fusión, proteína grande (L), nucleoproteína (NP), fosfoproteína polimerasa (P) y matriz (M). Las vacunas de sarampión comercialmente disponibles incluyen virus vivo atenuado de sarampión, normalmente en combinación con paperas y la rubéola (MMR).

*Picornavirus*: Los antígenos virales incluyen, pero no están limitados a aquellos derivados de picornavirus, como Enterovirus, Rhinovirus, Heparnavirus, Cardiovirus y Aftovirus. En ciertas realizaciones, los antígenos se derivan de Enterovirus, mientras que en otras realizaciones el enterovirus poliovirus. En aún otras realizaciones, los antígenos se derivan de rhinovirus. En ciertas realizaciones, los antígenos son formulados en partículas como virus (VLPs)

*Enterovirus*: Los antígenos virales incluyen, pero no están limitados a, aquellos derivados de un Enterovirus, como los Poliovirus tipos 1, 2 o 3, virus Cocksackie A tipos 1 a 22 y 24, virus Cocksackie B tipos 1 a 6, virus de Echovirus (ECHO) tipos 1 a 9, 11 a 27 y 29 a 34 y Enterovirus 68 a 71. En ciertas realizaciones, los antígenos se derivan de Enterovirus, mientras que en otras realizaciones del enterovirus es Poliovirus. En ciertas realizaciones, los antígenos de enterovirus son seleccionados de una o más de las siguientes proteínas de la cápside VP0, VP1, VP2, VP3 y VP4. Las vacunas de polio

comercialmente disponibles incluyen vacuna de poliovirus vacuna anti poliomielítica inactivada (IPV) y vacuna anti poliomielítica Oral (OPV). En ciertas realizaciones, los antígenos son formulados en partículas como virus.

*Bunyavirus*: Los antígenos virales incluyen, pero no se limitan a, los derivados de un *Orthobunyavirus*, tal como el California encefalitis virus, un *Phlebovirus*, tal como el virus de la fiebre del valle del Rift, o un *Nairovirus*, tal como el virus de la fiebre hemorrágica de Crimea-Congo.

*Rhinovirus*: Los antígenos virales incluyen, pero no están limitados a, aquellos derivados de rinovirus. En ciertas realizaciones, los antígenos de rinovirus son seleccionados de una o más de las siguientes proteínas de la cápside: VP0, VP1, VP2, VP2 y VP4. En ciertas realizaciones, los antígenos son formulados en partículas como virus (VLPs).

*Heparnavirus*: Los antígenos virales incluyen, pero no están limitados a, aquellos derivados de un Heparnavirus, tales como, sólo a modo de ejemplo, virus de la Hepatitis A (HAV). Las vacunas disponibles comercialmente para el HAV incluyen vacuna inactivada de HAV.

*Togavirus*: Los antígenos virales incluyen, pero no están limitados a, aquellos derivados de un Togavirus, como un Rubivirus, un Alfavirus o un Arterivirus. En ciertas realizaciones, los antígenos que se derivan de Rubivirus, tal como, sólo a manera de ejemplo, el virus de la rubéola. En ciertas realizaciones, los antígenos de togavirus se seleccionan desde E1, E2, E3, C, NSP-1, NSPO-2, NSP-3 o NSP-4. En ciertas realizaciones, los antígenos de togavirus se seleccionan desde E1, E2 o E3. Las vacunas disponibles comercialmente de rubéola incluyen un virus vivo adaptado por el frío, generalmente en combinación con las vacunas de parotiditis y sarampión (MMR).

*Flavivirus*: Los antígenos virales incluyen, pero no están limitados a, aquellos que se derivan de un Flavivirus, tales como virus de la encefalitis tick-borne (TBE), virus del Dengue (tipos 1, 2, 3 o 4), virus de la fiebre amarilla, virus de la encefalitis japonesa, virus de la enfermedad de la selva de Kyasanur, virus de la encefalitis del Nilo Occidental, virus de la encefalitis de San Luis, virus de la encefalitis rusa de primavera-verano, virus de la encefalitis Powassan. En ciertas realizaciones, se seleccionan los antígenos flavivirus de PrM, M, C, E, NS-1, NS-2a, NS2b, NS3, NS4a, NS4b y NS5. En ciertas realizaciones, se seleccionan los antígenos flavivirus del PrM, M y E. La vacuna disponible comercialmente de TBE incluye vacunas de virus inactivados. En ciertas realizaciones, los antígenos son formulados en partículas como virus (VLPs).

*Pestivirus*: Los antígenos virales incluyen, pero no están limitados a, aquellos derivados de un Pestivirus, tales como la diarrea viral bovina (VDVB), la peste porcina clásica (CSFV) o enfermedad de la frontera (BDV).

*Hepadnavirus*: Los antígenos virales incluyen, pero no están limitados a, aquellos derivados de un Hepadnavirus, tales como virus de Hepatitis B. En ciertas realizaciones, se seleccionan los antígenos hepadnavirus de antígenos de superficie (L, M y S), antígenos de núcleo (HBc, HBe). Vacunas de VHB comercialmente disponibles incluyen vacunas de subunidad que comprenden el antígeno de superficie proteína S.

*Hepatitis C virus*: los antígenos virales incluyen, pero no están limitados a, aquellos derivados de un virus de la Hepatitis C (HVC). En ciertas realizaciones, los antígenos HVC son seleccionados de uno o más de E1, E2, E1/E2, poliproteína NS345, poliproteína del núcleo NS 345 y péptidos de las regiones no estructurales o el núcleo. En ciertas realizaciones, los antígenos del virus de Hepatitis C incluyen uno o más de los siguientes: proteínas E1 o E2 HVC, complejos heterodímeros E1/E2, proteínas del núcleo y proteínas no estructurales, o fragmentos de estos antígenos, en donde las proteínas no estructurales opcionalmente pueden modificarse para eliminar la actividad enzimática pero conservar la inmunogenicidad. En ciertas realizaciones, los antígenos son formulados en partículas como virus (VLPs).

*Rhabdovirus*: Los antígenos virales incluyen, pero no están limitados a, aquellos derivados de un Rhabdovirus, tales como un Lyssavirus (virus de la rabia) y Vesiculovirus (VSV). Se pueden seleccionar antígenos Rhabdovirus de glicoproteína (G), nucleoproteína (N), proteína grande (L), proteínas estructurales (NS). La vacuna antirrábica comercialmente disponible comprende virus muertos cultivados en células diploides humanas o células pulmonares de fetos de monos Rhesus.

*Caliciviridae*: Los antígenos virales incluyen, pero no están limitados a, aquellos derivados de Caliciviridae, como el virus Norwalk y virus tipo Norwalk, tal como Virus Hawaii y Virus de montañas nevadas. En ciertas realizaciones, los antígenos son formulados en partículas como virus (VLPs).

*Coronavirus*: Los antígenos virales incluyen, pero no se limitan a, aquellos obtenidos de un Coronavirus, SARS, coronavirus respiratorio humano, bronquitis infecciosa aviar (IBV), virus de hepatitis de ratón (MHV) y el virus de la gastroenteritis transmisible porcina (TGEV). En ciertas realizaciones, se seleccionan los antígenos de coronavirus de espiga (S), envoltura (E), matriz (M), nucleocápside (N) y glicoproteína de

hemaglutinina-esterasa (HE). En ciertas realizaciones, el antígeno de coronavirus se deriva de un virus del SARS. En ciertas realizaciones, el coronavirus se deriva de un antígeno viral de SARS como se describe en el documento WO 04/92360.

*Retrovirus:* Los antígenos virales incluyen, pero no están limitados a, aquellos derivados de un Retrovirus, tal como un Oncovirus, un Lentivirus o un Spumavirus. En ciertas realizaciones, los antígenos oncovirus son derivados de HTLV-1, HTLV-2 ó HTLV-5. En ciertas realizaciones, los antígenos lentivirus son derivados de HIV-1 ó HIV-2. En ciertas realizaciones, los antígenos son derivados de subtipos de HIV-1 (o clados), incluyendo, pero sin limitarse a, los subtipos de HIV-1 (o clados) A, B, C, D, F, G, H, J, K, O. En otras realizaciones, los antígenos derivan de formas recombinantes circulantes de HIV-1 (CRFs), incluyendo, sin limitarse a, A/B, A/E, A/G, A/G/I, etc. En ciertas realizaciones, los antígenos de retrovirus se seleccionan de gag, pol, env, tax, tat, rex, rev, nef, vif, vpu, y vpr. En ciertas realizaciones, los antígenos del HIV son seleccionados a partir gag (p24gag y p55gag), env (gp160 y gp41), pol, tat, nef, rev vpu, miniproteínas, (preferentemente p55 gag y gp140v suprimidos). En ciertas realizaciones, los antígenos del HIV se derivan de una o más de las siguientes cepas: HIVIIIb, HIVSF2, HIVLAV, HIVLAI, HIVMN, HIV-1CM235, HIV-1US4, HIV-1SF162, HIV-1TV1, HIV-1MJ4,. En ciertas realizaciones, los antígenos son derivados de retrovirus humanos endógenos, incluyendo, pero no limitados a, HERV-K ("viejo" HERV-K y "nuevo" HERV-K).

*Reovirus:* Los antígenos virales incluyen, pero no están limitados a, aquellos derivados de un Reovirus, como un Ortoreovirus, un Rotavirus, un Orbivirus o un Coltivirus. En ciertas realizaciones, los antígenos se seleccionan de proteínas estructurales  $\lambda 1$ ,  $\lambda 2$ ,  $\lambda 3$ ,  $\mu 1$ ,  $\mu 2$ ,  $\sigma 1$ ,  $\sigma 2$  ó  $\sigma 3$ , ó proteínas no estructurales  $\sigma NS$ ,  $\mu NS$  ó  $\sigma 1s$ . En ciertas realizaciones, los antígenos reovirus se derivan de un Rotavirus. En ciertas realizaciones, los antígenos de rotavirus son seleccionados de VP1, VP2, VP3, VP4 (o el producto escindido VP5 y VP8), NSP1, VP6, NSP3, NSP2, VP7, NSP4 ó NSP5. En ciertas realizaciones, los antígenos de rotavirus incluyen VP4 (o el producto escindido VP5 y VP8) y VP7.

*Parvovirus:* Los antígenos virales incluyen, pero no están limitados a, aquellos derivados de un Parvovirus, tal como el Parvovirus B19. En ciertas realizaciones, se seleccionan los antígenos Parvovirus de VP-1, VP-2, VP-3, NS-1 y NS-2. En ciertas realizaciones, el antígeno Parvovirus es la proteína de la cápside VP1 o VP-2. En ciertas realizaciones, los antígenos son formulados en partículas como virus (VLPs).

*Delta hepatitis virus (HDV)*: Los antígenos virales incluyen, pero no están limitados a, aquellos derivados de HDV, particularmente  $\delta$ -antígeno de HDV.

*Hepatitis E virus (HEV)*: Los antígenos virales incluyen, pero no están limitados a, aquellos derivados de HEV.

*Hepatitis G virus (HGV)*: Los antígenos virales incluyen, pero no están limitados a, aquellos derivados de HGV.

*Human Herpesvirus*: Los antígenos virales incluyen, pero no están limitados a, aquellos derivados de un Herpesvirus humano, tal como, sólo a modo de ejemplo, virus de Herpes simple (HSV), virus de la varicela zoster (VZV), virus Epstein-Barr (EBV), citomegalovirus (CMV), Herpesvirus humano 6 (HHV6), Herpesvirus humano 7 (HHV7) y Herpesvirus humano 8 (HHV8). En ciertas realizaciones, se seleccionan los antígenos Herpesvirus humano de proteínas inmediatas y tempranas ( $\alpha$ ), proteínas tempranas ( $\beta$ ) y proteínas tardías ( $\gamma$ ). En ciertas realizaciones, los antígenos HSV se derivan de cepas de HSV-1 o HSV-2. En ciertas realizaciones, se seleccionan los antígenos de HSV de glicoproteínas gB, gC, gD y gH, proteína de fusión (gB) o proteínas de evasión inmune (gC, gE o gI). En ciertas realizaciones, los antígenos VZV son seleccionados de proteínas del núcleo, nucleocápside, de tegumento o de envoltura. Una vacuna viva atenuada contra VZV está disponible comercialmente. En ciertas realizaciones, los antígenos de EBV se seleccionan de antígeno de proteínas tempranas (EA), antígeno de cápside viral (VCA) y antígeno de glicoproteínas de membrana (MA). En ciertas realizaciones, se seleccionan los antígenos de CMV de proteínas de cápside, glicoproteínas de envoltura (como gB y gH) y proteínas de tegumento. En otras realizaciones, los antígenos de CMV pueden seleccionarse de una o más de las siguientes proteínas: pp65, IE1, gB, gD, gH, gL, gM, gN, gO, UL128, UL129, gUL130, UL150, UL131, UL33, UL78, US27, US28, RL5A, RL6, RL10, RL11, RL12, RL13, UL1, UL2, UL4, UL5, UL6, UL7, UL8, UL9, UL10, UL11, UL14, UL15A, UL16, UL17, UL18, UL22A, UL38, UL40, UL41A, UL42, UL116, UL119, UL120, UL121, UL124, UL132, UL147A, UL148, UL142, UL144, UL141, UL140, UL135, UL136, UL138, UL139, UL133, UL135, UL148A, UL148B, UL148C, UL148D, US2, US3, US6, US7, US8, US9, US10, US11, US12, US13, US14, US15, US16, US17, US18, US19, US20, US21, US29, US30 y US34A. Los antígenos de CMV también pueden ser fusiones de una o más proteínas de CMV, tal como, sólo a modo de ejemplo, pp65/IE1 (Reap *et al.*, *Vaccine* (2007) 25:7441-7449). En ciertas realizaciones, los antígenos son formulados en partículas como virus (VLPs).

000129

*Papovaviruses*: Los antígenos incluyen, pero no están limitados a, aquellos derivados de Papovavirus, como el virus del papiloma y Poliomavirus. En ciertas realizaciones, los virus del papiloma incluyen los serotipos de VPH 1, 2, 4, 5, 6, 8, 11, 13, 16, 18, 31, 33, 35, 39, 41, 42, 47, 51, 57, 58, 63 y 65. En ciertas realizaciones, los antígenos de VPH se derivan de los serotipos 6, 11, 16 ó 18. En ciertas realizaciones, los antígenos de VPH son seleccionados de proteínas de cápside (L1) y (L2), ó E1 – E7, o fusiones de las mismas. En ciertas realizaciones, los antígenos de VPH son formulados en partículas como virus (VLPs). En ciertas realizaciones, los virus de Poliomavirus incluyen virus BK y virus JK. En ciertas realizaciones, se seleccionan los antígenos de poliomavirus de VP1, VP2 y VP3.

*Adenovirus*: Los antígenos incluyen aquellos derivados de Adenovirus. En ciertas realizaciones, los antígenos de Adenovirus se derivan de serotipo de Adenovirus 36 (Ad-36). En ciertas realizaciones, el antígeno se deriva de una secuencia de proteína o péptido que codifica para una proteína de envoltura Ad-36 o fragmentos de los misma (WO 2007/120362).

- [418] Adicionalmente se proporcionan antígenos, composiciones, métodos y microbios en *Vaccines*, 4<sup>th</sup> Edition (Plotkin y Orenstein ed. 2004); *Medical Microbiology* 4<sup>th</sup> Edition (Murray et al. ed. 2002); *Virology*, 3rd Edition (W.K. Joklik ed. 1988); *Fundamental Virology*, 2nd Edition (B.N. Fields and D.M. Knipe, eds. 1991), que se contemplan en conjunto con las composiciones inmunogénicas que se proporcionan en el presente documento.

#### Antígenos de Hongos

- [419] Antígenos de hongos para su uso en las composiciones inmunogénicas proporcionada en el presente documento, incluyen, pero no están limitados a, aquellos derivados de uno o más de los hongos indicados a continuación:

Antígenos de hongos se derivan de Dermatophytes, que incluyen: *Epidermophyton floccusum*, *Microsporum audouini*, *Microsporum canis*, *Microsporum distortum*, *Microsporum equinum*, *Microsporum gypsum*, *Microsporum nanum*, *Trichophyton concentricum*, *Trichophyton equinum*, *Trichophyton gallinae*, *Trichophyton gypseum*, *Trichophyton megnini*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Trichophyton quinckeanum*, *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton schoenleini*, *Trichophyton tonsurans*, *Trichophyton verrucosum*, *T. verrucosum* var. *album*, var. *discoides*, var. *ochraceum*, *Trichophyton violaceum*, y/o *Trichophyton faviforme*; y

Antígenos de hongos se derivan de *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus nidulans*, *Aspergillus terreus*, *Aspergillus sydowi*, *Aspergillus flavatus*, *Aspergillus glaucus*, *Blastoschizomyces capitatus*, *Candida albicans*, *Candida enolase*, *Candida tropicalis*, *Candida glabrata*, *Candida krusei*, *Candida parapsilosis*, *Candida stellatoidea*, *Candida kusei*, *Candida parakwsei*, *Candida lusitaniae*, *Candida pseudotropicalis*, *Candida guilliermondi*, *Cladosporium carrionii*, *Coccidioides immitis*, *Blastomyces dermatidis*, *Cryptococcus neoformans*, *Geotrichum clavatum*, *Histoplasma capsulatum*, *Klebsiella pneumoniae*, *Microsporidia*, *Encephalitozoon spp.*, *Septata intestinalis* y *Enterocytozoon bienersi*; los menos comunes son *Brachiola spp.*, *Microsporidium spp.*, *Nosema spp.*, *Pleistophora spp.*, *Trachipleistophora spp.*, *Vittaforma spp.*, *Paracoccidioides brasiliensis*, *Pneumocystis carinii*, *Pythium insidiosum*, *Pityrosporum ovale*, *Sacharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces boulardii*, *Saccharomyces pombe*, *Scedosporium apiospermum*, *Sporothrix schenckii*, *Trichosporon beigeli*, *Toxoplasma gondii*, *Penicillium marneffei*, *Malassezia spp.*, *Fonsecaea spp.*, *Wangiella spp.*, *Sporothrix spp.*, *Basidiobolus spp.*, *Conidiobolus spp.*, *Rhizopus spp.*, *Mucor spp.*, *Absidia spp.*, *Mortierella spp.*, *Cunninghamella spp.*, *Saksenaea spp.*, *Alternaria spp.*, *Curvularia spp.*, *Helminthosporium spp.*, *Fusarium spp.*, *Aspergillus spp.*, *Penicillium spp.*, *Monolinia spp.*, *Rhizoctonia spp.*, *Paecilomyces spp.*, *Pithomyces spp.*, y *Cladosporium spp.*

- [420] En ciertas realizaciones, el proceso para producir un antígeno de hongo incluye un método en el cual una fracción solubilizada se extrae y se separa de una fracción insoluble de células fúngicas, de la cual la pared celular ha sido sustancialmente eliminada o al menos parcialmente eliminada; proceso caracterizado porque comprende las etapas de: obtención de células fúngicas vivas; obtención de células fúngicas en las cuales se ha eliminado la pared celular sustancial o al menos parcialmente; ruptura de las células micóticas en las cuales se ha eliminado la pared celular sustancial o al menos parcialmente; obtención de una fracción insoluble; y extracción y separación de una fracción solubilizada de la fracción insoluble.

#### Antígenos/patógenos de Protozoos

- [421] Los antígenos/patógenos de protozoos para su uso en las composiciones inmunogénicas proporcionadas en el presente documento, incluyen, pero no están limitados a, aquellos derivados de uno o más de los siguientes protozoos: *Entamoeba histolytica*, *Giardia lamblia*, *Cryptosporidium parvum*, *Cyclospora cayatanensis* y *Toxoplasma*.

000131

[422]

Antígenos/patógenos de Plantas

[423] Los antígenos/patógenos de plantas para su uso en las composiciones inmunogénicas proporcionadas en el presente documento, incluyen, pero no están limitados a, aquellos derivados de *Ricinus communis*.

Antígenos de ETS

[424] En ciertas realizaciones, las composiciones inmunogénicas proporcionadas en el presente documento, incluyen uno o más antígenos derivados de una enfermedad de transmisión sexual (ETS). En ciertas realizaciones, tales antígenos se proporcionan como profilaxis de ETS como la clamidia, herpes genital, hepatitis (como el VHC), verrugas genitales, gonorrea, sífilis y/o cancroide. En otras realizaciones, tales antígenos se proporcionan para la terapia del ETS como clamidia, herpes genital, hepatitis (como el VHC), verrugas genitales, gonorrea, sífilis y/o cancroide. Tales antígenos son derivados de una o más ETS viral o bacteriana. En ciertas realizaciones, los antígenos virales de ETS derivan del VIH, virus del herpes simplex (HSV-1 y HSV-2), papiloma humano (VPH) y la hepatitis (VHC). En ciertas realizaciones, los antígenos bacterianos de ETS se derivan de *Neisseria gonorrhoeae*, *Chlamydia trachomatis*, *Treponema pallidum*, *Haemophilus ducreyi*, *E. coli*, y *Streptococcus agalactiae*. Ejemplos de antígenos específicos derivados de estos patógenos ya fueron descritos.

Antígenos Respiratorios

[425] En ciertas realizaciones, las composiciones inmunogénicas proporcionadas en el presente documento, incluyen uno o más antígenos derivados de un patógeno causante de la enfermedad respiratoria. A modo de ejemplo solamente, tales antígenos respiratorios se derivan de un virus respiratorio tal como, Ortomixovirus (influenza), neumovirus (RSV), Paramixovirus (PIV), Morbillivirus (sarampión), Togavirus (Rubéola), VZV y Coronavirus (SARS). En ciertas realizaciones, los antígenos respiratorios se derivan de una bacteria que causa enfermedades respiratorias, tal como, sólo a manera de ejemplo, *Streptococcus pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bordetella pertussis*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydia pneumoniae*, *Bacillus anthracis*, y *Moraxella catarrhalis*. Ejemplos de antígenos específicos derivados de estos patógenos ya fueron descritos.

000132

### Antígenos de Vacunas Pediátricas

[426] En ciertas realizaciones, las composiciones inmunogénicas proporcionadas en el presente documento, incluyen uno o más antígenos adecuados para su uso en sujeto pediátricos. Los sujetos pediátricos tienen normalmente menos de aproximadamente 3 años, o menos de aproximadamente 2 años, o menos de aproximadamente 1 año. Los antígenos pediátricos son administrados varias veces en el transcurso de 6 meses, 1, 2 ó 3 años. Los antígenos pediátricos son derivados de un virus que puede focalizarse en las poblaciones pediátricas y/o un virus con el que las poblaciones pediátricas son susceptibles a infectarse. Los antígenos virales pediátricos incluyen, pero no se limitan a, antígenos derivados de uno o más de Ortomixovirus (influenza), neumovirus (VRS), Paramixovirus (PIV y parotiditis), Morbillivirus (sarampión), Togavirus (Rubeola), Enterovirus (polio), VHB, Coronavirus (SARS) y virus varicela zoster (VZV), virus de Epstein Barr (EBV). Los antígenos bacterianos pediátricos incluyen antígenos derivados de uno o más de: *Streptococcus pneumoniae*, *Neisseria meningitides*, *Streptococcus pyogenes* (*Streptococcus* grupo A), *Moraxella catarrhalis*, *Bordetella pertussis*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium tetani* (Tétanos), *Cornynebacterium diphtheriae* (Difteria), *Haemophilus influenzae B* (Hib), *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus agalactiae* (Group B *Streptococcus*), y *E. coli*. Ejemplos de antígenos específicos derivados de estos patógenos ya fueron descritos.

### Antígenos adecuados para su uso en Ancianos e Individuos Inmunocomprometidos

[427] En ciertas realizaciones, las composiciones inmunogénicas proporcionadas en el presente documento, incluyen uno o más antígenos adecuados para su uso en individuos ancianos o inmunodeprimidos. Tales individuos deban ser vacunados más frecuentemente, con formulaciones de dosis más altas o con adyuvantes para mejorar su respuesta inmune a los antígenos específicos. Antígenos que están destinados para ser utilizados en ancianos o individuos inmunocomprometidos incluyen antígenos derivados de uno o más de los siguientes patógenos: *Neisseria meningitides*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes* (*Streptococcus* Group A), *Moraxella catarrhalis*, *Bordetella pertussis*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermis*, *Clostridium tetani* (Tétano), *Cornynebacterium diphtheriae* (Difteria), *Haemophilus influenzae B* (Hib), *Pseudomonas aeruginosa*, *Legionella pneumophila*, *Streptococcus agalactiae* (*Streptococcus* Group B), *Enterococcus faecalis*, *Helicobacter pylori*, *Chlamydia pneumoniae*, Ortomixovirus (influenza), neumovirus (RSV), Paramixovirus (PIV y parotiditis), Morbillivirus (sarampión), Togavirus (Rubeola), Enterovirus (polio), VHB, Coronavirus (SARS), virus de la varicela-zóster (VZV), Virus de Epstein Barr (VEB), citomegalovirus (CMV). Ejemplos de antígenos

000133

específicos derivados de estos patógenos ya fueron descritos.

*Antígenos adecuados para su uso en Vacunas para Adolescentes*

[428] En ciertas realizaciones, las composiciones inmunogénicas proporcionadas en el presente documento, incluyen uno o más antígenos adecuados para su uso en sujetos adolescentes. Los adolescentes tienen necesidad que se estimule al antígeno pediátrico previamente administrado. Los antígenos pediátricos que son adecuados para su uso en adolescentes ya fueron descritos más arriba. Además, los adolescentes son el objetivo para recibir antígenos derivados de un patógeno de ETS a fin de garantizar la inmunidad protectora o terapéutica antes del comienzo de la actividad sexual. Los antígenos para las ETS, que son adecuados para su uso en adolescentes son descritos ya fueron descritos en el presente documento.

*Antígenos Tumorales*

[429] En ciertas realizaciones, un antígeno tumoral o para combatir el cáncer se utiliza en conjunto con las composiciones inmunogénicas proporcionadas en el presente documento. En ciertas realizaciones, los antígenos tumorales son antígenos tumorales que contiene péptidos, tales como un antígeno tumoral de polipéptidos o antígenos tumorales de glicoproteínas. En ciertas realizaciones, el antígeno tumoral es un antígeno tumoral que contiene sacáridos, tal como un antígeno tumoral de glicolípidos o un antígeno tumoral de gangliósidos. En ciertas realizaciones, el antígeno tumoral es un antígeno tumoral que contiene un polinucleótido que expresa un antígeno tumoral que contiene el polipéptidos, por ejemplo, una construcción de vectores de RNA o una construcción de vectores de DNA, como un plásmido ADN.

[430] Antígenos tumorales apropiados para su uso en conjunto con las composiciones inmunogénicas proporcionadas en el presente documento, abarcan una amplia variedad de moléculas, como los antígenos tumorales que (a) antígenos tumorales que contiene polipéptidos, incluyendo polipéptidos (que pueden tener, por ejemplo, 8-20 aminoácidos de longitud, aunque longitudes fuera de éste rango también son comunes), lipopolipéptidos y glicoproteínas, (b) antígenos tumorales que contiene sacáridos, incluyendo polisacáridos, mucinas, gangliósidos, glicolípidos y glicoproteínas, y (c) polinucleótidos que expresan polipéptidos antigénicos.

[431] En ciertas realizaciones, los antígenos tumorales son, por ejemplo, (a) moléculas completas asociadas a las células cancerosas, (b) homólogos y formas modificadas de la misma, incluyendo moléculas con fracciones eliminadas, añadidas o sustituidas y (c) fragmentos de la mismas. En ciertas realizaciones, los antígenos tumorales son

proporcionados en forma recombinante. En ciertas realizaciones, los antígenos tumorales incluyen, por ejemplo, antígenos con restricción clase I que son reconocidos por linfocitos CD8 + o antígenos con restricción clase II que son reconocidos por linfocitos CD4 +.

- [432] En ciertas realizaciones, los antígenos tumorales incluyen, pero no están limitados a, (a) antígenos de cáncer de testículos, tal como polipéptidos de la familia NY-ESO-1, SSX2, SCP1, así como RAGE, BAGE, GAGE y MAGE, por ejemplo, GAGE-1, GAGE-2, MAGE-1, MAGE-2, MAGE-3, MAGE-4, MAGE-5, MAGE-6, y MAGE-12 (que puede utilizarse, por ejemplo, para combatir melanoma, tumores en pulmones, cabeza y cuello, NSCLC, mama, gastrointestinales y de la vejiga), (b) antígenos mutados, por ejemplo, p53 (asociado con varios tumores sólidos, por ejemplo, colorectales, pulmonares, cáncer de cabeza y cuello), p21/Ras (asociado, por ejemplo, con melanoma, cáncer de páncreas y cáncer colorectal), CDK4 (asociado, por ejemplo, con melanoma), MUM1 (asociado, por ejemplo, con melanoma), caspasa-8 (asociada, por ejemplo, con cáncer de cabeza y cuello), CIA 0205 (asociada, por ejemplo, con cáncer de la vejiga), HLA-A2-R1701, beta catenina (asociada con, por ejemplo, melanoma), TCR (asociado, por ejemplo, con linfoma no-Hodgkins de las células T), BCR-abl (asociado con, por ejemplo, la leucemia mieloide crónica), triosefosfato isomerasa, KIA 0205, CDC-27 y LDLR-FUT, (c) antígenos sobreexpresados, por ejemplo, Galectina 4 (asociado con, por ejemplo, el cáncer colorectal), Galectina 9 (asociado con, por ejemplo, la enfermedad de Hodgkin), proteinasa 3 (asociada con, por ejemplo, la leucemia mieloide crónica), WT 1 (asociado con, por ejemplo, varias leucemias), anhidrasa carbónica (asociada con, por ejemplo, el cáncer renal), aldolasas A (asociada, por ejemplo, con el cáncer de pulmón), PRAME (asociado con, por ejemplo, melanoma), HER-2/neu (asociado con, por ejemplo, cáncer de mama, colon, pulmón y ovario), alfa-fetoproteína (asociada con, por ejemplo, hepatoma), KSA (asociado con, por ejemplo, el cáncer colorectal), gastrina (asociada, por ejemplo, cáncer pancreático y gástrico), proteína catalizadora telomerasa, MUC-1 (asociado con, por ejemplo, cáncer de mama y ovario), G-250 (asociado, por ejemplo, con carcinoma de células renales), p53 (asociado, por ejemplo, con cáncer de mama, cáncer de colon) y antígeno carcinoembriónico (asociado con, por ejemplo, el cáncer de mama, cáncer de pulmón y cánceres del tracto gastrointestinal, tal como el cáncer colorectal), (d) antígenos compartidos, por ejemplo, antígenos de diferenciación de melanoma-melanocitos, tal como MART-1/Melan A, SP100, MC1R, receptor de hormona estimulante de melanocitos, tirosinasa, tirosinasa relacionados con proteína-1/TRP1 y tirosinasa relacionados con la proteína-2/TRP2 (asociado con, por ejemplo, melanoma), (e) antígenos prostáticos tal como PAP, PSA, PSMA, PSH-P1, PSM-P1, PSM-P2, asociados con, por ejemplo, el cáncer de próstata, (f) idiotipos de inmunoglobulina (por ejemplo, asociados con mieloma y linfomas de células B), y (g) otros antígenos tumorales, tales como antígenos que contienen polipéptidos

y sacárido (i) glicoproteínas tales como sialil Tn y sialil Lex (asociadas con, por ejemplo, cáncer de mama y colon) también como con varias mucinas; glicoproteínas que están acopladas con una proteína transportadora (por ejemplo, MUC-1 que están acoplada a KLH); (ii) lipopolipéptidos (por ejemplo, MUC-1 ligado a una grupo funcional lípido); (iii) polisacáridos (por ejemplo, hexasacárido sintético Globo H), que están acoplados con proteínas transportadoras (por ejemplo, KLH), (iv) gangliósidos, tal como GM2, GM12, GD2, GD3 (asociados con , por ejemplo, cáncer de cerebro, pulmón, melanoma), que también están acoplados a proteínas transportadoras (por ejemplo, KLH).

[433] En ciertas realizaciones, los antígenos tumorales incluyen, pero no están limitados a, p15, Hom/Mel-40, H-Ras, E2A-PRL, H4-RET, IGH-IGK, MYL-RAR, antígenos del virus Epstein Barr, EBNA, antígenos del virus del papiloma humano (VPH), incluyendo E6 y E7, antígenos del virus de la Hepatitis B y C, antígenos de virus linfotrópicos de células T humanas, TSP-180, p185erbB2, p180erbB-3, c-met, mn-23H1, TAG-72-4, CA 19-9, CA 72-4, CAM 17.1, NuMa, K-ras, p16, TAGE, PSCA, CT7, 43-9F, 5T4, 791 Tgp72, beta-HCG, BCA225, BTAA, CA 125, CA 15-3 (CA 27.29\BCAA), CA 195, CA 242, CA-50, CAM43, CD68\KP1, CO-029, FGF-5, Ga733 (EpCAM), HTgp-175, M344, MA-50, MG7-Ag, MOV18, NB/70K, NY-CO-1, RCAS1, SDCCAG16, TA-90 (Mac-2 proteína de unión\cyclofilina C- proteína asociada), TAAL6, TAG72, TLP, TPS, y similares.

[434] Antígenos que contienen polinucleótidos utilizados en conjunto con las composiciones inmunogénicas proporcionadas en el presente documento, que incluyen polinucleótidos que codifican antígenos polipéptidos contra el cáncer, tales como los enumerados anteriormente. En ciertas realizaciones, los antígenos que contiene polinucleótido incluyen, pero no se limitan a, vectores de construcción de DNA o RNA, como vectores de plásmidos (por ejemplo, pCMV), que son capaces de expresar antígenos polipéptidos contra el cáncer *in vivo*.

[435] En ciertas realizaciones, los antígenos tumorales se derivan de componentes celulares mutados o alterados. Después de la alteración, los componentes celulares ya no realizan sus funciones reguladoras, y por lo tanto la célula puede experimentar crecimiento descontrolado. Ejemplos representativos de componentes celulares alterados incluyen, pero no se limitan a, ras, p53, Rb, proteína alterada codificada por el gen de tumor de Wilms, ubiquitina, mucina, proteínas codificadas por los genes DCC, APC y MCC, así como receptores o estructuras tipo receptores, tales como neu, receptor de la hormona tiroidea, receptor del factor de crecimiento (PDGF) derivado de plaquetas, receptor de insulina, receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGF) y factor del factor estimulante de la formación de colonias (CSF).

- [436] Además, los antígenos virales y bacterianos, se utilizan junto con las composiciones inmunogénicas proporcionadas en el presente documento, para el tratamiento del cáncer. En ciertas realizaciones, proteínas transportadoras, tales como CRM<sub>197</sub>, toxoide tetánico, o antígenos de *Salmonella typhimurium*; se utilizan en conjunción/conjugación con compuestos proporcionados en el presente documento, para tratamiento del cáncer. Las terapias de combinación de antígenos de cáncer mostrarán mayor eficacia y biodisponibilidad en comparación con las terapias existentes.
- [437] En ciertas realizaciones, las composiciones inmunogénicas que contienen al menos uno compuesto de fórmula (I) incluyen sacáridos capsulares de al menos dos de los serogrupos A, C, W135 e Y de *Neisseria meningitidis*. En otras realizaciones, tales vacunas adicionalmente comprenden un antígeno de uno o más de los siguientes: (a) Serogrupo B de *N. meningitidis*; (b) *Haemophilus influenzae* tipo B; ó (c) *Streptococcus pneumoniae*.
- [438] En ciertas realizaciones, las composiciones inmunogénicas que contienen al menos uno compuesto de fórmula (I) incluyen los serogrupos A, C, W135 e Y de *N. meningitides*. En ciertas realizaciones, las composiciones inmunogénicas que contienen al menos uno compuesto de fórmula (I) incluyen los serogrupos A, C, W135 e Y de *N. meningitides*. En ciertas realizaciones, las composiciones inmunogénicas que contienen al menos uno compuesto de fórmula (I) incluyen los serogrupos B, C, W135 e Y de *N. meningitides*. En ciertas realizaciones, las composiciones inmunogénicas que contienen al menos uno compuesto de fórmula (I) incluyen los serogrupos A, B, C, W135 e Y de *N. meningitides*. En ciertas realizaciones, las composiciones inmunogénicas que contienen al menos uno compuesto de fórmula (I) incluyen H. influenzae tipo B y los serogrupos C, W135 e Y de *N. meningitides*. En ciertas realizaciones, las composiciones inmunogénicas que contienen al menos uno compuesto de fórmula (I) incluyen H. influenzae tipo B y los serogrupos A, C, W135 e Y de *N. meningitides*. En ciertas realizaciones, las composiciones inmunogénicas que contienen al menos uno compuesto de fórmula (I) incluyen H. influenzae tipo B y los serogrupos B, C, W135 e Y de *N. meningitides*. En ciertas realizaciones, las composiciones inmunogénicas que contienen al menos uno compuesto de fórmula (I) incluyen H. influenzae tipo B y los serogrupos A, B, C, W135 e Y de *N. meningitides*. En ciertas realizaciones, las composiciones inmunogénicas que contienen al menos uno compuesto de fórmula (I) incluyen S. pneumoniae y los serogrupos C, W135 e Y de *N. meningitides*. En ciertas realizaciones, las composiciones inmunogénicas que contienen al menos uno compuesto de fórmula (I) incluyen S. pneumoniae y los serogrupos A, C, W135 e Y de *N. meningitides*. En ciertas realizaciones, las composiciones inmunogénicas que contienen al menos uno compuesto de fórmula (I) incluyen S. pneumoniae y los serogrupos B, C, W135 e Y de *N. meningitides*.

*meningitides*. En ciertas realizaciones, las composiciones inmunogénicas que contienen al menos uno compuesto de fórmula (I) incluyen *S. pneumoniae* y los serogrupos A, B, C, W135 e Y de *N. meningitides*. En ciertas realizaciones, las composiciones inmunogénicas que contienen al menos uno compuesto de fórmula (I) incluyen *H. influenzae* tipo B, *S. pneumoniae* y los serogrupos C, W135 e Y de *N. meningitides*. En ciertas realizaciones, las composiciones inmunogénicas que contienen al menos uno compuesto de fórmula (I) incluyen *H. influenzae* tipo B, *S. pneumoniae* y los serogrupos A, C, W135 e Y de *N. meningitides*. En ciertas realizaciones, las composiciones inmunogénicas que contienen al menos uno compuesto de fórmula (I) incluyen *H. influenzae* tipo B, *S. pneumoniae* y los serogrupos B, C, W135 e Y de *N. meningitides*. En ciertas realizaciones, las composiciones inmunogénicas que contienen al menos uno compuesto de fórmula (I) incluyen *H. influenzae* tipo B, *S. pneumoniae* y los serogrupos A, B, C, W135 e Y de *N. meningitidis*.

### **Kits**

[439] En el presente documento también se proporcionan paquetes ó kits de productos farmacéuticos que incluyen uno o más envases que contienen un compuesto de fórmula (I) útil para el tratamiento o la prevención de una enfermedad o un desorden asociado con receptores tipo Toll. En otras realizaciones, tales paquetes ó kits de productos farmacéuticos incluyen uno o más envases que contienen un compuesto de fórmula (I) útil para el tratamiento o la prevención de una enfermedad o un desorden asociado con receptores tipo Toll y uno o más envases que contienen un agente terapéutico adicional, incluyendo, pero no limitados a, aquellos enumerados anteriormente. En ciertas realizaciones, paquetes ó kits de productos farmacéuticos opcionalmente incluyen instrucciones para la administración de un compuesto de fórmula (I) como el divulgado en el presente documento. En algunas realizaciones de tales kits, el compuesto de fórmula (I) es siempre en forma de una vacuna, tal como se describe en el presente documento y opcionalmente incluye una jeringa para inyectar a un sujeto con la composición de la vacuna.

[440] La invención también proporciona un kit que comprende un primero y segundo kit de componentes, en donde: (i) el primer componente del kit comprende un adyuvante que contiene aluminio y un antígeno; y (ii) el segundo componente del kit comprende un compuesto de Fórmula (I). El segundo componente idealmente no incluye un coadyuvante que contiene aluminio y/o no incluye un antígeno. Los primeros y segundos componentes pueden combinarse para proporcionar una composición adecuada para su administración a un sujeto.

000138

[441] La invención también proporciona un kit que comprende un primero y segundo kit de componentes, en donde: (i) el primer componente del kit comprende un coadyuvante que contiene aluminio y un compuesto de fórmula (I); y (ii) el segundo componente kit comprende un antígeno. El segundo componente idealmente no incluye un coadyuvante que contiene aluminio y/o no incluye un compuesto de fórmula (I). En algunas realizaciones, el segundo componente es liofilizado. Los primeros y segundos componentes pueden combinarse para proporcionar una composición farmacéutica adecuada para su administración a un sujeto.

[442] La invención también proporciona un kit que comprende un primero y segundo kit de componentes, en donde: (i) el primer componente del kit comprende un compuesto de fórmula (I); y (ii) el segundo componente kit comprende un coadyuvante que contiene aluminio. El segundo componente idealmente no incluyen un antígeno o un compuesto de fórmula (I). Los primeros y segundos componentes pueden combinarse para proporcionar una composición farmacéutica adecuada para su administración a un sujeto.

[443] En algunas realizaciones estos kits comprenden dos viales. En otras realizaciones comprenden una jeringa llena lista para usarse y un vial, en que el contenido de la jeringa debe ser mezclado con el contenido del vial antes de la inyección. Un arreglo jeringa/vial es útil cuando el contenido del vial está liofilizado. Normalmente, sin embargo, el primer y segundo componente del kit estarán en forma de líquido acuoso.

#### ***Métodos de tratamiento, prevención y administración de vacunas***

[444] Las composiciones inmunogénicas como las divulgadas en el presente documento, pueden utilizarse en conjunto con vacunas para mejorar la inmunogenicidad de la vacuna, o donde la composición inmunogénica incluye uno o más antígenos, la composición inmunogénica puede utilizarse como una vacuna. Por lo tanto, en cierta realización, las composiciones inmunogénicas divulgadas en el presente documento, pueden utilizarse en un método para aumentar o mejorar una respuesta inmune en un mamífero que comprende la etapa de administrar de una cantidad efectiva de una composición inmunogénica, como se divulga en el presente documento. La respuesta inmune es preferentemente protectora e involucra preferentemente anticuerpos y/o inmunidad celular. El método puede producir un refuerzo de la respuesta inmune.

[445] En ciertas realizaciones, las composiciones inmunogénicas divulgadas en el presente documento, pueden utilizarse como un medicamento, por ejemplo, para su uso en producir o mejorar una respuesta inmune en un mamífero.

[446] En ciertas realizaciones, las composiciones inmunogénicas divulgadas en el presente documento, pueden utilizarse en la fabricación de un medicamento para producir una respuesta inmune en un mamífero.

[447] La invención también proporciona un dispositivo de administración pre llenado con una composición inmunogénica divulgada en el presente documento. La invención también proporciona un contenedor estéril (e.g., un vial), que contiene una composición inmunogénica de la invención, e.g., que contiene una unidad de dosificación. La invención también proporciona un contenedor herméticamente cerrado, que contiene una composición farmacéutica de la invención. Contenedores adecuados incluyen, e.g., un vial.

[448] Al producir una respuesta inmune en el mamífero mediante estos usos y métodos, que comprenden el antígeno incluido en la composición inmunogénica o administrada junto con la composición inmunogénica; el mamífero puede combatir, reducir e incluso prevenir una infección por patógenos. El mamífero es preferentemente un ser humano, pero puede ser, e.g., una vaca, un cerdo, un pollo, un gato o un perro; ya que los patógenos incluidos en el presente documento, pueden generar problemas en una amplia gama de especies. Cuando la vacuna es para uso profiláctico, el ser humano es preferentemente un niño (e.g., un niño o Infante) o un adolescente; Cuando la vacuna es para uso terapéutico, el ser humano es preferiblemente un adolescente o un adulto. Una vacuna para niños también puede ser administrada a adultos, e.g., para evaluar la seguridad, la dosis, la inmunogenicidad, etc.

[449] Una forma de comprobar la eficacia del tratamiento terapéutico involucra el supervisar la infección patogénica después de la administración de las composiciones inmunogénicas divulgadas en el presente documento. Una forma de comprobar la eficacia del tratamiento profiláctico consiste en supervisar las respuestas inmunes, sistémica (tal como, mediante la supervisión del nivel de producción de IgG1 e IgG2a) o mucosa (tal como, mediante la supervisión del nivel de producción de IgA), contra los antígenos incluidos en o administrados conjuntamente con las composiciones inmunogénicas divulgadas en el presente documento, después de la administración de la composición inmunogénica (y el antígeno si éste es administrado por separado). Normalmente, las respuestas de anticuerpo en suero antígeno específicas determinadas post-inmunización pero pre-desafío ("pre-challenge"), mientras que las respuestas de anticuerpo mucosa antígeno específicas determinadas post-inmunización y post-desafío ("post-challenged").

[450] Otra forma de evaluar la inmunogenicidad de las composiciones inmunogénicas, divulgada en el presente documento; en donde el antígeno es una proteína, es la expresión de

las proteínas recombinantemente para su detección en el plasma o secreciones mucosas de los pacientes mediante técnicas de inmunoblot y/o microarrays. Una reacción positiva entre la proteína y la muestra del paciente indica que el paciente ha articulado una respuesta inmune a la proteína en cuestión. Este método también puede utilizarse para identificar antígenos inmunodominantes y/o epítomos dentro de antígenos de proteínas.

[451] La eficacia de las composiciones inmunogénicas puede determinarse también *in vivo* usando el patógeno de la infección de interés en pruebas de desafío en modelos animales apropiados.

[452] Las composiciones inmunogénicas, divulgadas en el presente documento, generalmente se administrarán directamente a un sujeto. La administración directa podrá realizarse mediante inyección parenteral (*e.g.*, subcutánea, intraperitoneal, por vía intravenosa, intramuscular o al espacio intersticial de un tejido); o vía mucosa, tal como por administración rectal, oral (*e.g.*, tabletas, aerosol), vaginal, tópica, transdérmica ó transcutánea, intranasal, ocular, auditiva, pulmonar u otros tipo de administración por vía mucosa.

[453] Las composiciones inmunogénica pueden utilizarse para generar inmunidad sistémica y/o mucosa, preferentemente para generar una inmunidad sistémica o/o mucosa mejorada.

[454] Preferentemente la inmunidad sistémica o mucosa mejorada se refleja en un aumento de la respuesta inmune de TH1 y/o TH2. Preferentemente, la respuesta inmune mejorada incluye un aumento en la producción de IgG1 y/o IgG2a y/o IgA.

[455] La dosificación pueden ser mediante un programa de dosis única o un programa de dosis múltiples. Múltiples dosis pueden utilizarse en un programa de inmunización primaria y/o en un programa de inmunización de refuerzo. En una programación de dosis múltiples, varias dosis pueden ser administradas por rutas iguales o diferentes, *e.g.*, una primera dosis parenteral y un refuerzo por vía mucosa, una primera dosis vía mucosa y un refuerzo parenteral, etc. Múltiples dosis normalmente se administrarán al menos con 1 semana de diferencia (*e.g.*, aproximadamente 2 semanas, aproximadamente 3 semanas, aproximadamente 4 semanas, aproximadamente 6 semanas, aproximadamente 8 semanas, aproximadamente 10 semanas, aproximadamente 12 semanas, aproximadamente 16 semanas, etc.).

[456] Las composiciones inmunogénicas, divulgadas en el presente documento, que incluyen uno o más antígenos o se utilizan en combinación con uno o más antígenos pueden ser utilizadas para tratar tanto niños como adultos. Así un sujeto humano puede ser menor de 1

año, 1-5 años, 5-15 años, 15- 55 años, o al menos 55 años. Los sujetos preferidos para recibir tales composiciones inmunogénicas son los ancianos (*e.g.*, > 50 años, > 60 años y preferentemente > 65 años), los jóvenes (*e.g.*, < 5 años), pacientes hospitalizados, profesionales de la salud, personal militar y de servicio, mujeres embarazadas, los pacientes inmunodeficientes o enfermos crónicos. Sin embargo, las composiciones inmunogénicas no son solamente adecuadas para estos grupos, y pueden utilizarse de manera más generalizada en la población.

[457] Las composiciones inmunogénicas, divulgada en el presente documento, que incluyen uno o más antígenos o se utilizan en combinación con uno o más antígenos pueden ser administradas a los pacientes, en principio, al mismo tiempo que (*e.g.*, durante la misma consulta médica o visita a un profesional de la salud o centro de vacunación) otras vacunas, *e.g.*, a, en principio, el mismo tiempo que una vacuna contra el sarampión, una vacuna contra la parotiditis, una vacuna contra la rubéola, una vacuna MMR, una vacuna contra la varicela, una vacuna MMRV, una vacuna contra la difteria, una vacuna contra el tétanos, una vacuna contra la tos ferina, una vacuna DTP, una vacuna conjugada contra la H. influenzae tipo B, una vacuna de poliovirus inactivados, una vacuna contra el virus de hepatitis B, una vacuna meningocócica conjugada (como una vacuna tetravalente de A, C, W135 Y), una vacuna contra el virus sincicial respiratorio, etc

***Compuestos de Fórmula (I) formulados con un adyuvantes que contiene aluminio***

[458] En ciertas realizaciones, al menos un compuesto de Fórmula (I), proporcionado en el presente documento, o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato de los mismos, se combina con un adyuvante que contiene aluminio y una cantidad efectiva de uno o más antígenos, resultando en una composición inmunogénica. En Tales composiciones inmunogénicas el compuesto de Fórmula (I) está unido a los adyuvantes que contienen el aluminio. En tales composiciones inmunogénicas el antígeno es cualquier antígeno proporcionado en el presente documento. En tales composiciones inmunogénicas, el antígeno y el compuesto de Fórmula (I), un agonista de TLR7, se coliberados en un sitio deseado.

[459] En tales composiciones inmunogénicas, la unión de un compuesto de Fórmula (I) a un adyuvante que contienen el aluminio no interfiere con la unión del antígeno a los adyuvantes que contienen el aluminio. A modo de ejemplo solamente, la Figura 2 muestra que la adsorción de antígenos de *Neisseria meningitisa* hidróxido de aluminio no se ve afectada por la unión de un compuesto de Fórmula (I) a los adyuvantes de hidróxido de aluminio.

[460] En ciertas realizaciones, tales composiciones inmunogénicas son útiles como vacunas. En

ciertas realizaciones, tales vacunas son profilácticas (*i.e.*, para evitar la infección), mientras que en otras realizaciones, tales vacunas son terapéuticas (*i.e.*, para tratar la infección).

[461] Él o los compuestos de Fórmula (I), proporcionados en el presente documento, o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato de los mismos, son agonistas de TLR7 y potenciadores inmunes que generan un efecto inmunoestimulador, tras su administración, en comparación con las formulaciones inmunogénicas que no contienen él o los compuestos de Fórmula (I). En ciertas realizaciones, compuestos de Fórmula (I) generan un efecto inmunoestimulador tras su administración cuando están incluidos en una composición inmunogénica que tiene uno o más agentes inmunoreguladores, mientras que en otras realizaciones, compuestos de Fórmula (I) generan un efecto inmunoestimulador tras su administración cuando se incluyen en una composición inmunogénica sin la presencia de otros agentes inmunoreguladores.

[462] En ciertas realizaciones, tales composiciones inmunogénicas mejoran la respuesta inmune a través de la retención de los compuestos de Fórmula (I) en el sitio de inyección.

[463] En lugar de unir un agonista de TLR a alumbre, una estrategia alternativa para aumentar el tiempo de residencia de los agonistas de TLR en el sitio de inyección, es modificar la hidrofiliidad, hidrofobicidad y/o propiedades de solubilidad del agonista de TLR. Compuestos no polares (hidrofóbicos o insolubles) pueden tener un mayor tiempo de residencia en un sitio de inyección cuando se administran por vía intramuscular, con lo cual disminuyen los niveles de exposición sistémica en comparación con compuestos polares (hidrofilicos o solubles) con potencia similar que muestran más rápida clarificación del sitio de inyección y mayor exposición sistémica. Del mismo modo, compuestos no polares de Fórmula (I) pueden exhibir estas útiles propiedades.

[464] En ciertas realizaciones, tales composiciones inmunogénicas incluyen un vehículo farmacéuticamente aceptable tal como, pero limitado a, proteínas, polisacáridos, ácidos polilácticos, ácidos poliglicólicos, aminoácidos poliméricos, aminoácidos copolímeros, sacarosa, trehalosa, lactosa, agregados de lípidos (como gotitas de aceite o liposomas) y partículas del virus inactivo. Las composiciones inmunogénicas normalmente también contienen diluyentes, tales como, agua, solución salina y glicerol y opcionalmente contienen otros excipientes, como agentes humectantes o emulsionantes, y sustancias tamponadoras. En ciertas realizaciones, tales composiciones inmunogénicas incluyen uno o más adyuvantes adicionales, proporcionados en el presente documento.

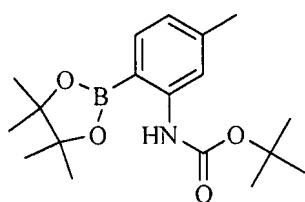
[465]

## EJEMPLOS

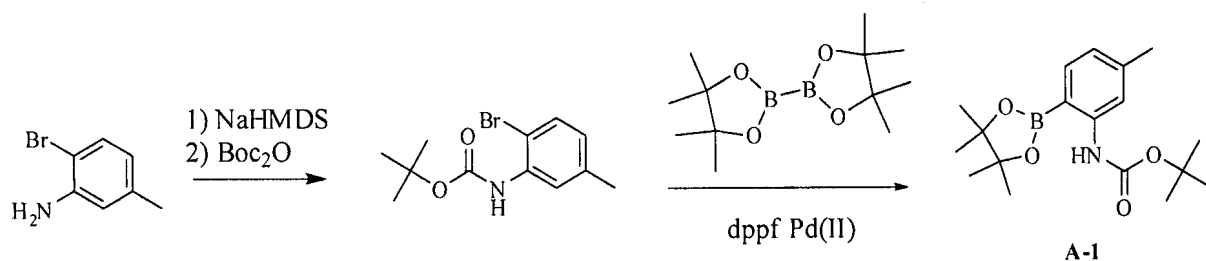
[466] Los siguientes ejemplos se ofrecen para ilustrar, pero no para limitar, los compuestos de Fórmula (I) proporcionados en el presente documento y la preparación de dichos compuestos.

*Síntesis de compuestos iniciales*

Preparación de tert-butil 5-metil-2-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il) fenilcarbamato  
(A-1)



Esquema A

*Etapas 1: tert-butil 2-bromo-5-metilfenilcarbamato*

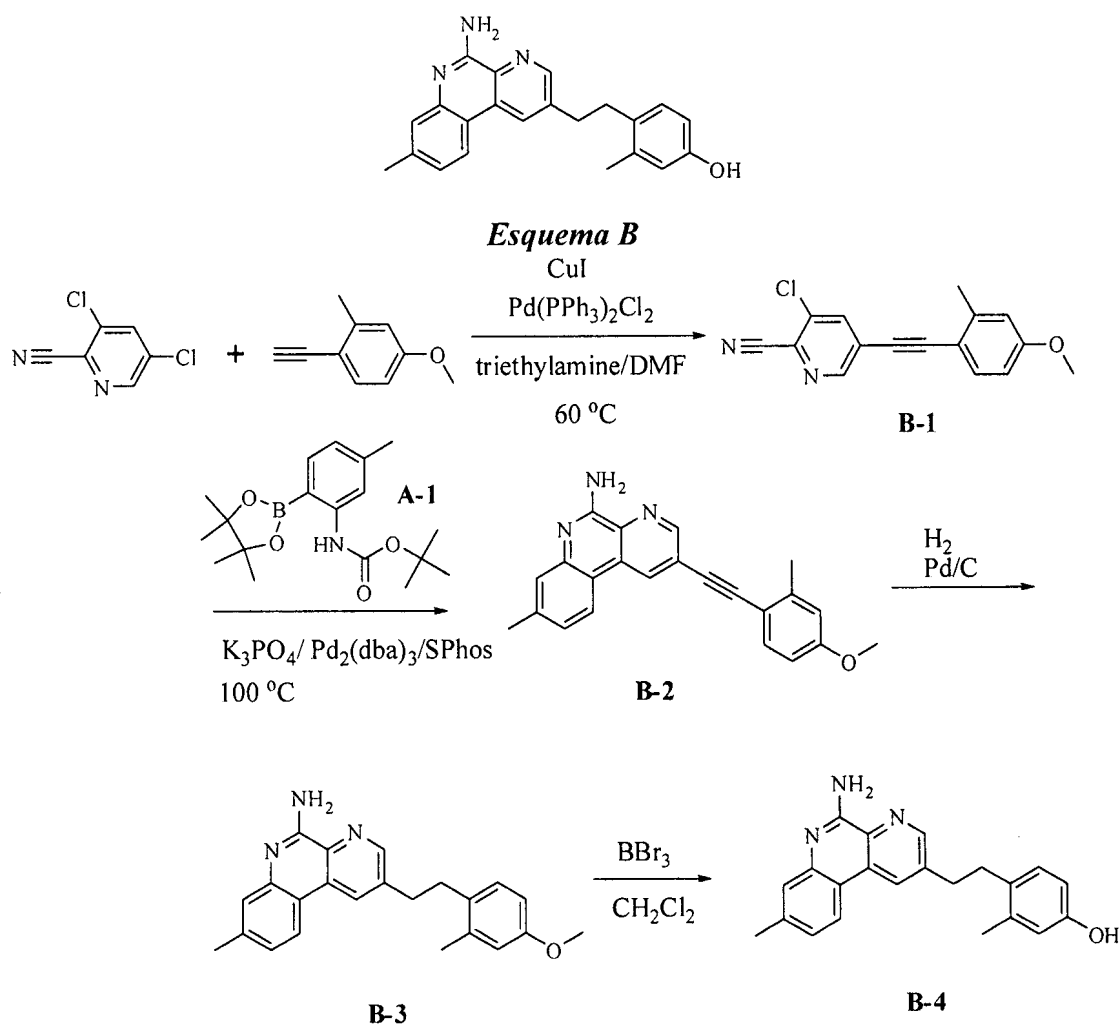
[467] A una solución de 2-bromo-5-metilanilina (1,0 eq.) en tetrahidrofurano (0,2 M) a 0°C bajo atmósfera de N<sub>2</sub>, se agregó por goteo 1 M NaHMDS (2,5 eq.). La reacción fue agitada durante 15 minutos a 0 °C y se agregó una solución de dicarbonato de di-terc-butilo en tetrahidrofurano. La reacción se temperó manteniéndola a temperatura ambiente durante la noche. El disolvente se evaporó y el residuo resultante fue enfriado rápidamente con solución acuosa de HCl 0,1N. Se extrajo la suspensión acuosa dos veces con acetato de etilo. Las capas orgánicas combinadas fueron lavadas con solución salina, secadas sobre MgSO<sub>4</sub> anhidro y concentradas al vacío. El material crudo fue purificado mediante cromatografía flash en un sistema COMBIFLASH® (ISCO), usando 0-5% de acetato de etilo en hexano para producir terc-butil 2-bromo-5-metilfenilcarbamato como un aceite color amarillo pálido.

*Etapas 2: tert-butil 5-metil-2-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenilcarbamato*

000144

[468] *Tert*-butil 2-bromo-5-metilfenilcarbamato (de la etapa anterior) (1,0 eq.), 4,4,4',4',5,5,5',5'-octametil-2,2'-bi(1,3,2-dioxaborolano) (1,5 eq), dicloro [1, 1'-bis (difenil-fosfino) ferroceno] paladio (II) (5%), y acetato de sodio (4,5 eq.) fueron mezclados en dioxano (0,2 M) bajo atmósfera de N<sub>2</sub>. La reacción fue calentada a 100 °C y agitada durante la noche. La suspensión resultante fue enfriada a temperatura ambiente, diluida con éter, filtrada a través de celite, y el filtrado fue concentrado *en vacuo*. El material crudo fue purificado mediante cromatografía flash en un sistema COMBIFLASH ® (ISCO) utilizando 0-8% éter en hexano para producir *tert*-butil 5-metil-2-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenilcarbamato (**A-1**).

Preparación de 4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[*f*][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenol (**B-4**)



*Etapas B-1: 3-cloro-5-((4-metoxi-2-metilfenil)etiril)picolinonitrilo (B-1)*

[469] A un matraz de fondo redondo tapado con septa fue añadido 1-etinil-4-metoxi-2-metilbenceno (1,1 eq), 3,5-dicloropicolinonitrilo (1 eq), trietilamina (5 eq) y DMF anhidro (0,2 M). La mezcla fue desgasificada (vacío) y enjuagada tres veces con nitrógeno presurizado. Se agregaron CuI (0,05 EQ) y bis(trifenilfosfina)dicloro-paladio(II) (0,05 eq) el septo fue

reemplazado con un condensador de reflujo y el matraz fue calentado a 60 °C durante la noche bajo atmósfera de nitrógeno. Al finalizar la reacción verificada con TLC, el contenido del matraz fue cargado en una columna de gel de sílice pretratada con hexanos. Con cromatografía flash (gel de sílice, hexanos: EtOAc (1:4 %)) se generó el producto 3-cloro-5-((4-metoxi-2-metilfenil)etnil)picolinonitrilo(**B-1**).

*Etapa B-2: 2-((4-metoxi-2-metilfenil)etnil)-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina(**B-2**)*

[470] A un matraz de fondo redondo con un condensador de reflujo se añadió 3-cloro-5-((4-metoxi-2-metilfenil)etnil)picolinonitrilo (**B-1**) (1 eq.), tert-butil 5-metil-2-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)penilcarbamato(**A-1**) (1,25 eq.), K<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> (2 eq.), tris(dibenzilideneacetona)dipalladium(0) (0,05 eq.), y 2-diciclohexilpospino-2',6'-dimetoxibifenilo (Sphos) (0,1 eq.). Se añadió butanol y agua (5:2, 0,2 M), y el contenido fue desgasificado (vacío seguido por enjuague con nitrógeno presurizado) tres veces. La mezcla de reacción fue agitada vigorosamente bajo atmósfera de nitrógeno a 100 °C durante la noche, en un baño de aceite. El contenido fue enfriado y colocado en 200 mL de agua, seguido por extracción con cloruro de metileno. Las capas orgánicas combinadas fueron secadas (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) y concentradas. Con cromatografía flash (gel de sílice, 0 – 50% EtOAc en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) se generó el producto 2-((4-metoxi-2-metilfenil)etnil)-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina(**B-2**)

*Etapa B-3: 2-(4-metoxi-2-metilfenetil)-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina(**B-3**)*

[471] 2-(4-metoxi-2-metilfenetil)-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina fue preparada a partir de 2-((4-metoxi-2-metilfenil)etnil)-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina (de la etapa anterior). Se añadió a un matraz de fondo redondo 2-((4-metoxi-2-metilfenil)etnil)-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina (1 eq.) en un agitador magnético. Se añadió etanol y cloruro de metileno (1:2, 0,2 M), seguido de paladio en carbono (polvo activado, húmedo, 10% en carbono, 0,1 eq.). El contenido fue desgasificado (vacío) seguido por enjuague con hidrógeno presurizado (tres veces). La mezcla de reacción se agitó vigorosamente a temperatura ambiente durante la noche, bajo un balón de hidrógeno. Después la mezcla de reacción se filtró a través de un filtro de celita y el filtro de celita fue lavado posteriormente con cloruro de metileno y EtOAc hasta que el filtrado no presentó absorción UV. Se concentraron los orgánicos combinados. Con cromatografía flash (gel de sílice, 0 – 50% EtOAc en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) se generó el producto 2-(4-metoxi-2-metilfenetil)-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridina-5-amina. NMR H<sup>1</sup>(CDCl<sub>3</sub>): δ 8,53 (d, 1H), 8,29 (d, 1H), 8,01 (d, 1H), 7,44 (s, 1H), 7,12 (dd, 1H), 6,93 (d, 1H), 6,67 (d, 1H), 6,60 (dd, 1H), 5,93 (bs, 2H),

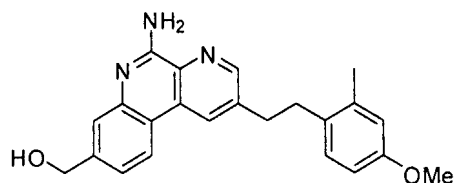
000146

3,70 (s, 3H), 3,05 – 3,00 (dd, 2H), 2,93 – 2,88 (dd, 2H), 2,44 (s, 3H), 2,19 (s, 3H), LRMS [M+H] = 358,2.

*Etapla B-4: 4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenol (B-4)*

[472] A la solución agitada de 2-(4-metoxi-2-metilfenetil)-8-metilbenzo[f][1,7] naftiridin-5-amina (de la etapa anterior) encloruro de metileno (0,2 M) en un baño de agua helada se añadió por goteo una solución 1 N de BBr<sub>3</sub> (2 eq) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Tras 30 minutos la reacción es enfriada rápidamente con metanol y es concentrada *in vacuo* para obtener el residuo crudo. El material en crudo fue purificado por cromatografía flash en un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando 0-20% de metanol en diclorometano para producir 4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenol (**B-4**) como un sólido color blanco. NMR H<sup>1</sup> (DMSO-d<sub>6</sub>): δ 8,99 (s, 1H), 8,75 (d, 1H), 8,60 (d, 1H), 8,27 (d, 1H), 7,28 (s, 1H), 7,09 (dd, 1H), 6,99 (bs, 2H), 6,88 (d, 1H), 6,49 (d, 1H), 6,42 (dd, 1H), 3,02 – 2,96 (dd, 2H), 2,86 – 2,81 (dd, 2H), 2,38 (s, 3H), 2,13 (s, 3H), LRMS [M+H] = 344,2,

Preparación de (5-amino-2-(4-metoxi-2-metilfenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-8-il)metanol (2-1: véase esquema 2)



*Etapla 1: tert-butil 5-((tert-butildimetilsililoxi)metil)-2-clorofenilcarbamato*

[473] A una solución de 5-((tert-butildimetilsililoxi)metil)-2-cloroanilina (disponible comercialmente) (1,0 equiv.) en THF (0,2 M) a 0 °C bajo una atmósfera de N<sub>2</sub> se añadió por goteo una solución 1M NaHMDS (2,5 equiv.). La reacción es agitada durante 15 minutos a 0 °C, se añade una solución de di-tert-butil dicarbonato en THF. La reacción se calienta a temperatura ambiente durante la noche. Se evapora el solvente, y residuo resultante es enfriado rápidamente con una solución acuosa de 0,1 N de HCl. La solución acuosa es extraída dos veces con EtOAc. Las capas orgánicas combinadas fueron lavadas con solución salina y secadas sobre MgSO<sub>4</sub> anhidro, y concentradas *in vacuo*. El material en crudo fue purificado por cromatografía flash en un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando 0-30% EtOAc/Hexanos para producir tert-butil 5-((tert-butildimetilsililoxi)metil)-2-clorofenilcarbamato como un aceite incoloro.

000147

*Etapla 2: tert-butil 5-((tert-butildimetilsililoxi)metil)-2-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il) fenilcarbamato*

[474] *Tert-butil 5-((tert-butildimetilsililoxi)metil)-2-clorofenilcarbamato* (de laetapa 1) (1,0 equiv.), 4,4,4',4',5,5,5',5'-octametil-2,2'-bi(1,3,2-dioxaborolano) (3,0 equiv.), Pd<sub>2</sub>dba<sub>3</sub> (2,5%), XPhos (10%), y KOAc (3 equiv.) son mezcladas en dioxano (0,2 M) bajo una atmósfera de N<sub>2</sub>. La reacciones calentada hasta 110°C y agitada toda la noche. La solución resultante es enfriada a temperatura ambiente, diluida con éter, filtrada a través de celita, y el filtrado es concentrado *in vacuo*. Las capas orgánicas combinadas fueron lavadas con solución salina y secadas sobre MgSO<sub>4</sub> anhidro y concentradas *in vacuo*. El material en crudo fue purificado por cromatografía flash en un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando 0-20% EtOAc/Hexanos para producir *tert-butil 5-((tert-butildimetilsililoxi)metil)-2-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenilcarbamato* como una espuma blanca.

*Etapla 3: 3-Cloro-5-((4-metoxi-2-metilfenil)etinil)picolinonitrilo*

[475] A un matraz de fondo redondo tapado con septa fue añadido 1-etynil-4-metoxi-2-metilbenzeno (disponible comercialmente, 1,1 equiv.), 3,5-dicloropicolinonitrilo (disponible comercialmente, 1 equiv.), trietilamina (5 equiv.), y DMF anhidro (0,2 M). Sometido a vacío y enjuague con nitrógeno presurizado tres veces. Se añadió CuI (0,05 equiv.) y bis(trifenilfosfina)dicloro-palladium(II) (0,05 equiv.). el septo fue reemplazado con un condensador de reflujo y el matraz fue calentado a 60 °C durante la noche bajo atmósfera de nitrógeno. Al finalizar la reacción verificada con TLC, el contenido del matraz fue cargado en una columna de gel de sílice pre tratada con hexanos. Con cromatografía flash (gel de sílice, hexanos: EtOAc (1:4 %)) se generó el producto 3-cloro-5-((4-metoxi-2-metilfenil)etinil)picolinonitrilo.

*Etapla 4: 8-((tert-butildimetilsililoxi)metil)-2-((4-metoxi-2-metilfenil)etinil)benzo[[f][1,7]naftiridin-5-amina*

[476] A un matraz de fondo redondo con un condensador de reflujo se añadió 3-cloro-5-((4-metoxi-2-metilfenil)etinil)picolinonitrilo (de laetapa 3) (1 equiv.), *tert-butil 5-((tert-butildimetilsililoxi)metil)-2-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenilcarbamato* (de laetapa 2) (1,25 equiv.), K<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> (2 equiv.), tris(dibenzilideneacetona)dipalladium(0) (0,05 equiv.), y 2-Diciclohexilfosfino-2',6'-dimetoxibifenil (0,1 equiv.). *n*-Butanol yagua (5:2, 0,2 M), y el contenido fue desgasificado (vacío seguido por enjuague con nitrógeno presurizado) tres veces. La mezcla de reacción fue agitada vigorosamente bajo atmósfera de nitrógeno a

100 °C durante la noche, en un baño de aceite. El contenido fue enfriado y colocado en agua, seguido por extracción con cloruro de metileno. Las capas orgánicas combinadas fueron secadas ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) y concentradas. Con cromatografía flash (gel de sílice, 0 – 50% EtOAc en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ) se generó el producto 8-((tert-butildimetilsililoxi)metil)-2-((4-metoxi-2-metilfenil)etnil)benzo[f][1,7]naftiridin-5-aminacomo un sólido

**Etapas 5:** 8-((tert-butildimetilsililoxi)metil)-2-(4-metoxi-2-metilfenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-5-amina

**[477]** A un matraz de fondo redondo se añadió 8-((tert-butildimetilsililoxi)metil)-2-((4-metoxi-2-metilfenil)etnil)benzo[f][1,7]naftiridin-5-amina (de la etapa 4) (1 equiv.) con agitación por barra magnética. Se añadió etanol y cloruro de metileno (1:2, 0,2 M), seguido de paladio en carbono (polvo activado, húmedo, 10% en carbono, 0,1 eq.). El contenido fue sometido a vacío, seguido de enjuague con hidrógeno presurizado (tres veces). La mezcla de reacción se agitó vigorosamente a temperatura ambiente durante la noche, bajo un balón de hidrógeno. Después la mezcla de reacción se filtró a través de un filtro de celita y el filtro de celita fue lavado posteriormente con cloruro de metileno y EtOAc hasta que el filtrado no presentó absorción UV. Se concentraron los lavados orgánicos combinados. Con cromatografía flash (gel de sílice, 0 – 50% EtOAc en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ) se generó el producto 8-((tert-butildimetilsililoxi)metil)-2-(4-metoxi-2-metilfenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-5-aminacomo un sólido color amarillo

**Etapas 6:** 5-amino-2-(4-metoxi-2-metilfenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-8-il)metanol (2-1)

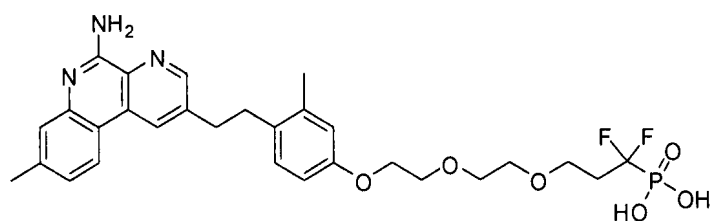
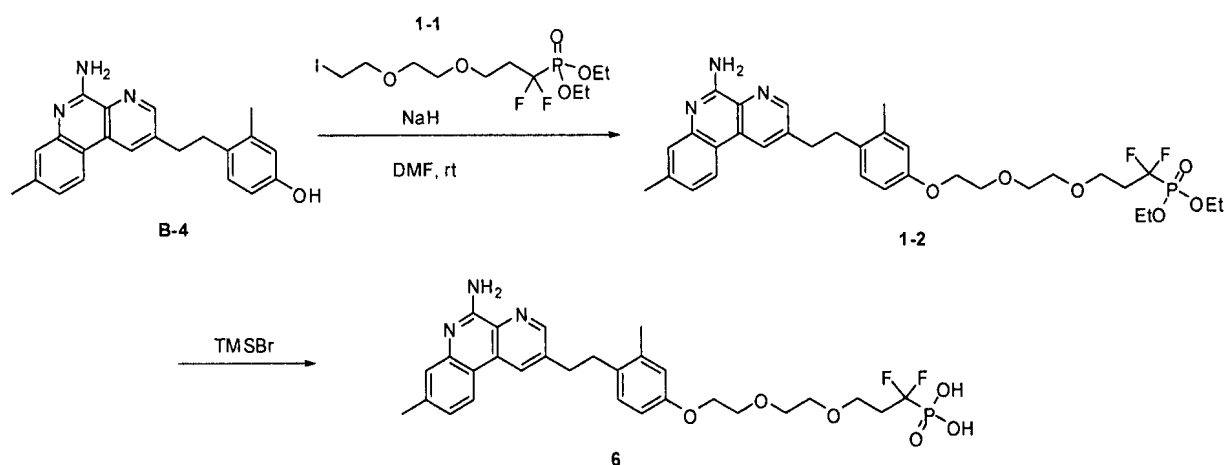
**[478]** Se agitó 8-((Tert-butildimetilsililoxi)metil)-2-(4-metoxi-2-metilfenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-5-amina (de la etapa 5) (1,0 equiv.) y TBAF (1,1 equiv.) en TF a temperatura ambiente durante la noche. La reacción fue enfriada rápidamente con  $\text{NaHCO}_3$  saturado. Las dos fases son separadas y la fase acuosa es extraída dos veces con  $\text{Et}_2\text{O}$ . Las capas orgánicas combinadas fueron secadas  $\text{MgSO}_4$  anhidro, y concentradas *in vacuo*. El material en crudo fue purificado por cromatografía flash en un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando 0-5% MeOH/DCM para producir 5-amino-2-(4-metoxi-2-metilfenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-8-il)metanol (2-1) como un sólido color blanco. NMR  $^1\text{H}$  (acetona-  $d_6$ ):  $\delta$  8,79 (s, 1H), 8,73 (s, 1H), 8,35 (d, 1H), 7,61 (s, 1H), 7,33 (d, 1H), 7,09 (d, 1H), 6,75 (d, 1H), 6,68 (dd, 1H), 6,57 (br s, 2H), 4,47 (d, 2H), 4,32 (t, 1H), 3,58 (s, 3H), 3,17 (t, 2H), 3,04 (t, 2H), 2,30 (s, 3H), LRMS  $[\text{M}+\text{H}] = 374,2$

000149

[479]

*Síntesis de Compuestos Modelo*

Ejemplo 1 (Tabla 1: Compuesto 6): Síntesis de ácido 3-(2-(2-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naptiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)etoxi)etoxi)-1,1-difluoropropilfosfónico(6)

**Esquema 1***Etapas 1: dietil 1,1-difluoro-3-(2-(2-iodoetoxi)etoxi)propilfosfonato(1-1)*

[480] A una solución de dietil difluorometilfosfonato (1,0 equiv.) en TF (0,8 M) a  $-78^{\circ}\text{C}$  se añadió lentamente una solución de LDA (2 M, 1,1 equiv.) en heptano/TF/etilbenzeno, y la mezcla fue vigorosamente agitada durante 30 minutos. En un matriz de reacción separado, una solución de 1,2-bis(2-iodoetoxi)etano (1,0 equiv.) en TF (0,8M) fue enfriada a  $-78^{\circ}\text{C}$ . A ésta solución fue transferida mediante una cánula, una solución recién preparada de alquilio y la mezcla de reacción fue dejada en agitación durante una hora a  $-78^{\circ}\text{C}$ . En éste punto, se saco el baño de enfriamiento y se dejó que la mezcla se temperara a temperatura ambiente. Luego, la mezcla de reacción se enfrió rápidamente con 1 M de una solución acuosa de HCl. La mezcla resultante, fue transferida a un embudo de decantación y lavada tres veces con  $\text{C}_2\text{Cl}_2$ . Las capas orgánicas combinadas fueron secadas  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro y los compuestos volátiles fueron removidos *in vacuo*. El residuo resultante fue purificado con un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando  $\text{C}_2\text{Cl}_2$  para producir dietil 1,1-difluoro-3-(2-(2-

000150

iodoetoxi)etoxi)propilfosfonato(**1-1**) como un aceite color amarillo. NMR  $H^1$ (CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  4,23-4,31 (m, 4H), 3,75-3,80 (m, 4H), 3,60-3,67 (m, 4H), 3,26 (t, 2H), 2,33-2,50 (m, 2H), 1,38 (t, 6H).

*Etapa 2: Síntesis de dietil 2-(2-(2-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)etoxi)etoxi)-1,1-difluoroetilfosfonato(1-2)*

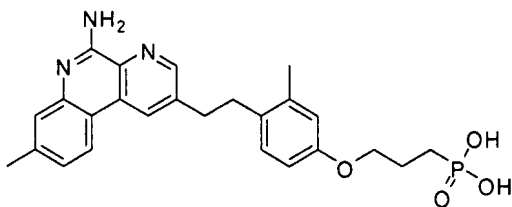
[481] A una solución de 4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenol (**B-4**) (1,0 equiv.) en dimetilformamida (0,10 M) a 22 °C se añadió una dispersión de hidruro de sodio al 60% en aceite mineral (1,5 equiv.) y se dejó agitando la mezcla resultante durante 30 minutos. En éste punto, se añadió a la mezcla dietil 1,1-difluoro-3-(2-(2-iodoetoxi)etoxi)propilfosfonato (1,2 equiv.). La mezcla de reacción se dejó agitando durante 18 horas, después de lo cual fue diluida con acetato de etilo y agua. Las capas bifásicas fueron separadas, y la capa orgánica fue lavada dos veces con agua. La capa orgánica fue secada sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro y los componentes volátiles fueron removidos *in vacuo*. El residuo resultante fue purificado mediante un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando 0-50% de acetato de etilo en un gradiente de hexanos para producir dietil 3-(2-(2-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)etoxi)etoxi)-1,1-difluoropropilfosfonato (**1-2**) como un sólido.

*Etapa 3: Síntesis de ácido 3-(2-(2-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)etoxi)etoxi)-1,1-difluoroetilfosfónico(6)*

[482] A una solución de dietil 3-(2-(2-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)etoxi)etoxi)-1,1-difluoropropilfosfonato(**1-2**) (1,0 equiv.) en C<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (0,10 M) a 0 °C se añadió lentamente bromuro de trimetilsililo (10 equiv.). Después de una hora se removió el baño de hielo y se dejó agitando la mezcla de reacción a 22 °C durante 18 horas. En éste punto, los componentes volátiles fueron removidos *in vacuo* y el residuo resultante fue purificado HPLC en Fase Reversa usando un gradiente de 20-90% de NH<sub>4</sub>OAc 0,5 mM (en MeCN) hasta NH<sub>4</sub>OAc 10 mM (en agua) para producir ácido 3-(2-(2-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)etoxi)etoxi)-1,1-difluoropropilfosfónico(**6**) como un sólido. NMR  $H^1$  (Dimetilsulfoxido-d<sub>6</sub>):  $\delta$  8,83 (s, 1H), 8,68 (s, 1H), 8,32 (s, 1H), 7,34 (s, 1H), 7,14 (d, 1H), 7,09 (br, 2H), 7,08 (d, 1H), 6,74 (s, 1H), 6,68 (d, 1H), 4,01 (t, 2H), 3,70 (t, 2H), 3,61 (t, 2H), 3,54-3,59 (m, 2H), 3,48-3,50 (m, 2H), 3,07 (t, 2H), 2,94 (t, 2H), 2,43 (s, 3H), 2,25 (s, 3H), 2,06-2,21 (m, 2H), LRMS [M+H] = 590,2

[483]

Ejemplo 2 (Tabla 1: Compuesto 1): Síntesis de ácido 3-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)propilfosfónico(1)



*Etapas 1: Dietil 3-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)propilfosfonato*

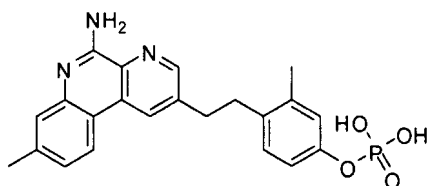
[484] El dietil 3-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)propilfosfonato fue preparado de acuerdo al procedimiento descrito en el Ejemplo 1 – Etapa 2, pero usando como reactivo dietil 3-bromopropilfosfonato comercial.

*Etapas 2: ácido 3-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)propilfosfónico*

[485] El ácido 3-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)propilfosfónico (1) fue preparado de acuerdo al procedimiento descrito en el Ejemplo 1 – Etapa 3, pero usando dietil 3-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)propilfosfonato obtenido de una etapa previa. Se añadió TFA a la muestra de NMRH<sup>1</sup> para solubilizar el compuesto para su análisis. NMR H<sup>1</sup> (Dimetilsulfoxido-d<sub>6</sub>) obtenido de ácido 3-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)propilfosfónico (1) NMR H<sup>1</sup> fue: δ 9,72 (br, 1H), 9,01 (s, 1H), 8,96 (br, 1H), 8,85 (s, 1H), 8,54 (d, 1H, J = 8,4 Hz), 7,54 (s, 1H), 7,42 (d, 1H, J = 8,2 Hz), 7,08 (d, 1H, J = 8,4 Hz), 6,74 (s, 1H), 6,66 (d, 1H, J = 8,3 Hz), 3,95 (t, 2H, J = 6,4 Hz), 3,14 (t, 2H, J = 8,6 Hz), 2,97 (t, 2H, J = 8,6 Hz), 2,50 (s, 3H), 2,27 (s, 3H), 1,91-1,81 (m, 2H), 1,67-1,56 (m, 2H), LRMS [M+H] = 466,2.

Ejemplo 3 (Tabla 1: Compuesto 2): Síntesis de 4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenil dihidrogenofosfato(2)

000152



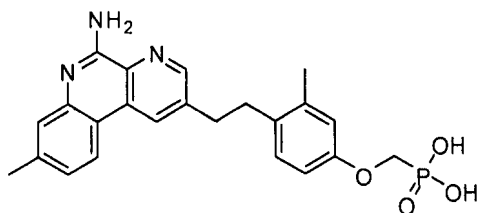
*Etapas 1: 4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenil dibenzil fosfato*

[486] 4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenil dibenzil fosfato fue preparado de acuerdo al procedimiento descrito en el Ejemplo 1 – Etapa 2, pero usando como reactivo clorhidrato de fosfato de dibencilo comercial.

*Etapas 2: 4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenil dihidrogenofosfato*

[487] 4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenil dibenzil fosfato (1,0 equiv.) y Pd/C al 10% (20% equiv. en peso) en MeOH (0,66 M) fue agitado durante 18 horas bajo un balón de H<sub>2</sub>. En éste punto la mezcla de reacción fue pasada a través de un filtro de celita, lavando con una mezcla de CCl<sub>3</sub>:MeOH en una proporción 2:1. Las capas orgánicas combinadas secadas sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro y los compuestos volátiles fueron removidos *in vacuo*. El residuo resultante fue purificado HPLC en Fase Reversa usando un gradiente de 20-90% de NH<sub>4</sub>OAc 0,5 mM (en MeCN) hasta NH<sub>4</sub>OAc 10 mM (en agua) para producir 4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenil dihidrogenofosfato (**2**) como un sólido. Se añadió TFA a la muestra de <sup>1</sup>H NMR para solubilizar el compuesto para su análisis. NMR H<sup>1</sup> (Dimetilsulfoxido-d<sub>6</sub>): δ 9,69 (br, 1H), 9,33 (s, 1H), 9,03 (s, 1H), 8,87 (s, 1H), 8,54 (d, 1H, J = 8,4 Hz), 7,51 (s, 1H), 7,42 (d, 1H, J = 9,4 Hz), 7,22 (s, 1H), 7,17 (d, 1H, J = 8,3 Hz), 7,10 (s, 1H), 6,97 (s, 1H), 6,92 (d, 1H, J = 6,1 Hz), 3,15 (t, 2H, J = 6,8 Hz), 3,00 (t, 2H, J = 6,8 Hz), 2,50 (s, 3H), 2,29 (s, 3H), LRMS [M+H] = 424,1

*Ejemplo 4 (Tabla 1: Compuesto 3): Síntesis de ácido (4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)metilfosfónico(3)*



*Etapas 1: dietil (4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)metilfosfonato*

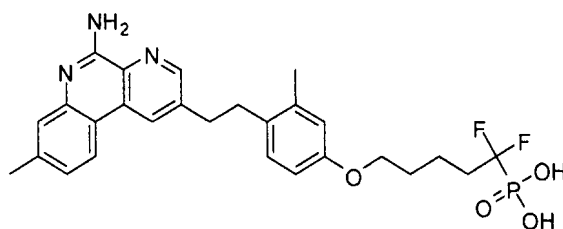
000153

[488] El dietil (4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi) metilfosfonato fue preparado de acuerdo al procedimiento descrito en el Ejemplo 1 – Etapa 2, pero usando como reactivo (dietoxifosforil)metil 4-metilbenzenesulfonato comercial,

*Etapa 2: ácido (4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)metilfosfónico*

[489] El ácido (4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)metilfosfónico(3) fue preparado de acuerdo al procedimiento descrito en el Ejemplo 1 – Etapa 3, pero usando dietil (4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi) metilfosfonato obtenido de una etapa previa. La RMN de  $^1\text{H}$  (Dimetilsulfoxide- $d_6$ ) obtenido del ácido (4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)metilfosfónico(3) NMR  $^1\text{H}$  fue:  $\delta$  8,86 (br, 1H), 8,67 (br, 1H), 8,34 (d, 1H,  $J = 10,4$  Hz), 7,37 (s, 1H), 7,35 (s, 1H), 7,14 (d, 1H,  $J = 8,4$  Hz), 7,05 (d, 1H,  $J = 8,2$  Hz), 6,73 (s, 1H), 6,69 (d, 1H,  $J = 8,6$  Hz), 6,60 (s, 1H), 3,70-3,61 (m, 2H), 3,10 (t, 2H,  $J = 8,8$  Hz), 2,94 (t, 2H,  $J = 8,8$  Hz), 2,45 (s, 3H), 2,25 (s, 3H), LRMS  $[\text{M}+\text{H}] = 438,2$

Ejemplo 5 (Tabla 1: Compuesto 4): Síntesis de ácido 5-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)-1,1-difluoropentilfosfónico(4)



*Etapa 1: dietil 5-bromo-1,1-difluoropentilfosfonato*

[490] El dietil 5-bromo-1,1-difluoropentilfosfonato fue preparado de acuerdo al procedimiento descrito en el Ejemplo 1 – Etapa 1, pero usando como reactivo 1,4-dibromobutano comercial,

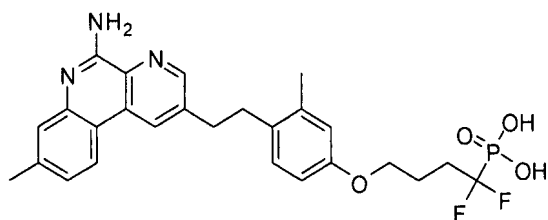
*Etapa 2: dietil 5-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)-1,1-difluoropentilfosfonato*

[491] El dietil 5-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)-1,1-difluoropentilfosfonato fue preparado de acuerdo al procedimiento descrito en el Ejemplo 1 – Etapa 2, pero usando como reactivo dietil 5-bromo-1,1-difluoropentilfosfonato obtenido de una etapa previa,

*Etapas 3: ácido 5-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)-1,1-difluoropentilfosfónico(4)*

[492] El ácido 5-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)-1,1-difluoropentilfosfónico(4) fue preparado de acuerdo al procedimiento descrito en el Ejemplo 1 – Etapa 3, pero usando dietil 5-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)-1,1-difluoropentilfosfonato obtenido en la etapa 2. Se añadió TFA a la muestra de  $^1\text{H}$  NMR para solubilizar el compuesto para su análisis. El RMN DE  $^1\text{H}$  (Dimetilsulfoxido- $d_6$ ) obtenido para el ácido 5-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)-1,1-difluoropentilfosfónico(4) NMR  $^1\text{H}$  fue:  $\delta$  9,70 (br, 1H), 9,33 (br, 1H), 8,98 (s, 1H), 8,84 (s, 1H), 8,50 (d, 1H,  $J = 8,4$  Hz), 7,52 (s, 1H), 7,40 (d, 1H,  $J = 8,4$  Hz), 7,06 (d, 1H,  $J = 8,4$  Hz), 6,74 (s, 1H), 6,68 (d, 1H,  $J = 10,8$  Hz), 3,91 (t, 2H,  $J = 6,2$  Hz), 3,14 (t, 2H,  $J = 8,4$  Hz), 2,97 (t, 2H,  $J = 8,4$  Hz), 2,50 (s, 3H), 2,27 (s, 3H), 2,13-1,94 (m, 2H), 1,78-1,70 (m, 2H), 1,66-1,59 (m, 2H), LRMS  $[\text{M}+\text{H}] = 530,2$ ,

Ejemplo 6 (Tabla 1: Compuesto 5): Síntesis de ácido 4-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)-1,1-difluorobutilfosfónico(5)



*Etapas 1: dietil 4-bromo-1,1-difluorobutilfosfonato*

[493] El dietil 4-bromo-1,1-difluorobutilfosfonato fue preparado de acuerdo al procedimiento descrito en el Ejemplo 1 – Etapa 1, pero usando como reactivo 1,3-dibromopropano comercial,

*Etapas 2: dietil 4-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)-1,1-difluorobutilfosfonato*

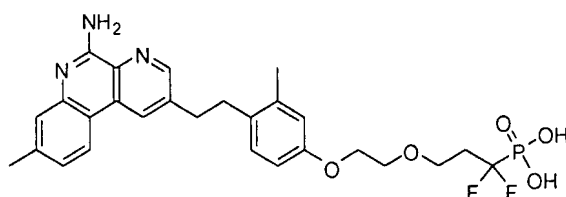
[494] El dietil 4-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)-1,1-difluorobutilfosfonato fue preparado de acuerdo al procedimiento descrito en el Ejemplo 1 – Etapa 2, pero usando como reactivo dietil 4-bromo-1,1-difluorobutilfosfonato obtenido de una

etapa previa,

*Etapa 3: ácido 4-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)-1,1-difluorobutilfosfónico(5)*

[495] El ácido 4-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)-1,1-difluorobutilfosfónico(5) fue preparado de acuerdo al procedimiento descrito en el Ejemplo 1 – Etapa 3, pero usando dietil 4-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)-1,1-difluorobutilfosfonato obtenido de la etapa 2. Se añadió TFA a la muestra de  $^1\text{H}$  NMR para solubilizar al compuesto para su análisis. La RMN de  $^1\text{H}$  (Dimetilsulfoxido- $d_6$ ) obtenido para el ácido 4-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)-1,1-difluorobutilfosfónico(5) NMR  $^1\text{H}$  fue:  $\delta$  9,71 (br, 1H), 9,33 (br, 1H), 9,00 (s, 1H), 8,85 (s, 1H), 8,54 (d, 1H,  $J = 8,4$  Hz), 7,53 (s, 1H), 7,42 (d, 1H,  $J = 8,3$  Hz), 7,08 (d, 1H,  $J = 8,4$  Hz), 6,76 (s, 1H), 6,70 (d, 1H,  $J = 8,3$  Hz), 3,97 (t, 2H,  $J = 6,2$  Hz), 3,15 (t, 2H,  $J = 8,5$  Hz), 2,98 (t, 2H,  $J = 8,5$  Hz), 2,50 (s, 3H), 2,28 (s, 3H), 2,21-2,06 (m, 2H), 1,97-1,87 (m, 2H), LRMS  $[\text{M}+\text{H}] = 516,2$ ,

*Ejemplo 7 (Tabla 1: Compuesto 7): Síntesis de ácido 3-(2-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)etoxi)-1,1-difluoropropilfosfónico(7)*



*Etapa 1: dietil 3-(2-bromoetoxi)-1,1-difluoropropilfosfonato*

[496] Un matraz de fondo Redondo secado en un horno fue cargado con TF seco (1,07 M) y diisopropilamina (2,0 equiv.), El matraz fue enfriado en un baño de hielo seco de acetona y fue tratado con una solución de *n*-butyllitium (1,6 equiv.) en ciclohexano (1,52 M) por goteo mediante una jeringa. El matraz fue transferido a un baño frío después de finalizada la adición y fue agitada durante 30 minutos. El matraz fue nuevamente enfriado en un baño de hielo seco de acetona, y tratado con una solución de dietil difluorometilfosfonato (1,0 equiv.) en HMPA (1:1 v/v) vía jeringa. Se dejó agitando durante una hora. A la mezcla de reacción anterior se añadió una solución enfriada de 1-bromo-2-(2-bromoetoxi)etano (3,0 equiv.) en TF (3 M) la que se añadió rápidamente a través de una jeringa, la solución se dejó agitando otras 3 horas antes de enfriarla rápidamente con HCl 1 N. El matraz fue temperado a temperatura ambiente, y el pH fue ajustado a  $<4$  con 1 N HCl. La mezcla fue extraída con EtOAc (3x). Los extractos

000156

orgánicos combinados fueron secados sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro, y concentrados *in vacuo*. El material en crudo fue purificado mediante Combiflash usando 0-75% EtOAc en hexanos, seguido de una HPLC-FR (0,035% TFA en ACN:0,05% TFA en  $\text{H}_2\text{O}$ , columna C18), para producir dietil 3-(2-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)etoxi)-1,1-difluoropropilfosfonato como un aceite color amarillo pálido,

*Etapas 2: dietil 3-(2-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)etoxi)-1,1-difluoropropilfosfonato*

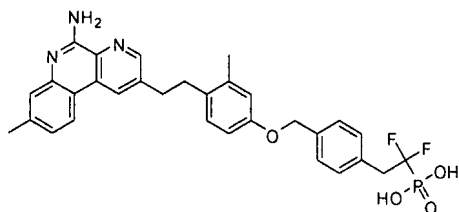
[497] El dietil 3-(2-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)etoxi)-1,1-difluoropropilfosfonato fue preparado de acuerdo al procedimiento descrito en el Ejemplo 1 – Etapa 2, pero usando como reactivo dietil 3-(2-(bromoetoxi)-1,1-difluoropropilfosfonato obtenido en una etapa anterior,

*Etapas 3: ácido 3-(2-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)etoxi)-1,1-difluoropropilfosfónico*

[498] El ácido 3-(2-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)etoxi)-1,1-difluoropropilfosfónico (7) fue preparado de acuerdo al procedimiento descrito en el Ejemplo 1 – Etapa 3, pero usando dietil 3-(2-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)etoxi)-1,1-difluoropropilfosfonato obtenido anteriormente en la etapa 2. La RMN de  $^1\text{H}$  (Dimetilsulfoxido- $d_6$ ) obtenido para el ácido 3-(2-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)etoxi)-1,1-difluoropropilfosfónico (7) NMR  $^1\text{H}$  fue:  $\delta$  8,83 (s, 1H), 8,69 (s, 1H), 8,35 (d, 1H,  $J = 8,3$  Hz), 7,36 (s, 1H), 7,26 (br, 2H), 7,16 (d, 1H,  $J = 8,3$  Hz), 7,07 (d, 1H,  $J = 8,4$  Hz), 6,75 (s, 1H), 6,66 (d, 1H,  $J = 8,3$  Hz), 4,00 (t, 2H,  $J = 4,4$  Hz), 3,67 (t, 2H,  $J = 6,7$  Hz), 3,08 (t, 2H,  $J = 6,8$  Hz), 2,94 (t, 2H,  $J = 6,8$  Hz), 2,44 (s, 3H), 2,25 (s, 3H), 2,22-2,09 (m, 2H), LRMS  $[\text{M}+\text{H}] = 546,2$

Ejemplo 8 (Tabla 1: Compuesto 8): Síntesis de ácido 2-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)etil)penil)-1,1-difluoroetilfosfónico (8)

000157



*Etapa 1: dietil 2-(4-(bromometil)fenil)-1,1-difluoroetilfosfonato*

[499] El dietil 2-(4-(bromometil)fenil)-1,1-difluoroetilfosfonato fue preparado de acuerdo al procedimiento descrito en el Ejemplo 1 – Etapa 1, pero usando como reactivo 1,4-bis(bromometil)benceno comercial,

*Etapa 2: dietil 2-(4-((4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)metil)fenil)-1,1-difluoroetilfosfonato*

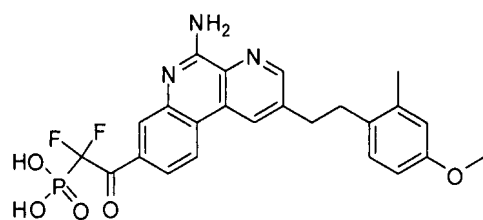
[500] El dietil 2-(4-((4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)metil)fenil)-1,1-difluoroetilfosfonato fue preparado de acuerdo al procedimiento descrito en el Ejemplo 1 – Etapa 2, pero usando como reactivo dietil 2-(4-(bromometil)fenil)-1,1-difluoroetilfosfonato obtenido en una etapa anterior,

*Etapa 3: ácido 2-(4-((4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)metil)fenil)-1,1-difluoroetilfosfónico*

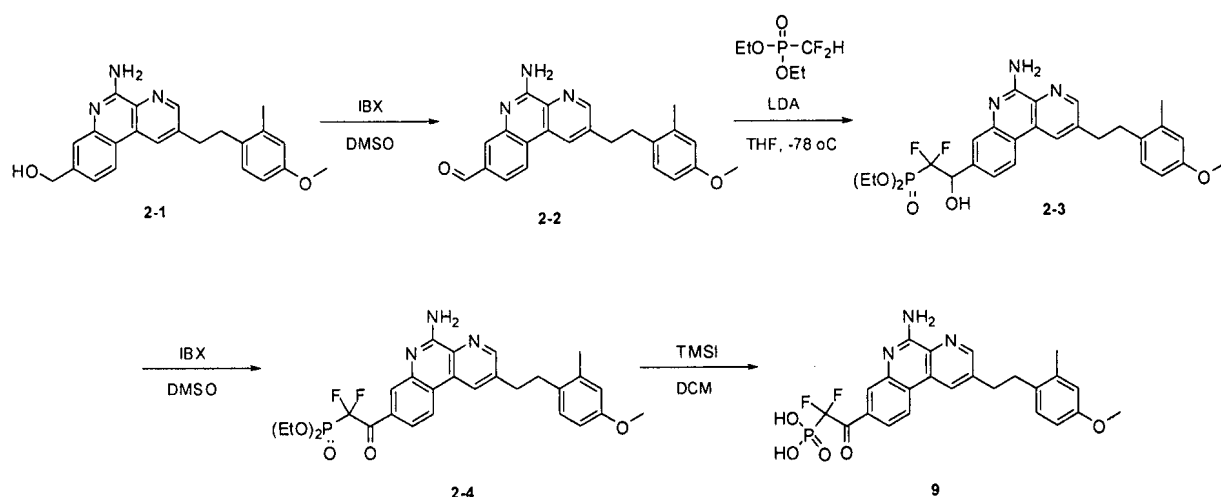
[501] El ácido 2-(4-((4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)metil)fenil)-1,1-difluoroetilfosfónico (8) fue preparado de acuerdo al procedimiento descrito en el Ejemplo 1 – Etapa 3, pero usando dietil 2-(4-((4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)metil)fenil)-1,1-difluoroetilfosfonato obtenido en la etapa 3, TFA fue añadido a la muestra de  $^1\text{H}$  NMR para solubilizar el compuesto para su análisis, LA RMN DE  $^1\text{H}$  (Dimetilsulfoxido- $d_6$ ) obtenido para el ácido 2-(4-((4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)metil)fenil)-1,1-difluoroetilfosfónico (8) NMR  $^1\text{H}$  fue:  $\delta$  9,71 (br, 1H), 9,35 (br, 1H), 9,01 (s, 1H), 8,86 (s, 1H), 8,54 (d, 1H,  $J = 8,4$  Hz), 7,53 (s, 1H), 7,44 (d, 1H), 7,40 (s, 1H), 7,38 (s, 1H), 7,29 (d, 1H,  $J = 8,0$  Hz), 7,24 (s, 1H), 7,11 (s, 1H), 7,09 (s, 1H), 6,99 (s, 1H), 6,85 (s, 1H), 6,76 (d, 1H,  $J = 8,3$  Hz), 5,04 (s, 2H), 3,84-3,73 (m, 2H), 3,15 (t, 2H,  $J = 8,5$  Hz), 2,99 (t, 2H,  $J = 8,5$  Hz), 2,50 (s, 3H), 2,29 (s, 3H), LRMS  $[\text{M}+\text{H}] = 578,2$

000158

Ejemplo 9 (Tabla 1: Compuesto 9): Síntesis de ácido 2-(5-amino-2-(4-metoxi-2-metilfenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-8-il)-1,1-difluoro-2-oxoetilfosfónico(9)



**Esquema 2**



**Etapas 1: 5-amino-2-(4-metoxi-2-metilfenetil)benzo[f][1,7]naftiridina-8-carbaldehído(2-2)**

[502] A una solución de (5-amino-2-(4-metoxi-2-metilfenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-8-il)metanol (2-1), 1,0 equiv, en DMSO (0,15 M) a temperatura ambiente, se añadió IBX (1,5 equiv,). La reacción fue agitada durante 2,5 horas y luego diluida en agua. La capa acuosa fue extraída con 2% MeOH/DCM (4x). Las capas orgánicas combinadas fueron secadas sobre  $\text{MgSO}_4$  anhidro y concentradas *in vacuo*. El residuo resultante fue purificado mediante el sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando un gradiente de 0-5% MeOH/DCM para producir 5-amino-2-(4-metoxi-2-metilfenetil)benzo[f][1,7]naftiridina-8-carbaldehído(2-2) como un sólido,

**Etapas 2: dietil 2-(5-amino-2-(4-metoxi-2-metilfenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-8-il)-1,1-difluoro-2-hidroxi-etilfosfonato(2-3)**

[503] A la solución de dietil difluorometilfosfonato (30 equiv,) en TF (0,3 M) a -78 °C bajo una atmósfera de nitrógeno se añadió por goteo LDA 2M (3,0 equiv., grado comercial). La reacción fue agitada a -78 °C durante 25 min, y se le añadió lentamente una solución de 5-amino-2-(4-metoxi-2-metilfenetil)benzo[f][1,7]naftiridina-8-carbaldehído(2-2) (1,0 equiv,) en TF (0,1 M). La reacción fue agitada a -78 °C durante 1 hora, a 0 °C durante 1 hora, y luego temperada a temperatura ambiente más de 30 minutos. La reacción fue enfriada rápidamente con una solución acuosa de cloruro de amonio y extraída dos veces con acetato de etilo. Las capas orgánicas combinadas fueron lavadas con solución salina, secadas sobre  $\text{MgSO}_4$

000159

anhidro, y concentrada *in vacuo*, El residuo resultante fue purificado mediante el sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando un gradiente de 0-5% MeOH/DCM para producir dietil 2-(5-amino-2-(4-metoxi-2-metilfenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-8-il)-1,1-difluoro-2-hidroxi-etilfosfonato(**2-3**) como un sólido,

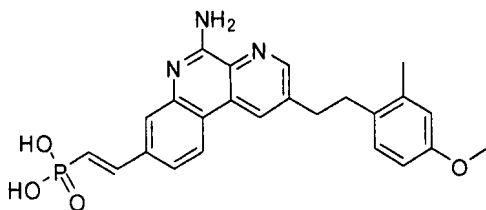
*Etapa 3: dietil 2-(5-amino-2-(4-metoxi-2-metilfenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-8-il)-1,1-difluoro-2-oxoetilfosfonato(2-4)*

[504] A una solución de dietil 2-(5-amino-2-(4-metoxi-2-metilfenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-8-il)-1,1-difluoro-2-hidroxi-etilfosfonato(**2-3**) (1,0 equiv,) en 1:1 DMSO/acetato de etilo (0,07 M) se añadió IBX (1,5 equiv,), La reacción fue calentada a 80°C durante 1 hora, y luego enfriada a temperatura ambiente, Luego la mezcla fue diluida con acetato de etilo y filtrada a través de celite, El filtrado fue lavado con agua (2x), solución salina, secado sobre MgSO<sub>4</sub> anhidro, y concentrado *in vacuo*, El residuo resultante fue purificado mediante el sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando un gradiente de 0-5% MeOH/DCM para producir dietil 2-(5-amino-2-(4-metoxi-2-metilfenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-8-il)-1,1-difluoro-2-oxoetilfosfonato(**2-4**) como un sólido,

*Etapa 4: ácido 2-(5-amino-2-(4-metoxi-2-metilfenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-8-il)-1,1-difluoro-2-oxoetilfosfónico(9)*

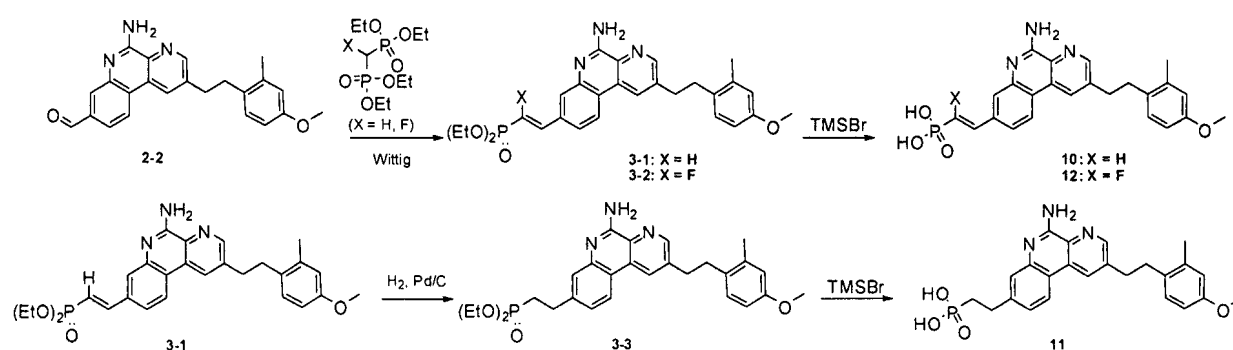
[505] A una solución de dietil 2-(5-amino-2-(4-metoxi-2-metilfenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-8-il)-1,1-difluoro-2-oxoetilfosfonato(**2-4**) (1,0 equiv,) en DCM (0,05 M) a 0°C se añadió TMSI (5,0 equiv,), La reacción fue temperada a temperatura ambiente durante más de 2 horas, y se añadió más TMSI (2,5 equiv,), La solución fue agitada durante otros 30 minutos y luego enfriada rápidamente con pequeñas cantidades de agua, El DCM se eliminó por evaporación, y luego se añadió DMSO/agua, La mezcla fue ajustada a pH 9 y directamente purificada HPLC-FR usando una columna C-18, eluyendo con un gradiente de 10-40% 95:5 (MeCN/5 mM NH<sub>4</sub>OAc) en 10 mM NH<sub>4</sub>OAc (pH 9), Las fracciones conteniendo el producto fueron combinadas y concentradas *in vacuo* para producir ácido 2-(5-amino-2-(4-metoxi-2-metilfenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-8-il)-1,1-difluoro-2-oxoetilfosfónico(**9**) como un sólido, NMR H<sup>1</sup> (Dimetilsulfoxido-d<sub>6</sub>): δ 8,82 (s, 1H), 8,5 (br, 1H), 8,44 (s, 1H), 8,2 (br, 1H), 7,98 (d, 1H, J = 8,2 Hz), 7,2 (br, 2H), 7,05 (d, 1H, J = 8,3 Hz), 6,73 (s, 1H), 6,67 (d, 1H, J = 8,3 Hz), 3,70 (s, 3H), 2,99-2,87 (m, 4H), 2,25 (s, 3H), LRMS [M+H] = 502,2,

*Ejemplo 10 (Tabla 1: Compuesto 10): Síntesis de ácido (E)-2-(5-Amino-2-(4-metoxi-2-metilfenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-8-il)vinilfosfónico(10)*



000160

## Esquema 3



**Etapas 1:** (E)-dietil 2-(5-amino-2-(4-metoxi-2-metilfenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-8-il)vinilfosfonato(3-1)

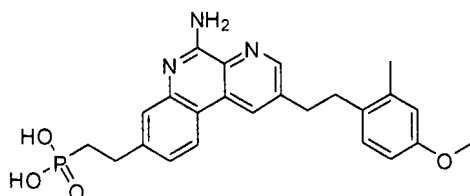
[506] A una solución agitada de NaH (1,2 equiv,) en TF (0,1 M) enfriada a 0 °C se añadió una solución de tetraetil-metilendifosfonato (1,3 equiv,) en TF (0,21 M), A la mezcla de reacción resultante se añadió una solución de 5-amino-2-(4-metoxi-2-metilfenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-8-carbaldehído(2-2) (Ejemplo 9 – Etapa 1) (1,0 equiv,) en TF (0,08 M), La reacción fue agitada a temperatura ambiente durante 30 minutos, luego los solventes fueron removidos *in vacuo*, y El residuo resultante fue purificado mediante el sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando un gradiente de 0-5% MeOH/DCM para producir (E)-dietil 2-(5-amino-2-(4-metoxi-2-metilfenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-8-il)vinilfosfonato(3-1) como un sólido incoloro,

**Etapas 2:** ácido (E)-2-(5-amino-2-(4-metoxi-2-metilfenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-8-il)vinilfosfónico(10)

[507] A una solución de (E)-dietil 2-(5-amino-2-(4-metoxi-2-metilfenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-8-il)vinilfosfonato(3-1) (1,0 equiv,) en DCM (0,095 M) a 0°C se añadió TMSBr (10 equiv,), La reacción fue temperada a temperatura ambiente durante más de 2 horas, y luego enfriada rápidamente con pequeñas cantidades de MeOH, El DCM fue eliminado mediante evaporación, y luego se añadió DMSO/agua, La mezcla fue ajustada a pH 9 y directamente purificada HPLC-FR usando una columna C-18, eluyendo con un gradiente de 10-40% 95:5 (MeCN/5 mM NH<sub>4</sub>OAc) en 10 mM NH<sub>4</sub>OAc (pH 9), Las fracciones conteniendo el producto fueron combinadas y concentradas *in vacuo* para producir ácido (E)-2-(5-amino-2-(4-metoxi-2-metilfenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-8-il)vinilfosfónico (10) como un sólido, NMR H<sup>1</sup> (Dimetilsulfoxido-d<sub>6</sub>): δ 9,76 (s, 1H), 9,33 (s, 1H), 9,03 (s, 1H), 8,82 (s, 1H), 8,60 (d, 1H, J = 8,4 Hz), 7,87 (d, 1H, J = 8,4 Hz), 7,78 (s, 1H), 7,31 (dd, 1H, J = 17,6, 21,6 Hz), 7,03 (d, 1H, J = 8,4 Hz), 6,69 (m, 2H), 6,61 (dd, 1H, J = 2,8, 8,4 Hz), 3,64 (s, 3H), 3,14–3,06 (m, 2H), 2,97–2,91 (m, 2H), 2,23 (s, 3H), LRMS [M+H] = 450,2

000161

Ejemplo 11 (Tabla 1: Compuesto 11): Síntesis de ácido 2-(5-amino-2-(4-metoxi-2-metilfenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-8-il)etilfosfónico (11)



*Etapas 1: dietil 2-(5-amino-2-(4-metoxi-2-metilfenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-8-il)etilfosfonato(3-3)*

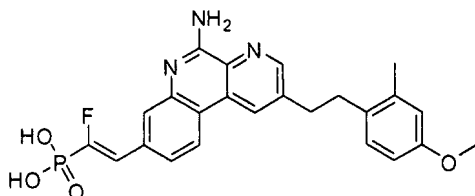
[508] A una solución de (E)-dietil 2-(5-amino-2-(4-metoxi-2-metilfenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-8-il)vinilfosfonato(3-1) (Ejemplo 10 – Etapa 1) (1,0 equiv,) en DCM (0,05 M) y EtOH (0,08 M) se añadió palladium al 10% sobre carbono (0,09 equiv,). Un vaso de reacción fue cargado con un balón de hidrógeno y agitado a temperatura ambiente toda la noche. Una vez que se completó la reacción como se observó mediante LCMS, se eliminaron los solventes, y el residuo resultante fue purificado mediante el sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando un gradiente de 0-5% MeOH/DCM para producir dietil 2-(5-amino-2-(4-metoxi-2-metilfenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-8-il)etilfosfonato(3-3),

*Etapas 2: ácido 2-(5-amino-2-(4-metoxi-2-metilfenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-8-il)etilfosfónico(11)*

[509] A una solución de dietil 2-(5-amino-2-(4-metoxi-2-metilfenetil) benzo[f][1,7]naftiridin-8-il)etilfosfonato(3-3) (1,0 equiv,) en DCM (0,02 M) a 0°C se añadió TMSBr (10 equiv,). La reacción fue temperada a temperatura ambiente durante más de 2 horas, luego se enfrió rápidamente con pequeñas cantidades de MeOH. El DCM fue eliminado mediante evaporación, y luego se añadió DMSO/agua. La mezcla fue ajustada a pH 9 y directamente purificada HPLC-FR usando una columna C-18, eluyendo con un gradiente de 10-40% 95:5 (MeCN/5 mM NH<sub>4</sub>OAc) en 10 mM NH<sub>4</sub>OAc (pH 9). Las fracciones conteniendo el producto fueron combinadas y concentradas *in vacuo* para producir ácido 2-(5-amino-2-(4-metoxi-2-metilfenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-8-il)etilfosfónico(11) como un sólido. NMR H<sup>1</sup> (Dimetilsulfoxido-d<sub>6</sub>): δ 9,66 (s, 1H), 9,30 (s, 1H), 8,95 (s, 1H), 8,78 (s, 1H), 8,50 (d, 1H, J = 8,4 Hz), 7,54 (s, 1H), 7,45 (d, 1H, J = 8,4 Hz), 7,02 (d, 1H, J = 8,4 Hz), 6,69 (d, 1H, J = 2,8 Hz), 6,61 (dd, 1H, J = 2,8, 8,4 Hz), 3,64 (s, 3H), 3,14–3,06 (m, 2H), 3,00–2,90 (m, 4H), 2,22 (s, 3H), 2,02–1,92 (m, 2H), LRMS [M+H] = 452,2

000162

Ejemplo 12 (Tabla 1: Compuesto 12): Síntesis de ácido (E)-2-(5-Amino-2-(4-metoxi-2-metilfenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-8-il)-1-fluorovinilfosfónico (12)



*Etapas 1: (E)-Dietil 2-(5-amino-2-(4-metoxi-2-metilfenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-8-il)-1-fluorovinilfosfonato(3-2)*

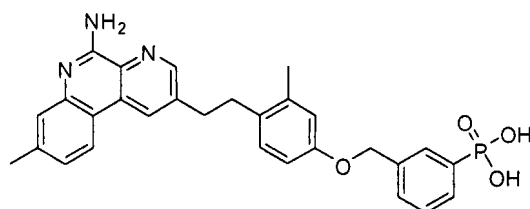
**[510]** A una solución agitada de tetraetil-fluorometilendifosfonato (2,5 equiv,) en TF (0,27 M) enfriada a -78 °C fue añadida una solución de LDA (1,8 M en etilbenzeno/pentano/hexano, 2,0 equiv,). La mezcla de reacción resultante fue temperada a temperatura ambiente y agitada durante 30 minutos, antes fue enfriada de nuevo a -78 °C. Una solución de 5-amino-2-(4-metoxi-2-metilfenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-8-carbaldehído(2-2) (Ejemplo 9 – Etapa 1) (1,0 equiv,) en TF (0,18 M) fue añadida, y luego la mezcla de reacción se dejó temperando lentamente a temperatura ambiente. La reacción fue enfriada rápidamente con una solución saturada de NH<sub>4</sub>Cl. La fase acuosa fue extraída con DCM (3x). Las fases orgánicas combinadas fueron combinadas y concentradas *in vacuo*. El residuo resultante fue purificado mediante el sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando un gradiente de 0-5% MeOH/DCM para producir (E)-Dietil 2-(5-amino-2-(4-metoxi-2-metilfenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-8-il)-1-fluorovinilfosfonato(3-2) como un sólido incoloro,

*Etapas 2: ácido (E)-2-(5-Amino-2-(4-metoxi-2-metilfenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-8-il)-1-fluorovinilfosfónico(12)*

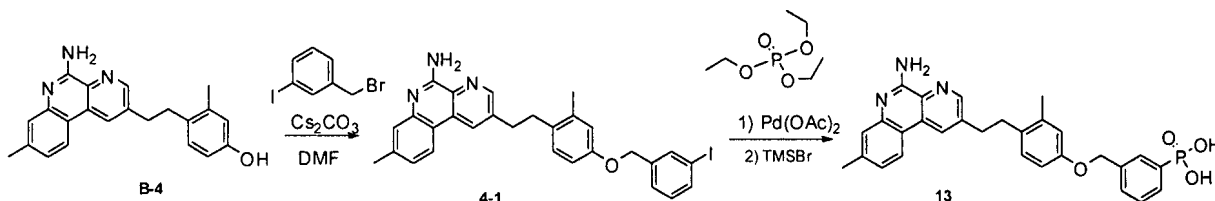
**[511]** A una solución de (E)-dietil 2-(5-amino-2-(4-metoxi-2-metilfenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-8-il)-1-fluorovinilfosfonato(3-2) (1,0 equiv,) en DCM (0,05 M) a 0 °C fue añadida TMSBr (10 equiv,). La reacción fue temperada a temperatura ambiente durante más de 2 horas, y luego enfriada rápidamente con pequeñas cantidades de MeOH. El DCM fue eliminado mediante evaporación, luego se añadió DMSO/agua. La mezcla fue ajustada a pH 9 y directamente purificada HPLC-FR usando una columna C-18, eluyendo con un gradiente de 10-40% 95:5 (MeCN/5 mM NH<sub>4</sub>OAc) en 10 mM NH<sub>4</sub>OAc (pH 9). Las fracciones conteniendo el producto fueron combinadas y concentradas *in vacuo* para producir ácido (E)-2-(5-Amino-2-(4-metoxi-2-metilfenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-8-il)-1-fluorovinilfosfónico(12) como un sólido. NMR H<sup>1</sup> (Dimetilsulfoxido-d<sub>6</sub>): δ 9,80 (s, 1H), 9,41 (s, 1H), 9,05 (s, 1H), 8,87 (s, 1H), 8,65 (d, 1H, J = 8,8 Hz), 8,08 (s, 1H), 7,76 (d, 1H, J = 8,4 Hz), 7,08 (d, 1H, J = 8,4 Hz), 7,02 (d, 1H, J = 8,4 Hz), 6,83–6,65 (m, 2H), 3,69 (s, 3H), 3,18–3,12 (m, 2H), 3,02–2,96 (m, 4H), 2,28 (s, 3H), LRMS [M+H] = 468,1

000163

Ejemplo 13 (Tabla 1: Compuesto 13): Síntesis de ácido 3-((4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)metil)fenilfosfónico (13)



**Esquema 4**



**Etapla 1: 2-(4-(3-iodobenziloxi)-2-metilfenetil)-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina(4-1)**

[512] A una solución de 4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenol (**B-4**), 1,0 equiv, en dimetilformamida (0,10 M) a 22 °C fue añadida carbonato de cesio (1,5 equiv,) y la mezcla resultante fue agitada durante 30 minutos, En éste punto, 1-(bromometil)-3-iodobenceno (1,5 equiv,) fue añadido a ésta mezcla, La mezcla de reacción se agitó a 55 °C durante 18 horas, después de lo cual fue diluida con acetato de etilo y agua, Las capas bifásicas fueron separadas y la capa orgánica fue lavada dos veces con agua, La capa orgánica fue secada sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro y los compuestos volátiles fueron removidos *in vacuo*, El residuo resultante fue purificado mediante el sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando un gradiente de 0-50% de acetato de etilo en hexano para producir 2-(4-(3-iodobenziloxi)-2-metilfenetil)-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina (**4-1**) como un sólido,

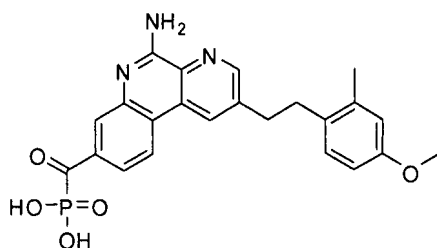
**Etapla 2: ácido 3-((4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)metil)fenilfosfónico(13)**

[513] A una solución agitada de 2-(4-(3-iodobenziloxi)-2-metilfenetil)-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina (1,0 equiv,) en trietilfosfato (1,05 eq,) fue añadida acetato de palladium (0,08 eq,), La mezcla de reacción resultante fue calentada a 90 °C durante la noche, Después que la reacción se dejó enfriar a temperatura ambiente, el residuo fue colocado en DCM (0,27 M) a 0°C, y fue tratado con TMSBr (11 equiv,), La reacción fue temperada a temperatura ambiente durante más de 2 horas, y luego enfriada rápidamente con pequeñas cantidades de MeOH, El DCM fue eliminado mediante evaporación, y luego se añadió DMSO/agua, La mezcla fue ajustada a pH 9 y directamente purificada HPLC-FR usando una columna C-18, eluyendo con un gradiente de 10-40% 95:5 (MeCN/5 mM NH<sub>4</sub>OAc) en 10 mM NH<sub>4</sub>OAc (pH 9), Las fracciones conteniendo el producto fueron combinadas y concentradas *in vacuo* para producir ácido 3-((4-(2-(5-amino-8-

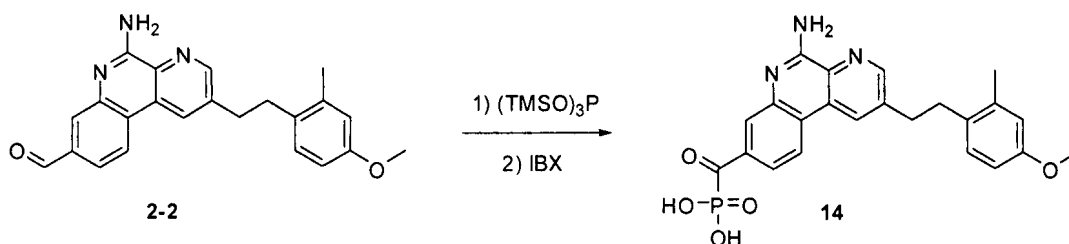
000164

metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)metil)fenilfosfónico(**13**) como un sólido, NMR  $H^1$  (Dimetilsulfoxido- $d_6$ ):  $\delta$  8,84 (s, 1H), 8,72 (s, 1H), 8,35 (d, 1H,  $J = 8,4$  Hz), 7,67 (d, 1H,  $J = 12$  Hz), 7,60–7,54 (m, 1H), 7,30–7,20 (m, 2H), 7,15 (d, 1H,  $J = 8,4$  Hz), 7,11 (d, 1H,  $J = 8,4$  Hz), 7,04 (s, 1H), 6,84 (s, 1H), 6,77 (m, 1H), 4,99 (s, 2H), 3,12–2,92 (m, 4H), 2,44 (s, 3H), 2,27 (s, 3H), LRMS  $[M+H] = 514,2$

Ejemplo 14 (Tabla 1: Compuesto 14): Síntesis de ácido 5-amino-2-(4-metoxi-2-metilfenetil)benzo[f][1,7]naftiridine-8-carbonilfosfónico (**14**)



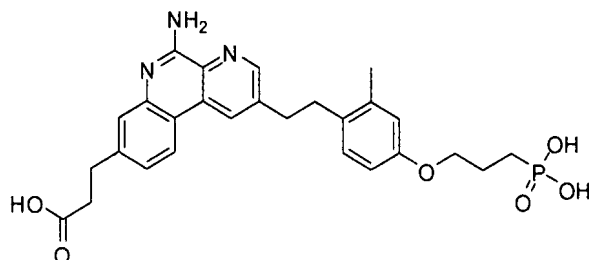
**Esquema 5**



**[514]** A una suspensión agitada de 5-amino-2-(4-metoxi-2-metilfenetil)benzo[f][1,7]naftiridine-8-carbaldehído(**2-2**) (Ejemplo 9 – Etapa 1) (1,0 equiv,) en tolueno (0,27 M) fue añadido tris(trimetilsilil)fosfito(1,0 equiv,), La reacción fue agitada a 80 °C durante 60 minutos, luego los solventes fueron removidos, y el residuo resultante fue colocado en DMSO (0,27 M), y se añadió IBX (1,5 equiv,), La reacción fue agitada a temperatura ambiente durante 2,5 horas, y fue filtrada y directamente purificada HPLC-FR usando una columna C18, eluyendo con un gradiente de 10-40% 95:5 (MeCN/5 mM  $NH_4OAc$ ) en 10 mM  $NH_4OAc$  (pH 9), Las fracciones conteniendo el producto fueron combinadas y concentradas *in vacuo* para producir ácido 5-amino-2-(4-metoxi-2-metilfenetil)benzo[f][1,7]naftiridine-8-carbonilfosfónico(**14**) como un sólido, NMR  $H^1$  (Dimetilsulfoxido- $d_6$ ):  $\delta$  9,84 (s, 1H), 9,35 (s, 1H), 9,09 (s, 1H), 8,89 (s, 1H), 8,76 (d, 1H,  $J = 8,4$  Hz), 8,60 (s, 1H), 8,19 (d, 1H,  $J = 8,8$  Hz), 7,04 (d,  $J = 8,8$  Hz, 1H), 6,70 (d, 1H,  $J = 2,8$  Hz), 6,62 (dd, 1H,  $J = 2,8, 8,4$  Hz), 3,64 (s, 3H), 3,15–3,09 (m, 2H), 2,97–2,91 (m, 2H), 2,23 (s, 3H), LRMS  $[M+H] = 452,1$

000165

Ejemplo 15 (Tabla 1: Compuesto 15): Síntesis de ácido 3-(5-amino-2-(2-metil-4-(3-fosfonopropoxi)fenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-8-il)propanoico(15)



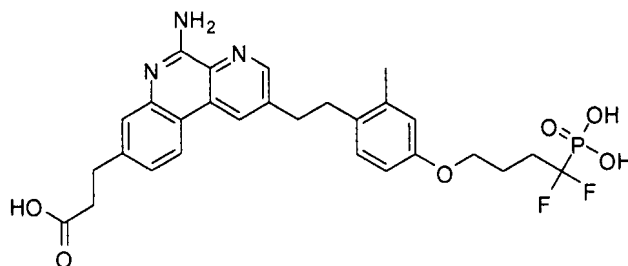
*Etapas 1: ácido 3-(5-amino-2-(4-(3-(dietoxifosforil)propoxi)-2-metilfenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-8-il)propanoico*

**[515]** El ácido 3-(5-amino-2-(4-(3-(dietoxifosforil)propoxi)-2-metilfenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-8-il)propanoico fue preparado de acuerdo al procedimiento descrito en el Ejemplo 19 – Etapa 11, pero usando como reactivo dietil 3-bromopropilfosfonato comercial,

*Etapas 2: ácido 3-(5-amino-2-(2-metil-4-(3-fosfonopropoxi)fenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-8-il)propanoico(15)*

**[516]** El ácido 3-(5-amino-2-(2-metil-4-(3-fosfonopropoxi)fenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-8-il)propanoico(15) fue preparado de acuerdo al procedimiento descrito en el Ejemplo 19 – Etapa 12, pero usando 3-(5-amino-2-(4-(3-(dietoxifosforil)propoxi)-2-metilfenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-8-il)propanoico obtenido en una etapa anterior, NMR  $H^1$  (MeOD- $d_4$ ) obtenido para el ácido 3-(5-amino-2-(2-metil-4-(3-fosfonopropoxi)fenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-8-il)propanoico(15) fue:  $\delta$  8,60 (s, 1H), 8,27 (s, 1H), 8,07 (d, 1H,  $J = 8,4$  Hz), 7,52 (s, 1H), 7,30 (d, 1H,  $J = 8,4$  Hz), 6,87 (d, 1H,  $J = 8,4$  Hz), 6,67 (s, 1H), 6,60 (d, 1H,  $J = 8,4$  Hz), 3,93 (t,  $J = 6,4$  Hz, 2H), 3,49–3,47 (m, 2H), 3,14–3,09 (m, 2H), 2,99–2,95 (m, 2H), 2,69–2,64 (m, 2H), 2,17 (s, 3H), 2,02–2,00 (m, 2H), 1,74–1,66 (m, 2H), LRMS  $[M+H] = 524,2$

Ejemplo 16 (Tabla 1: Compuesto 16): Síntesis del ácido 3-(5-amino-2-(4-(4,4-difluoro-4-fosfonobutoxi)-2-metilfenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-8-il)propanoico(16)



*Etapas 1: dietil 4-bromo-1,1-difluorobutilfosfonato*

[517] El dietil 4-bromo-1,1-difluorobutilfosfonato fue preparado de acuerdo al procedimiento descrito en el Ejemplo 1 – Etapa 1, pero usando como reactivo 1,3-dibromopropano comercial,

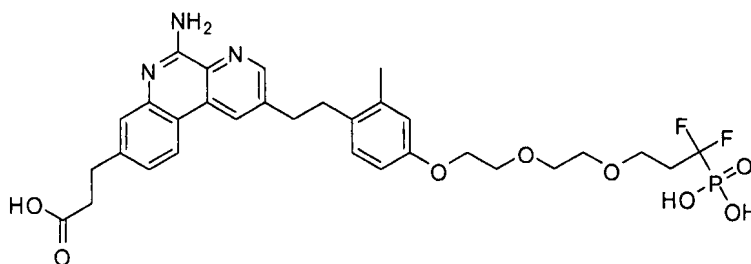
*Etapas 2: ácido 3-(5-amino-2-(4-(4-(dietoxifosforil)-4,4-difluorobutoxi)-2-metilfenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-8-il)propanoico*

[518] El ácido 3-(5-amino-2-(4-(4-(dietoxifosforil)-4,4-difluorobutoxi)-2-metilfenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-8-il)propanoico fue preparado de acuerdo al procedimiento descrito en el Ejemplo 19 – Etapa 11, pero usando como reactivo dietil 4-bromo-1,1-difluorobutilfosfonato obtenido anteriormente en la etapa 1,

*Etapas 3: ácido 3-(5-amino-2-(4-(4,4-difluoro-4-fosfonobutoxi)-2-metilfenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-8-il)propanoico (16)*

[519] El ácido 3-(5-amino-2-(4-(4,4-difluoro-4-fosfonobutoxi)-2-metilfenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-8-il)propanoico (16) fue preparado de acuerdo al procedimiento descrito en el Ejemplo 19 – Etapa 12, pero usando ácido 3-(5-amino-2-(4-(4-(dietoxifosforil)-4,4-difluorobutoxi)-2-metilfenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-8-il)propanoico obtenido anteriormente en la etapa 2, NMR  $H^1$  (MeOD- $d_4$ ) obtenido para el ácido 3-(5-amino-2-(4-(4,4-difluoro-4-fosfonobutoxi)-2-metilfenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-8-il)propanoico (16) fue:  $\delta$  8,69 (s, 1H), 8,45 (s, 1H), 8,22 (d, 1H,  $J = 8,4$  Hz), 7,53 (s, 1H), 7,45 (d, 1H,  $J = 8,4$  Hz), 6,89 (d,  $J = 8,4$  Hz, 1H), 6,69 (s, 1H), 6,60 (d, 1H,  $J = 8,4$  Hz), 3,95 (t, 2H,  $J = 6,4$  Hz), 3,92–3,90 (m, 2H), 3,49–3,47 (m, 2H), 3,20–3,16 (m, 2H), 3,14–3,10 (m, 2H), 3,03–2,99 (m, 2H), 2,74–2,70 (m, 2H), 2,22 (s, 3H), LRMS  $[M+H] = 574,2$

*Ejemplo 17 (Tabla 1: Compuesto 17): Síntesis de ácido 3-(5-amino-2-(4-(2-(2-(3,3-difluoro-3-fosfonopropoxi)etoxi)etoxi)-2-metilfenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-8-il)propanoico (17)*



*Etapas 1: etil 3-(5-amino-2-{2-[4-(2-{2-[3-(dietoxifosforil)-3,3-difluoropropoxi]etoxi}etoxi)-2-metilfenil]etil}benzo[f][1,7-naftiridin-8-il)propanoato*

[520] El Etil 3-(5-amino-2-{2-[4-(2-{2-[3-(dietoxifosforil)-3,3-difluoropropoxi]etoxi}etoxi)-2-

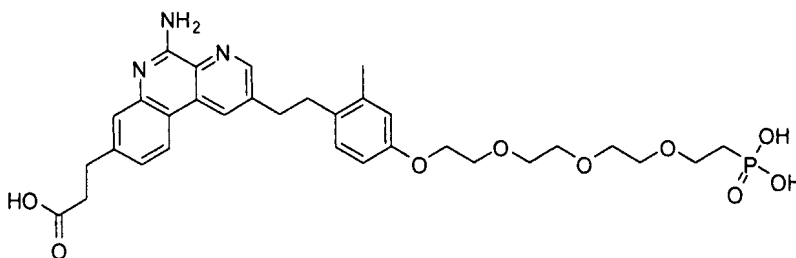
000167

metilfenil}etil}benzo[f]1,7-naftiridin-8-il)propanoato fue preparado de acuerdo al procedimiento descrito en el Ejemplo 19 – Etapa 11, pero usando como reactivo dietil 1,1-difluoro-3-(2-(2-iodoetoxi)etoxi)propilfosfonato (**1-1**) (descrito en Ejemplo 1 – Etapa 1),

*Etapa 2: ácido 3-(5-amino-2-(4-(2-(2-(3,3-difluoro-3-fosfonopropoxi)etoxi)etoxi)-2-metilfenil)benzo[f][1,7]naftiridin-8-il)propanoico (**17**)*

[521] El ácido 3-(5-amino-2-(4-(2-(2-(3,3-difluoro-3-fosfonopropoxi)etoxi)etoxi)-2-metilfenil)benzo[f][1,7]naftiridin-8-il)propanoico (**17**) fue preparado de acuerdo al procedimiento descrito en el Ejemplo 19 – Etapa 12, pero usando etil 3-(5-amino-2-{2-[4-(2-{2-[3-(dietoxifosforil)-3,3-difluoropropoxi]etoxi}etoxi)-2-metilfenil}etil}benzo[f]1,7-naftiridin-8-il)propanoato de una etapa previa, NMR  $H^1$  (DMSO- $d_6$ ) obtenido para el ácido 3-(5-amino-2-(4-(2-(2-(3,3-difluoro-3-fosfonopropoxi)etoxi)etoxi)-2-metilfenil)benzo[f][1,7]naftiridin-8-il)propanoico (**17**) fue:  $\delta$  9,02 (s, 1H), 8,82 (s, 1H), 8,55 (d, 1H,  $J = 8,4$  Hz), 7,58 (s, 1H), 7,49 (d, 1H,  $J = 8,4$  Hz), 7,07 (d, 1H,  $J = 8,4$  Hz), 6,75 (s, 1H), 6,68 (d, 1H,  $J = 8,0$  Hz), 4,03–4,00 (m, 2H), 3,72–3,70 (m, 2H), 3,66–3,62 (m, 2H), 3,58–3,56 (m, 2H), 3,53–3,52 (m, 2H), 3,16–3,12 (m, 2H), 3,03–2,96 (m, 4H), 2,68–2,64 (m, 2H), 2,31–2,33 (m, 2H), 2,27 (s, 3H), LRMS  $[M+H] = 648,2$

*Ejemplo 18 (Tabla 1: Compuesto 18): Síntesis de ácido 3-(5-amino-2-(2-metil-4-(2-(2-(2-(2-fosfonoetoxi)etoxi)etoxi)etoxi)fenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-8-il)propanoico (**18**)*



*Etapa 1: dietil 2-(2-(2-(2-iodoetoxi)etoxi)etoxi)etilfosfonato*

[522] El dietil 2-(2-(2-(2-iodoetoxi)etoxi)etoxi)etilfosfonato fue preparado de acuerdo al procedimiento descrito en el Ejemplo 22 – Etapa 1, pero usando como reactivo 1-iodo-2-(2-(2-(2-iodoetoxi)etoxi)etoxi)etanocomercial,

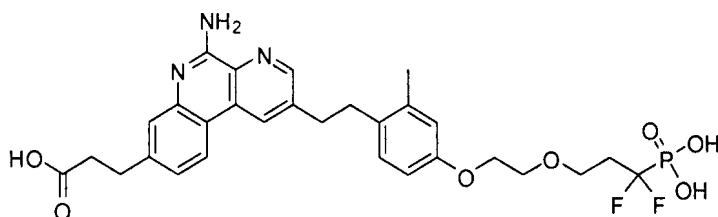
*Etapa 2: etil 3-[5-amino-2-(2-{4-[2-(2-{2-[2-(dietoxifosforil)etoxi]etoxi}etoxi)etoxi]-2-metilfenil}etil)benzo[f]1,7-naftiridin-8-il]propanoato*

[523] El etil 3-[5-amino-2-(2-{4-[2-(2-{2-[2-(dietoxifosforil)etoxi]etoxi}etoxi)etoxi]-2-metilfenil}etil)benzo[f]1,7-naftiridin-8-il]propanoato fue preparado de acuerdo al procedimiento descrito en el Ejemplo 19 – Etapa 11, pero usando como reactivo dietil 2-(2-(2-(2-iodoetoxi)etoxi)etoxi)etilfosfonato obtenido de la previa etapa 1,

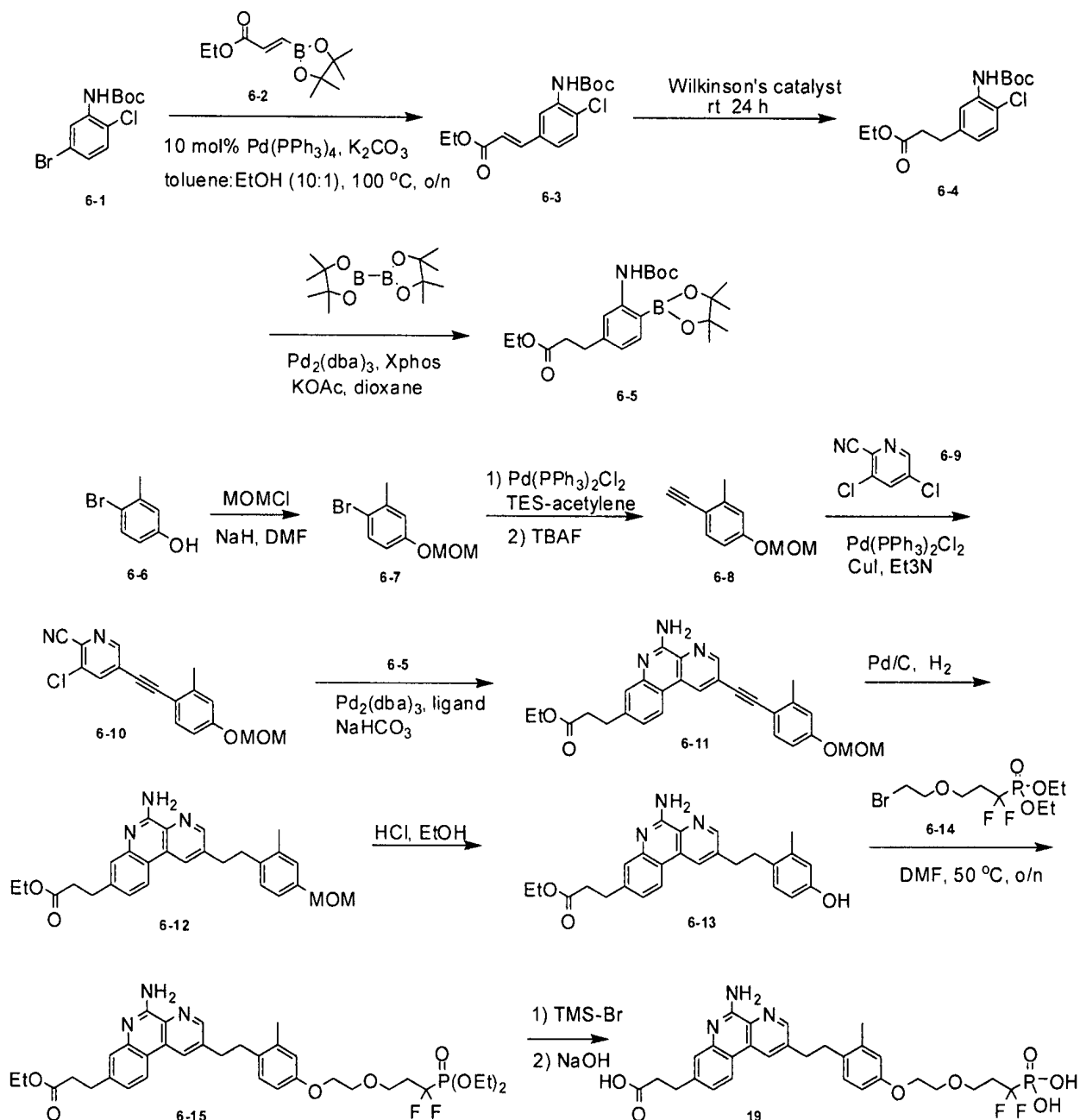
*Etapas 3: ácido 3-(5-amino-2-(2-metil-4-(2-(2-(2-(2-fosfonoetoxi)etoxi)etoxi)etoxi)fenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-8-il)propanoico(18)*

[524] El ácido 3-(5-amino-2-(2-metil-4-(2-(2-(2-(2-fosfonoetoxi)etoxi)etoxi)etoxi)fenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-8-il)propanoico(18) fue preparado de acuerdo al procedimiento descrito en el Ejemplo 19 – Etapa 12, pero usando como reactivo etil 3-[5-amino-2-(2-{4-[2-(2-{2-[2-(dietoxifosforil)etoxi]etoxi}etoxi)etoxi]-2-metilfenil}etil)benzo[f][1,7]naftiridin-8-il)propanoato de la previa etapa 2. La RMN de  $^1\text{H}$  (Dimetilsulfoxido- $d_6$ ) obtenido para el ácido 3-(5-amino-2-(2-metil-4-(2-(2-(2-(2-fosfonoetoxi)etoxi)etoxi)etoxi)fenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-8-il)propanoico. NMR  $^1\text{H}$ (18) fue:  $\delta$  9,02 (s, 1H), 8,82 (s, 1H), 8,56 (d, 1H,  $J = 8,4$  Hz), 7,57 (s, 1H), 7,49 (d, 1H,  $J = 8,4$  Hz), 7,07 (d, 1H,  $J = 8,4$  Hz), 6,76 (s, 1H), 6,68 (d, 1H,  $J = 8,4$  Hz), 4,03–4,01 (m, 2H), 3,72–3,69 (m, 2H), 3,59–3,47 (m, 10H), 3,16–3,13 (m, 2H), 3,03–2,96 (m, 4H), 2,68–2,64 (m, 2H), 1,87–1,82 (m, 2H), 2,27 (s, 3H), LRMS  $[M+H] = 642,3$

Ejemplo 19 (Tabla 1: Compuesto 19): Síntesis de ácido 3-(5-amino-2-(4-(2-(3,3-difluoro-3-fosfonopropoxi)etoxi)-2-metilfenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-8-il)propanoico(19)



## Esquema 6



## Etapa 1: (E)-etil 3-(3-(tert-butoxicarbonilamino)-4-clorofenil)acrilato(6-3)

[525] A una solución de tert-butil 5-bromo-2-clorofenilcarbamato(6-1) (1,0 equiv.) en acetonitrilo (0,3 M) y EtOH (0,5 M) se adicionó K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (2,0 equiv.), La mezcla de reacción fue desgasificada y enjuagada con N<sub>2</sub> presurizado, luego se añadió (E)-etil 3-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)acrilato(6-2) (1,2 equiv.) y Pd(PF<sub>3</sub>)<sub>4</sub> (0,1 equiv.), La mezcla de reacción fue nuevamente enjuagada N<sub>2</sub> presurizado y agitada a 100 °C toda la noche, Después de temperarla a temperatura ambiente, se añadió hexano, y la mezcla fue filtrada a través de un filtro de sílice, eluyendo con EA/Hex (1:1) hasta que el producto fue completamente eluido, El filtrado fue concentrado y purificado en Combiflash, eluyendo con 0-15% EA en Hex para producir (E)-etil 3-(3-(tert-butoxicarbonilamino)-4-clorofenil)acrilato(6-3) como un sólido blanco,

000170

*Etapas 2: etil 3-(3-(tert-butoxicarbonilamino)-4-clorofenil)propanoato(6-4)*

[526] A una solución de (E)-etil 3-(3-(tert-butoxicarbonilamino)-4-clorofenil)acrilato(6-3) (1,0 equiv,) en acetato de etilo/etanol (1:1, 0,3 M) se añadió el catalizador de Wilkinson (0,10 equiv,). Gas de hidrógeno fue introducido mediante un balón, y la mezcla de reacción fue agitada a temperatura ambiente durante 24 horas. La mezcla fue filtrada a través de un filtro de celita, lavando con diclorometano. El filtrado fue concentrado *in vacuo* y purificado mediante Combiflash usando 0-10% de acetato de etilo en hexano para producir etil 3-(3-(tert-butoxicarbonilamino)-4-clorofenil)propanoato(6-4) como un sólido,

*Etapas 3: etil 3-(3-(tert-butoxicarbonilamino)-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenil)propanoato(6-5)*

[527] Una solución de 3-(3-(tert-butoxicarbonilamino)-4-clorofenil)propanoato(6-4) (1,0 equiv,), 4,4,4',4',5,5,5',5'-octametil-2,2'-bi(1,3,2-dioxaborolano) (2,0 equiv,), tris(dibenzilideneacetone)dipalladium(0) (0,05 equiv,), 2-diciclohexilfosfino-2',4',6'-triisopropilbifenilo (0,20 equiv,), y acetato de potasio (2,0 equiv,) en 1,4-dioxano (0,2 M) fue desgasificada y agitada a 100 °C durante la noche. Después fue enfriada a temperatura ambiente, el contenido de la reacción fue concentrado *in vacuo*. El material crudo fue purificado mediante Combiflash usando 0-50% de acetato de etilo en hexano para producir etil 3-(3-(tert-butoxicarbonilamino)-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenil)propanoato(6-5) como un aceite café. El producto fue almacenado a -20°C y usado dentro del mes de su síntesis,

*Etapas 4: 1-bromo-4-(metoximetoxi)-2-metilbenzeno(6-7)*

[528] A una solución de 4-bromo-3-metilfenol (6-6) (1,0 equiv,) en DMF (0,5 M) a 0 °C fue añadida en porciones NaH 60% p/p (1,5 equiv,). La adición fue controlada de tal manera que la temperatura interna de la reacción nunca bajo de 10 °C. La reacción fue agitada a temperatura ambiente durante 45 minutos, luego se añadió por goteo una solución de cloro(metoxi)metano (1,2 equiv,) en DMF (3 M) a través de un embudo adicional. La reacción fue agitada a temperatura ambiente durante 3,5 horas, y luego fue enfriada rápidamente colocándola en hielo. La mezcla resultante fue agitada a temperatura ambiente durante 1 hora. Se añadió éter, y las dos capas fueron separadas. Se extrajo la capa acuosa con éter (1x). Las capas orgánicas combinadas fueron lavadas con agua (2x), solución salina, secadas sobre MgSO<sub>4</sub>, y concentradas para producir 1-bromo-4-(metoximetoxi)-2-metilbenzeno(6-7) como un aceite incoloro. El material en crudo fue usado en la siguiente etapa sin purificación adicional,

*Etapas 5: trietil((4-(metoximetoxi)-2-metilfenil)etnil)silano*

[529] Una solución de 1-bromo-4-(metoximetoxi)-2-metilbenzeno (1,0 equiv,), trietilamina (5,0 equiv,) en DMF (0,5 M) fue desgasificada y enjuagada con nitrógeno presurizado. A la mezcla

de reacción se añadió TES-acetileno (1,05 equiv.), CuI (0,098 equiv.), y  $\text{Pd}(\text{PF}_3)_2\text{Cl}_2$  (0,098 equiv.), La reacción fue calentada a 60 °C y agitada durante la noche, Después de enfriarla a temperatura ambiente, se le añadió agua y éter, Las capas fueron separadas, y la capa orgánica fue lavada con agua (2x), La capa orgánica fue separada y hecha pasar a través de un filtro de sílice (empacado con hexano), La sílice fue eluida con EA al 10% en Hex, Las fracciones fueron combinadas y concentradas para producir trietil((4-(metoximetoxi)-2-metilfenil)etnil)silano, como un aceite negro, El material en crudo fue usado en la siguiente etapa sin purificación adicional,

*Etapas 6: 1-etnil-4-(metoximetoxi)-2-metilbenceno(6-8)*

[530] A una solución de trietil((4-(metoximetoxi)-2-metilfenil)etnil)silano (1,0 equiv.) a 0 °C se le añadió lentamente fluoruro de tetrabutilamonio (solución 1 M en TF, 0,20 equiv.), En este punto, se removió el baño de hielo y se dejó a la mezcla de reacción agitando a temperatura ambiente durante 45 minutos, La mezcla de reacción fue entonces filtrada a través de un filtro de sílice (empacado con hexano) y eluida con EtOAc al 20% en Hexanos para remover las sales insolubles, El producto crudo fue entonces purificado mediante Combiflash usando 0-10% de EtOAc en Hexanos para producir 1-etnil-4-(metoximetoxi)-2-metilbenceno(6-8) como un líquido levemente café,

*Etapas 7: 3-cloro-5-((4-(metoximetoxi)-2-metilfenil)etnil)picolinonitrilo(6-10)*

[531] Una solución de 1-etnil-4-(metoximetoxi)-2-metilbenceno(6-8) (1,0 equiv.), 3,5-dicloropicolinonitrilo (6-9) (0,90 equiv.), CuI (0,10 equiv.), y  $\text{Pd}(\text{PF}_3)_2\text{Cl}_2$  (0,10 equiv.), y trietilamina (5,0 equiv.) en DMF (0,25 M) fue desgasificada y enjuagada con nitrógeno presurizado, La mezcla de reacción fue entonces calentada a 60 °C y agitada durante la noche, Después de enfriarla a temperatura ambiente, se añadió agua, La mezcla fue extraída con EA (2x), Las capas orgánicas combinadas fueron lavadas con  $\text{NH}_4\text{OH}$  10% aq (2x), solución salina, y concentradas, El material crudo fue filtrado a través de un filtro de sílice (humedecido con hexano), La sílice fue eluida con EA al 10% en Hex, Las fracciones fueron combinadas y concentradas, Los sólidos resultantes fueron lavados en éter caliente y filtrados para producir un sólido amarillo, el que fue usado en la siguiente etapa sin purificación adicional, El filtrado fue concentrado y purificado mediante Combiflash usando 0-10% EtOAc en Hexanos para producir 3-cloro-5-((4-(metoximetoxi)-2-metilfenil)etnil)picolinonitrilo(6-10) como un sólido amarillo,

*Etapas 8: etil 3-(5-amino-2-((4-(metoximetoxi)-2-metilfenil)etnil)-benzo[f][1,7] naftiridin-8-il)propanoato(6-11)*

[532] Una solución de 3-cloro-5-((4-(metoximetoxi)-2-metilfenil)etnil)picolinonitrilo(6-10)

000172

(1,0 equiv.), etil 3-(3-(tert-butoxicarbonilamino)-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenil)propanoato(**6-5**) (1,25 equiv.), tris(dibenzilideneacetone)dipalladium(0) (0,10 equiv.), díciclohexil(2',6'-dimetoxibifenil-2-il)fosfina (0,20 equiv.), y bicarbonato de sodio (3,0 equiv.) en *n*-butanol /H<sub>2</sub>O (5:1, 0,2 M) fue desgasificada y agitada a 100 °C durante la noche. Después de enfriar a temperatura ambiente, el contenido de la reacción fue diluido en acetato de etilo y agua. Las dos fases fueron separadas, y la capa acuosa fue extraída dos veces con acetato de etilo. Las capas orgánicas combinadas fueron lavadas con solución salina, secadas sobre MgSO<sub>4</sub> anhidro, y concentrado *in vacuo*. El material crudo fue purificado mediante cromatografía flash en un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando 0-40% de acetato de etilo en DCM primero para remover las impurezas, luego 0-4% de MeOH en DCM para producir etil 3-(5-amino-2-((4-(metoximetoxi)-2-metilfenil)etinil)-benzo[f][1,7]naftiridin-8-il)propanoato(**6-11**). Purificación adicional fue lograda mediante precipitación y lavado en éter caliente,

*Etapas 9: etil 3-(5-amino-2-(4-(metoximetoxi)-2-metilfenil)benzo[f][1,7]naftiridin-8-il)propanoato(6-12)*

[533] Una solución de etil 3-(5-amino-2-((4-(metoximetoxi)-2-metilfenil)etinil)-benzo[f][1,7]naftiridin-8-il)propanoato(**6-11**) (1,0 equiv.) en EtOH/TF (3:1, 0,16 M) fue enjuagada con nitrógeno presurizado. Luego, fue añadido Pd/C 10% p/p (0,20 equiv, en peso). La reacción fue enjuagada con hidrógeno presurizado (2x) y agitada bajo un balón de hidrógeno. Después 24 horas, la mezcla de reacción fue filtrada a través de un filtro de celita, lavando con MeOH al 5% en DCM. El filtrado fue controlado en busca de la presencia de material inicial usando LCMS. La reacción de hidrogenación fue repetida hasta que no se detectó más la presencia de material inicial alquino o alqueno. El producto crudo fue purificado mediante Combiflash usando 0-4% de MeOH en DCM para producir etil 3-(5-amino-2-(4-(metoximetoxi)-2-metilfenil)benzo[f][1,7]naftiridin-8-il)propanoato(**6-12**) como un sólido blanco,

*Etapas 10: etil 3-(5-amino-2-(4-hidrox-2-metilfenil)benzo[f][1,7]naftiridin-8-il)propanoato(6-13)*

[534] El etil 3-(5-amino-2-(4-(metoximetoxi)-2-metilfenil)benzo[f][1,7]naftiridin-8-il)propanoato(**6-12**) (1,0 equiv.) fue disuelto en EtOH (0,2 M), luego se añadió una solución de HCl 4M en dioxano (0,2 M). El producto precipitó como una sal amarilla. Después de agitar durante 3 horas, la solución fue vertida sobre una solución agitada de éter. La mezcla fue agitada durante 10 minutos, luego fue filtrada y lavada con éter. Etíl 3-(5-amino-2-(4-hidrox-2-metilfenil)benzo[f][1,7]naftiridin-8-il)propanoato(**6-13**) fue obtenido como un sólido color amarillo, el que secado al vacío durante la noche (sal bis-HCl). De manera alternativa, el producto crudo fue purificado mediante Combiflash usando 0-5% de MeOH en

DCM para producirla base libre,

*Etapa 11: etil 3-(5-amino-2-(4-(2-(3-(dietoxifosforil)-3,3-difluoropropoxi)etoxi)-2-metilfenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-8-il)propanoate (6-15)*

**[535]** Auna solución de etil 3-(5-amino-2-(4-hidroxi-2-metilfenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-8-il)propanoato(**6-13**) (1,0 equiv,) disuelto en DMF (0,14 M) se le añadió una solución de dietil 3-(2-bromoetoxi)-1,1-difluoropropilfosfonato(**6-14**) descrita en el Ejemplo 7 – Etapa 1) (1,3 equiv,) en DMF (0,7 M) y carbonato de cesio (4 equiv,). La reacción fue agitada a 60 °C. Después de 1,5 horas (hasta que la reacción fue completada mediante comprobación con LCMS), se añadió a la mezcla de reacción DCM (2 volúmenes equivalentes). Los sólidos (inorgánicos) fueron filtrados, y el filtrado fue concentrado. El producto crudo fue purificado mediante Combiflash usando 0-5% de MeOH en DCM para producir etil 3-(5-amino-2-(4-(2-(3-(dietoxifosforil)-3,3-difluoropropoxi)etoxi)-2-metilfenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-8-il)propanoato(**6-15**) como un aceite que después de reposo se transformó en un sólido blanco,

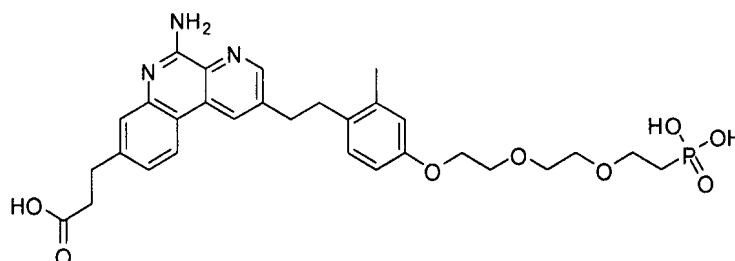
*Etapa 12: ácido 3-(5-amino-2-(4-(2-(3,3-difluoro-3-fosfonopropoxi)etoxi)-2-metilfenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-8-il)propanoico (19)*

**[536]** Auna solución de etil 3-(5-amino-2-(4-(2-(3-(dietoxifosforil)-3,3-difluoropropoxi)etoxi)-2-metilfenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-8-il)propanoato(**6-15**) (1,0 equiv,) en DCM (0,16 M) a 0 °C se añadió lentamente TMSBr (10 equiv,). La mezcla de reacción fue agitada a temperatura ambiente durante la noche. Se añadió TMSBr (5,0 equiv,) adicional a 0 °C, y la reacción fue nuevamente agitada a temperatura ambiente durante la noche. El solvente fue eliminado mediante evaporación y los sólidos naranjos en crudo fueron secados brevemente en alto vacío. Los sólidos fueron resuspendidos en EtOH (0,5 M) y se añadió NaOH 2,5 N (10,0 equiv,). La reacción fue agitada a 80 °C durante 3 horas. Después de enfriar a temperatura ambiente, la mezcla fue ajustada a pH 9 a 10 y purificada directamente en HPLC-FR usando una columna C18, eluyendo con un gradiente de 10-40% 95:5 (MeCN/5mM NH<sub>4</sub>OAc) en 10mM NH<sub>4</sub>OAc (pH 9). Las fracciones conteniendo el producto fueron combinadas y concentradas *in vacuo*. El gel blanco resultante fue disuelto en un reflujo de 1:1 EtOH/agua (0,04 M) con la adición de unas pocas gotas de hidróxido de amonio. Mientras estaba caliente, la mezcla se vertió lentamente en una solución de acetona agitada (0,009 M) precalentada a 50 °C. La suspensión de acetona fue lentamente enfriada a temperatura ambiente durante 15 minutos con agitación continua, y luego fue puesta en un baño de hielo durante 10 minutos. Los sólidos fueron filtrados y lavados sucesivamente con acetona (2x) y éter (2x). Los sólidos fueron secados en alto vacío durante la noche para producir el ácido 3-(5-amino-2-(4-(2-(3,3-difluoro-3-fosfonopropoxi)etoxi)-2-metilfenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-8-il)propanoico(**19**) como un sólido, NMR H<sup>1</sup> (Dimetilsulfoxido-d<sub>6</sub>): δ 9,02 (s, 1H), 8,82 (s, 1H),

• 000174

8,55 (d, 1H, J = 8,4 Hz), 7,58 (s, 1H), 7,48 (d, 1H, J = 8,4 Hz), 7,07 (d, 1H, J = 8,4 Hz), 6,75 (s, 1 H), 6,68 (d, 1H, J = 8,4 Hz), 4,03–4,00 (m, 2H), 3,72–3,68 (m, 4H), 3,16–3,12 (m, 2H), 3,03–2,96 (m, 4H), 2,67–2,64 (m, 2H), 2,33–2,32 (m, 2H), 2,26 (s, 3H), LRMS [M+H] = 604,2

Ejemplo 20 (Tabla 1: Compuesto 20): Síntesis de ácido 3-(5-amino-2-(2-metil-4-(2-(2-(2-fosfonoetoxi)etoxi)etoxi)fenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-8-il)propanoico(20)



*Etapas 1: dietil 2-(2-(2-iodoetoxi)etoxi)etilfosfonato*

[537] Un tubo para microondas fue cargado con una barra magnética, 1,2-bis(2-iodoetoxi)etano (1,0 equiv.) y trietilfosfito (1,0 equiv.) comercialmente disponibles. El tubo fue tapado y se irradió a 160 °C durante 40 minutos con agitación. La mezcla de reacción fue enfriada a temperatura ambiente y fue purificada mediante Combiflash usando 0-75% de EtOAc en hexanos, o alternativamente mediante HPLC-FR (0,035% TFA en ACN:0,05% TFA en H<sub>2</sub>O, columna C18), para producir dietil 2-(2-(2-iodoetoxi)etoxi)etilfosfonato como un aceite amarillo pálido,

*Etapas 2: etil 3-(5-amino-2-{2-[4-(2-{2-[2-(dietoxifosforil)etoxi]etoxi}etoxi)-2-metilfenil]etil}benzo[f]1,7-naftiridin-8-il)propanoato*

[538] El etil 3-(5-amino-2-{2-[4-(2-{2-[2-(dietoxifosforil)etoxi]etoxi}etoxi)-2-metilfenil]etil}benzo[f]1,7-naftiridin-8-il)propanoato fue preparado de acuerdo al procedimiento descrito en el Ejemplo 19 – Etapa 11, pero usando como reactivo dietil 2-(2-(2-iodoetoxi)etoxi)etilfosfonato de la etapa 1,

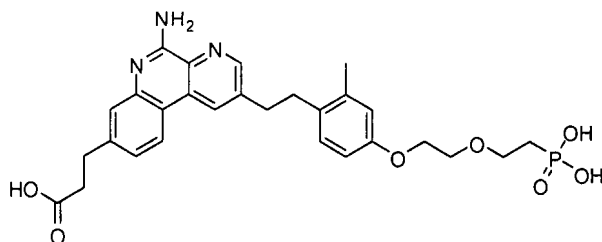
*Etapas 3: ácido 3-(5-amino-2-(2-metil-4-(2-(2-(2-fosfonoetoxi)etoxi)etoxi)fenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-8-il)propanoico(20)*

[539] El ácido 3-(5-amino-2-(2-metil-4-(2-(2-(2-fosfonoetoxi)etoxi)etoxi)fenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-8-il)propanoico(20) fue preparado de acuerdo al procedimiento descrito en el Ejemplo 19 – Etapa 12, pero usando como reactivo etil 3-(5-amino-2-{2-[4-(2-{2-[2-(dietoxifosforil)etoxi]etoxi}etoxi)-2-metilfenil]etil}benzo[f]1,7-naftiridin-8-il)propanoato de la previa etapa 2. NMR H<sup>1</sup> (Dimetilsulfoxido-d<sub>6</sub>) obtenido para el ácido 3-(5-amino-2-(2-metil-4-(2-(2-(2-fosfonoetoxi)etoxi)etoxi)fenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-8-il)propanoico(20) fue: δ 9,02 (s, 1H), 8,82 (s, 1H), 8,55 (d, 1H, J = 8,0 Hz), 7,58 (s, 1 H), 7,49 (d, 1H, J = 8,4 Hz), 7,06 (d, 1H, J = 8,0 Hz), 6,76 (s, 1 H), 6,68 (d, 1H, J =

. 000175

8,0 Hz), 4,03–4,00 (m, 2H), 3,71–3,69 (m, 2H), 3,60–3,54 (m, 4H), 3,51–3,49 (m, 2H), 3,16–3,12 (m, 2H), 3,03–2,96 (m, 4H), 2,67–2,66 (m, 2H), 2,33–2,32 (m, 2H), 2,26 (s, 3H), LRMS [M+H] = 598,2

Ejemplo 21 (Tabla 1: Compuesto 21): Síntesis de ácido 3-(5-amino-2-(2-metil-4-(2-(2-fosfonoetoxi)etoxi)fenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-8-il)propanoico(21)



*Etapas 1: dietil 2-(2-bromoetoxi)etilfosfonato*

[540] El dietil 2-(2-bromoetoxi)etilfosfonato fue preparado de acuerdo al procedimiento descrito en el Ejemplo 22 – Etapa 1, perousando como reactivo 1-bromo-2-(2-bromoetoxi)etanocomercial,

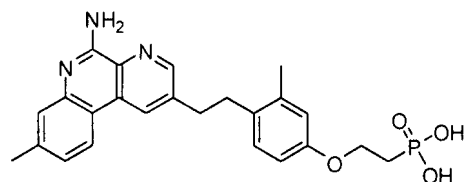
*Etapas 2: ácido 3-(5-amino-2-(4-(2-(2-(dietoxifosforil)etoxi)etoxi)-2-metilfenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-8-il)propanoico*

[541] El ácido 3-(5-amino-2-(4-(2-(2-(dietoxifosforil)etoxi)etoxi)-2-metilfenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-8-il)propanoico fue preparado de acuerdo al procedimiento descrito en el Ejemplo 19 – Etapa 11, perousando como reactivo dietil 2-(2-bromoetoxi)etilfosfonato de la previa etapa 1,

*Etapas 3: ácido 3-(5-amino-2-(2-metil-4-(2-(2-fosfonoetoxi)etoxi)fenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-8-il)propanoico(21)*

[542] El ácido 3-(5-amino-2-(2-metil-4-(2-(2-fosfonoetoxi)etoxi)fenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-8-il)propanoico(21) fue preparado de acuerdo al procedimiento descrito en el Ejemplo 19 – Etapa 12, perousando ácido 3-(5-amino-2-(4-(2-(2-(dietoxifosforil)etoxi)etoxi)-2-metilfenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-8-il)propanoico de la previa etapa 2, La RMN de  $^1\text{H}$  (MeOD- $d_4$ ) obtenido para el ácido 3-(5-amino-2-(2-metil-4-(2-(2-fosfonoetoxi)etoxi)fenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-8-il)propanoico(21). NMR  $^1\text{H}$  fue:  $\delta$  8,59 (s, 1H), 8,45 (s, 1H), 8,18 (d, 1H,  $J = 8,4$  Hz), 7,52 (s, 1H), 7,31 (d, 1H,  $J = 8,0$  Hz), 6,93 (d, 1H,  $J = 8,4$  Hz), 6,72 (s, 1H), 6,65 (d, 1H,  $J = 8,4$  Hz), 4,06–4,03 (m, 2H), 3,84–3,76 (m, 4H), 3,15–3,07 (m, 4H), 3,01–2,97 (m, 2H), 2,68–2,64 (m, 2H), 2,22 (s, 3H), 2,03–1,99 (m, 2H), LRMS [M+H] = 554,2

Ejemplo 22 (Tabla 1: Compuesto 22): Síntesis de ácido 2-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)etilfosfónico(22)



*Etapas 1: dietil 2-bromoetilfosfonato*

[543] 1,2-dibromoetano (1,0 equiv.) y trietilfosfito (1,0 equiv.) comercialmente disponibles fueron calentados por irradiación en microondas a 160 °C durante 20 minutos. El residuo resultante fue purificado por cromatografía líquida de alta resolución en fase reversa (HPLC) (0,035% TFA en ACN : 0,05% TFA en H<sub>2</sub>O, columna C18) para producir dietil 2-bromoetilfosfonato como un líquido incoloro,

*Etapas 2: dietil 2-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)etilfosfonato*

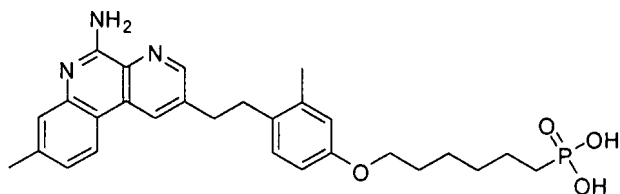
[544] El dietil 2-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)etilfosfonato fue preparado de acuerdo al procedimiento descrito en el Ejemplo 1 – Etapa 2, pero usando como reactivo dietil 2-bromoetilfosfonato de la previa etapa 1,

*Etapas 3: ácido 2-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)etilfosfónico(22)*

[545] El ácido 2-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)etilfosfónico(22) fue preparado de acuerdo al procedimiento descrito en el Ejemplo 1 – Etapa 3, pero usando como reactivo dietil 2-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)etilfosfonato de la previa etapa 2. Se añadió TFA a la muestra de <sup>1</sup>H NMR para solubilizar al compuesto para su análisis. La RMN de <sup>1</sup>H (dimetil sulfoxido) obtenido para el ácido 2-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)etil-fosfónico(22) NMR H<sup>1</sup> fue: δ 8,83 (s, 1H), 8,71 (s, 1H), 8,35 (d, 1H, J = 8,3 Hz), 7,35 (s, 1H), 7,15 (d, 1H, J = 9,6 Hz), 7,08 (d, 1H, J = 8,4 Hz), 7,06–7,03 (br, 2H), 6,71 (s, 1H), 6,64 (d, 1H, J = 8,1 Hz), 4,09–3,99 (m, 2H), 3,07 (t, 2H, J = 6,9), 2,93 (t, 2H, J = 6,7), 2,44 (s, 3 H), 2,26 (s, 3H), 1,72–1,62 (m, 2H), LRMS [M+H] = 452,2

000177

Ejemplo 23 (Tabla 1: Compuesto 23): Síntesis de ácido 6-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)hexilfosfónico(23)



*Etapas 1: dietil 6-bromohexilfosfonato*

[546] El dietil 6-bromohexilfosfonato fue preparado de acuerdo al procedimiento descrito en el Ejemplo 22 – Etapa 1, pero usando como reactivo 1,6-dibromohexano comercial,

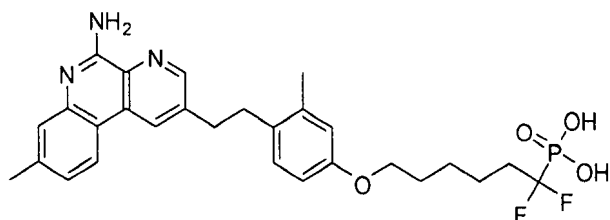
*Etapas 2: dietil 6-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)hexilfosfonato*

[547] El dietil 6-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)hexilfosfonato fue preparado de acuerdo al procedimiento descrito en el Ejemplo 1 – Etapa 2, pero usando como reactivo dietil 6-bromohexilfosfonato de la previa etapa 1,

*Etapas 3: ácido 6-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)hexilfosfónico(23)*

[548] El ácido 6-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)hexilfosfónico(23) fue preparado de acuerdo al procedimiento descrito en el Ejemplo 1 – Etapa 3, pero usando como reactivo dietil 6-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)hexilfosfonato. Se añadió TFA a la muestra de  $^1\text{H}$  NMR para solubilizar al compuesto para su análisis. La RMN de  $^1\text{H}$  (dimetil sulfoxide- $d_6$ ) obtenido para el ácido 6-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)hexilfosfónico(23). NMR  $^1\text{H}$  fue:  $\delta$  8,95 (s, 1H), 8,81 (s, 1H), 8,50 (d, 1H,  $J = 8,4$  Hz), 7,52 (s, 1H), 7,40 (d, 1H,  $J = 8,4$  Hz), 7,01 (d, 1H,  $J = 8,4$  Hz), 6,71 (s, 1H), 6,64 (d, 1H,  $J = 10,9$  Hz), 3,87 (t, 2H,  $J = 6,34$  Hz), 3,13 (t, 2H,  $J = 7,1$  Hz), 2,96 (t, 2H,  $J = 7,0$  Hz), 2,69–2,66 (m, 1H), 2,35–2,32 (m, 1H), 2,25 (s, 2H), 1,72–1,62 (m, 2H), 1,62–1,51 (m, 2H), 1,51–1,40 (m, 2H), LRMS  $[\text{M}+\text{H}] = 508,2$

Ejemplo 24 (Tabla 1: Compuesto 24): Síntesis de ácido 6-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)-1,1-difluorohexilfosfónico(24)



000178

*Etapas 1: dietil 6-bromo-1,1-difluorohexilfosfonato*

[549] El dietil 6-bromo-1,1-difluorohexilfosfonato fue preparado de acuerdo al procedimiento descrito en el Ejemplo 1 – Etapa 1, pero usando como reactivo 1,5-dibromopentano comercial,

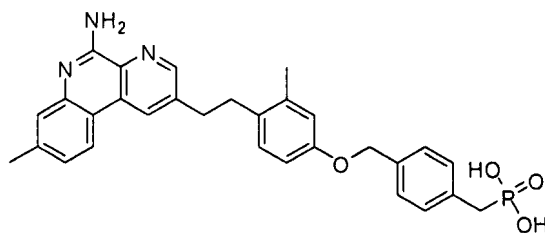
*Etapas 2: dietil 6-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)-1,1-difluorohexilfosfonato*

[550] El dietil 6-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)-1,1-difluorohexilfosfonato fue preparado de acuerdo al procedimiento descrito en el Ejemplo 1 – Etapa 2, pero usando como reactivo dietil 6-bromo-1,1-difluorohexilfosfonato de la previa etapa 1,

*Etapas 3: ácido 6-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)-1,1-difluorohexilfosfónico(24)*

[551] El ácido 6-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)-1,1-difluorohexilfosfónico(24) fue preparado de acuerdo al procedimiento descrito en el Ejemplo 1 – Etapa 3, pero usando como reactivo dietil 6-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)-1,1-difluorohexilfosfonato de la previa etapa 2. Se añadió TFA a la muestra de  $^1\text{H}$  NMR para solubilizar al compuesto para su análisis. NMR  $\text{H}^1$  (MeOD- $d_4$ ) obtenido para el ácido 6-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)-1,1-difluorohexilfosfónico(24) fue:  $\delta$  8,73 (s, 1H), 8,60 (s, 1H), 8,31 (d, 1H,  $J = 8,4$  Hz), 7,48 (s, 1H), 7,43 (d, 1H,  $J = 8,3$  Hz), 6,91 (d, 1H,  $J = 8,4$  Hz), 6,70 (s, 1H), 6,61 (d, 1H,  $J = 11,0$  Hz), 3,90 (t, 2H,  $J = 6,3$  Hz), 3,20 (t, 2H,  $J = 7,3$  Hz), 3,03 (t, 2H,  $J = 7,5$  Hz), 2,54 (s, 2H), 2,22 (s, 3H), 1,79–1,71 (m, 2H), 1,69–1,59 (m, 2H), 1,57–1,47 (m, 2H), LRMS  $[\text{M}+\text{H}] = 544,2$

*Ejemplo 25 (Tabla 1: Compuesto 25): Síntesis de ácido 4-((4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)metil)benzilfosfónico(25)*



*Etapas 1: dietil 4-(bromometil)benzilfosfonato*

[552] El dietil 4-(bromometil)benzilfosfonato fue preparado de acuerdo al procedimiento descrito en el Ejemplo 22 – Etapa 1, pero usando como reactivo 1,4-bis(bromometil)benceno comercial,

000179

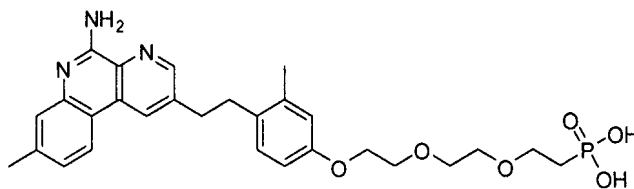
*Etapa 2: dietil 4-((4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)metil)benzilfosfonato*

**[553]** El dietil 4-((4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)metil)benzilfosfonato fue preparado de acuerdo al procedimiento descrito en el Ejemplo 1 – Etapa 2, pero usando como reactivo dietil 4-(bromometil)benzilfosfonato de la previa etapa 1,

*Etapa 3: ácido 4-((4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)metil)benzilfosfónico(25)*

**[554]** El ácido 4-((4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)metil)benzilfosfónico(25) fue preparado de acuerdo al procedimiento descrito en el Ejemplo 1 – Etapa 3, pero usando como reactivo dietil 4-((4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)metil)benzilfosfonato de la previa etapa 2, La RMN de  $^1\text{H}$  (MeOD- $d_4$ ) obtenido para el ácido 4-((4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)metil)benzilfosfónico(25). NMR  $^1\text{H}$  fue:  $\delta$  8,72 (s, 1H), 8,58 (s, 1H), 8,30 (d, 1H,  $J = 8,4$  Hz), 7,48 (s, 1H), 7,42 (d, 1H,  $J = 9,5$  Hz), 7,36–7,30 (m, 4H), 6,93 (d, 1H,  $J = 8,4$  Hz), 6,78 (s, 1H), 6,67 (d, 1H,  $J = 8,4$  Hz), 4,98 (s, 2H), 3,96 (s, 2H), 3,20 (t, 2H,  $J = 7,2$  Hz), 3,04 (t, 2H,  $J = 7,2$  Hz), 2,54 (s, 3H), 2,23 (s, 3H), LRMS  $[M+H] = 528,2$

*Ejemplo 26 (Tabla 1: Compuesto 26): Síntesis de ácido 2-(2-(2-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)etoxi)etoxi)etilfosfónico(26)*



*Etapa 1: dietil 2-(2-(2-(2-iodoetoxi)etoxi)etilfosfonato*

**[555]** El dietil 2-(2-(2-(2-iodoetoxi)etoxi)etilfosfonato fue preparado de acuerdo al procedimiento descrito en el Ejemplo 20 – Etapa 1,

*Etapa 2: dietil 2-(2-(2-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)etoxi)etoxi)etilfosfonato*

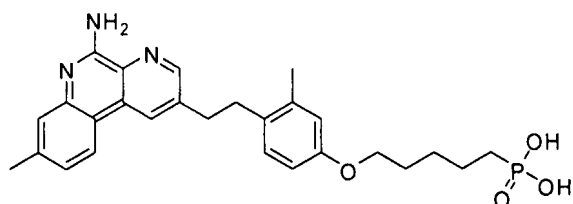
**[556]** El dietil 2-(2-(2-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)etoxi)etoxi)etilfosfonato fue preparado de acuerdo al procedimiento descrito en el Ejemplo 1 – Etapa 2, pero usando como reactivo dietil 2-(2-(2-iodoetoxi)etoxi)etilfosfonato de la previa etapa 1,

*Etapa 3: ácido 2-(2-(2-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)etoxi)etoxi)etilfosfónico(26)*

**[557]** El ácido 2-(2-(2-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-

metilfenoxi)etoxi)etoxi)etilfosfónico(**26**) fue preparado de acuerdo al procedimiento descrito en el Ejemplo 1 – Etapa 3, pero usando como reactivo dietil 2-(2-(2-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)etoxi)etoxi)etilfosfonato de la previa etapa 2. La RMN de  $^1\text{H}$  (MeOD- $d_4$ ) obtenido para el ácido 2-(2-(2-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)etoxi)etoxi)etilfosfónico(**26**). NMR  $^1\text{H}$  fue:  $\delta$  8,73 (s, 1H), 8,66 (s, 1H), 8,38 (d, 1H,  $J = 8,4$  Hz), 7,52 (s, 1H), 7,47 (d, 1H,  $J = 8,3$  Hz), 7,36 (s, 1H), 6,93 (d, 1H,  $J = 8,4$  Hz), 6,75 (s, 2H), 6,64 (d, 1H,  $J = 10,8$  Hz), 4,09–4,06 (m, 2H), 3,80–3,76 (m, 2H), 3,69–3,64 (m, 2H), 3,64–3,59 (m, 2H), 3,53–3,49 (m, 2H), 3,25 (t, 2H,  $J = 7,0$  Hz), 3,09 (t, 2H,  $J = 7,5$  Hz), 2,58 (s, 3H), 2,28 (s, 3H), 2,13–2,01 (m, 2H), LRMS  $[\text{M}+\text{H}] = 540,2$

Ejemplo 27 (Tabla 1: Compuesto 27): Síntesis de ácido 5-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)pentilfosfónico (**27**)



*Etapa 1: dietil 5-bromopentilfosfonato*

[558] El dietil 5-bromopentilfosfonato fue preparado de acuerdo al procedimiento descrito en el Ejemplo 22 – Etapa 1, pero usando como reactivo 1,5-dibromopentano comercial,

*Etapa 2: dietil 5-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)pentilfosfonato*

[559] El dietil 5-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)pentilfosfonato fue preparado de acuerdo al procedimiento descrito en el Ejemplo 1 – Etapa 2, pero usando como reactivo dietil 5-bromopentilfosfonato de la previa etapa 1,

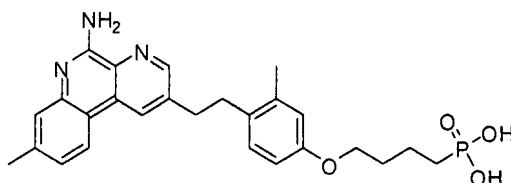
*Etapa 3: ácido 5-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)pentilfosfónico (**27**)*

[560] El ácido 5-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)pentilfosfónico(**27**) fue preparado de acuerdo al procedimiento descrito en el Ejemplo 1 – Etapa 3, pero usando como reactivo dietil 5-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)pentilfosfonato de la previa etapa 2. La RMN de  $^1\text{H}$  (dimetil sulfoxido- $d_6$ ) obtenido para el ácido 5-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)pentilfosfónico(**27**). NMR  $^1\text{H}$  fue:  $\delta$  8,99 (s, 1H), 8,83 (s, 1H), 8,53 (d, 1H,  $J = 8,4$  Hz), 7,51 (s, 1H), 7,39 (d, 1H,  $J = 8,4$  Hz), 7,06 (d, 1H,  $J = 8,4$  Hz), 6,71 (s, 1H), 6,65 (d, 1H,  $J = 8,3$  Hz), 3,87 (t, 2H,  $J = 6,3$  Hz), 3,12 (t, 2H,  $J = 7,0$  Hz), 2,96 (t, 2H,  $J = 7,0$  Hz), 2,5 (s, 3H), 2,26 (s, 3H), 1,73–1,64 (m, 2H), 1,64–1,58

000181

(m, 2H), 1,58–1,51(m, 2H), 1,51–1,41(m, 2H), LRMS [M+H] = 494,2

Ejemplo 28 (Tabla 1: Compuesto 28): Síntesis de ácido 4-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)butilfosfónico(28)



*Etapas 1: dietil 4-bromobutilfosfonato*

[561] El dietil 4-bromobutilfosfonato fue preparado de acuerdo al procedimiento descrito en el Ejemplo 22 – Etapa 1, pero usando como reactivo 1,4-dibromobutano comercial,

*Etapas 2: dietil 4-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)butilfosfonato*

[562] El dietil 4-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)butilfosfonato fue preparado de acuerdo al procedimiento descrito en el Ejemplo 1 – Etapa 2, pero usando como reactivo dietil 4-bromobutilfosfonato de la previa etapa 1,

*Etapas 3: ácido 4-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)butilfosfónico(28)*

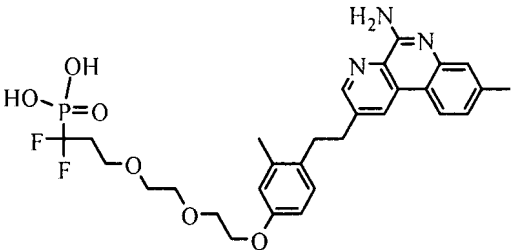
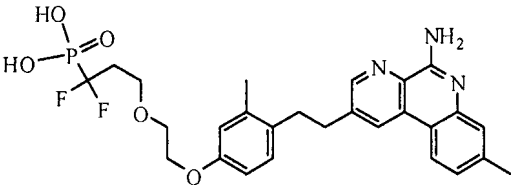
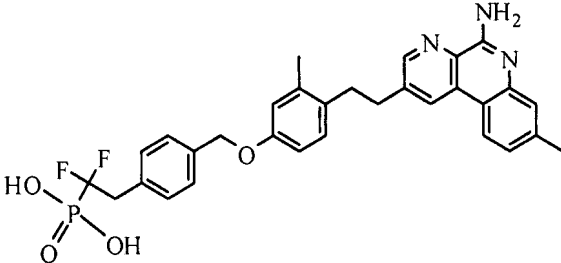
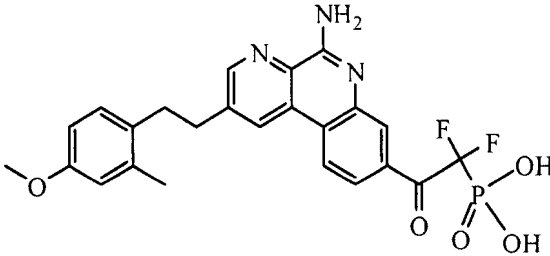
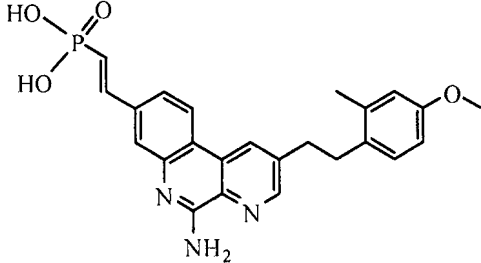
[563] El ácido 4-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)butilfosfónico(28) fue preparado de acuerdo al procedimiento descrito en el Ejemplo 1 – Etapa 3, pero usando como reactivo dietil 4-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)butilfosfonato de la previa etapa 2. La RMN de  $^1\text{H}$  (dimetil sulfoxido- $d_6$ ) obtenido para el ácido 4-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)butilfosfónico(28). NMR  $^1\text{H}$  fue:  $\delta$  8,93 (s, 1H), 8,79 (s, 1H), 8,48 (d, 1H,  $J = 8,3$  Hz), 7,51 (s, 1H), 7,37 (d, 1H,  $J = 8,5$  Hz), 7,04 (d, 1H,  $J = 8,4$  Hz), 6,71 (s, 1H), 6,63 (d, 1H,  $J = 8,3$  Hz), 3,89 (t, 2H,  $J = 6,09$  Hz), 3,12 (t, 2H,  $J = 6,8$  Hz), 2,96 (t, 2H,  $J = 6,9$  Hz), 2,47 (s, 3H), 2,34–2,31 (m, 2H), 2,24 (s, 3H), 1,80–1,67 (m, 4H), 1,67–1,61 (m, 2H), LRMS [M+H] = 480,2,

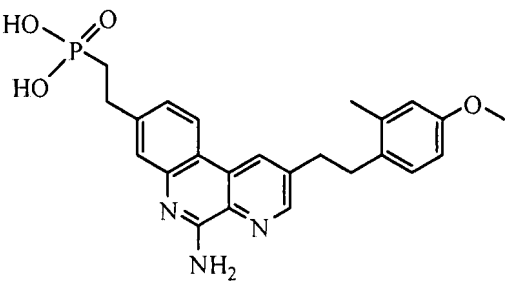
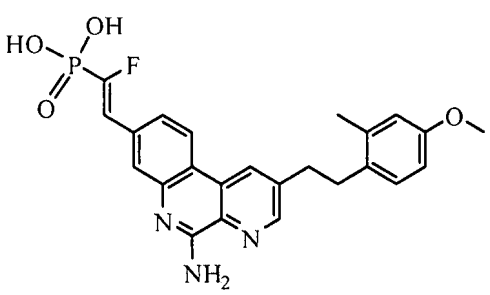
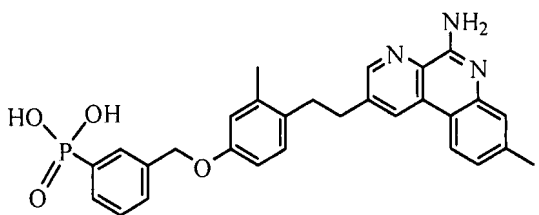
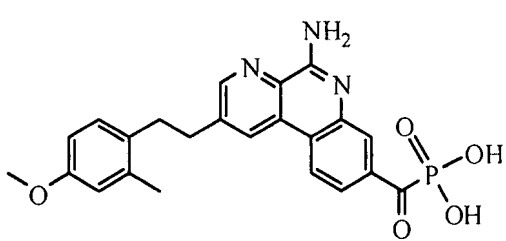
[564] Los compuestos de Fórmula (I), preparados de acuerdo a los procedimientos descritos anteriormente, se enumeran a continuación en La Tabla 1, junto con los datos de [M+H] y los datos de  $\text{EC}_{50}$  TLR7 Humano (nM).

000182

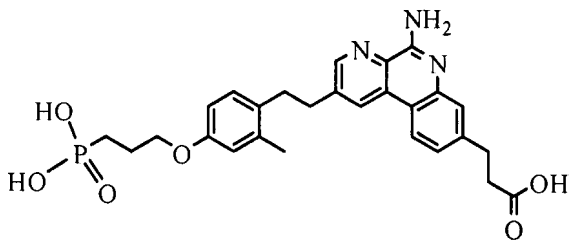
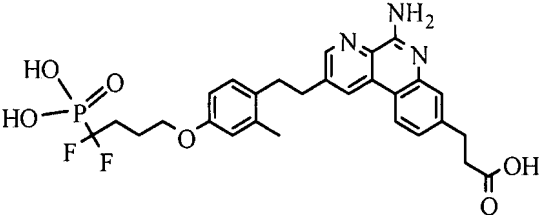
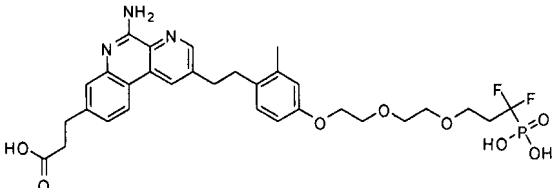
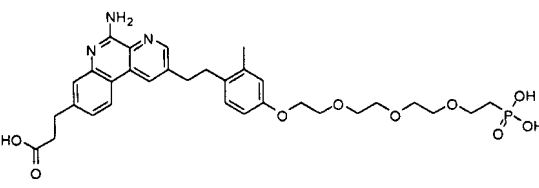
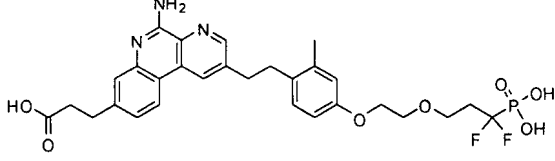
TABLA 1

| Número de Compuest o | Estructura | Datos físicos NMR y/o MS (m/z) [M+H] | EC50 TLR7 Humano (nM) HEK293 |
|----------------------|------------|--------------------------------------|------------------------------|
| 1                    |            | 466,2                                | 226                          |
| 2                    |            | 424,0                                | 315                          |
| 3                    |            | 438,0                                | 3170                         |
| 4                    |            | 530,2                                | 559                          |
| 5                    |            | 516,2                                | 308                          |

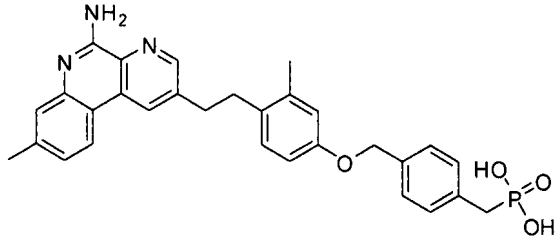
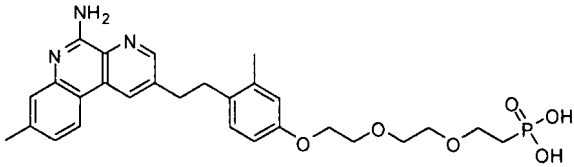
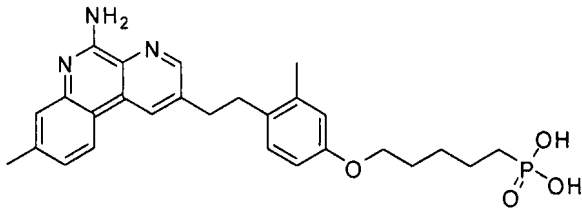
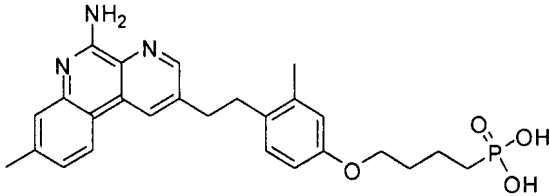
| Número de Compuest o | Estructura                                                                          | Datos físicos NMR y/o MS (m/z) [M+H] | EC50 TLR7 Humano (nM) HEK293 |
|----------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------|------------------------------|
| 6                    |    | 590,2                                | 1640                         |
| 7                    |   | 546,3                                | 1010                         |
| 8                    |  | 578,2                                | 375                          |
| 9                    |  | 502,6                                | 390                          |
| 10                   |  | 450,2                                | 153                          |

| Número de Compuest o | Estructura                                                                          | Datos físicos<br>NMR y/o<br>MS (m/z)<br>[M+H] | EC50<br>TLR7<br>Humano<br>(nM)<br>HEK293 |
|----------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------|------------------------------------------|
| 11                   |    | 452,2                                         | 90                                       |
| 12                   |   | 468,1                                         | 201                                      |
| 13                   |  | 514,2                                         | 1051                                     |
| 14                   |  | 452,2                                         | 885                                      |

000185

| Número de Compuest o | Estructura                                                                          | Datos físicos NMR y/o MS (m/z) [M+H] | EC50 TLR7 Humano (nM) HEK293 |
|----------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------|------------------------------|
| 15                   |    | 524,2                                | 65                           |
| 16                   |   | 574,2                                | 137                          |
| 17                   |  | 648,2                                | 5                            |
| 18                   |  | 641,6                                | 964                          |
| 19                   |  | 604,2                                | 360                          |

| Número de Compuest o | Estructura | Datos físicos NMR y/o MS (m/z) [M+H] | EC50 TLR7 Humano (nM) HEK293 |
|----------------------|------------|--------------------------------------|------------------------------|
| 20                   |            | 598,2                                | 384                          |
| 21                   |            | 554,2                                | 204                          |
| 22                   |            | 452,2                                | 1160                         |
| 23                   |            | 508,2                                | 791                          |
| 24                   |            | 544,2                                | 4260                         |

| Número de Compuest o | Estructura                                                                          | Datos físicos NMR y/o MS (m/z) [M+H] | EC50 TLR7 Humano (nM) HEK293 |
|----------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------|------------------------------|
| 25                   |    | 528,2                                | 975                          |
| 26                   |   | 540,2                                | 2592                         |
| 27                   |  | 494,2                                | 921                          |
| 28                   |  | 480,2                                | 524                          |

Ensayos

[565] Los compuestos de Fórmula (I) proporcionados en el presente documento pueden ser sometidos a ensayos para medir su capacidad para modular el receptor 7 tipo Toll.

Ensayos en células mononucleares de sangre periférica

000188

[566] La bioactividad de los compuestos de Fórmula (I) proporcionados en el presente documento se han evaluado en el ensayo en sangre periférica humana (PBMC, siglas en inglés de *human peripheral blood mononuclear cells*) usando un panel independiente de donantes humanos normales de acuerdo con las normas aprobadas por el comité de revisión institucional. Las PBMC humanas fueron aisladas de sangre periférica fresca usando un gradiente de densidad con Ficoll (GE healthcare 17-1440-03). Entre 30-35mLs de sangre humana periférica fueron colocadas por capas en 15mLs de Ficoll en tubos cónico de 50 ml, seguidamente la centrifugación a 1800 rpm (centrífuga Eppendorf 5810R con tapas para prevenir riesgo de contaminación biológica sobre la gradilla de tubos) y a temperatura ambiente durante 30 minutos sin aceleración y sin freno. Las capas leucocitarias, luego fueron recolectadas y transferidas a nuevos tubos cónicos de 50 ml y lavadas dos veces en un medio completo de RPMI 1640 (11875085 de Invitrogen Corporation, Carlsbad, California) suplementado con suero de bovino fetal inactivado al 10% (Gibco 10099-141), Pen-Strep al 1% (Gibco#15140-122), aminoácido no esenciales 1 mM (Gibco#11140-050), piruvato de sodio 1 mM (Gibco#11360-070), L-Glutamina 2 mM (Gibco#25030-081) y HEPES 1 mM (Gibco#15630-080). Entonces se realizó el recuento de las células viables mediante tinción con azul de tripano, plateadas en una placa de cultivo de 96 pocillos de fondo plano (Becton Dickinson #353070) a  $2 \times 10^5$  células por pocillo en 200  $\mu$ l de volumen total de medio completo. Luego, los compuestos fueron añadidos en un modelo dosis-respuesta de 10 puntos comenzando a una concentración de 100  $\mu$ M, 3 diluciones. Los pocillos con controles negativos recibieron igual concentración de DMSO. Los sobrenadantes de los cultivos fueron recolectados después de 18-24 horas de incubación a 37°C, CO<sub>2</sub> al 5%, y almacenados -20°C hasta nuevo uso.

[567] Se midieron los niveles de IL-6 en los sobrenadantes de los cultivos mediante un kit de Luminex (Biorad). El análisis de datos se realizó usando un software Prism de GraphPad (San Diego, CA). Las curvas dosis-respuesta fueron generadas para cada compuesto y los valores de EC<sub>50</sub> fueron determinados como la concentración en que se produce el 50% de la señal máxima.

#### Ensayos de gen reportero

[568] Células embrionarias de riñón humano 293 (HEK 293) fueron transfectadas de manera estable con TLR7 humano y un vector reportero luciferasa dirigido por NF- $\kappa$ B- (pNifty-Luciferasa). Como control de ensayo fueron usadas Hek293 normales transfectadas con pNifty-Luc. Las células fueron cultivadas en DMEM suplementado con L-glutamina 2 mM, FBS de corazón inactivados 10%, penicilina y estreptomycin al 1%, puromicina 2  $\mu$ g/ml

(InvivoGen #ant-pr-5) y of blasticidina 5µg/ml (Invitrogen #46-1120). El búfer para ensayo de Luciferasa Bright-Glo™ y el sustrato fueron suministrados por Promega #E263B y #E264B (sustrato de ensayo y búfer respectivamente). Placas de 384 pocillos de fondo transparente fueron suministradas por Greiner bio-one (#789163-G) y fueron personalizadas con código de barras.

[569] Las células fueron plateadas a 25.000 células por pocillo en placas de 384 pocillos en un volumen final de medio de 50  $\mu$ l. Se dejó a las células en cultivo, para su adhesión a las placas, durante toda la noche (18 horas) a 37°C y 5% CO<sub>2</sub>. Compuestos experimentales y controles positivos fueron diluidos serialmente y luego dispensados en cada pocillo e incubados durante 7 horas a 37°C y 5% CO<sub>2</sub>. Las células sólo estimuladas con DMSO sirvieron como controles negativos. Después de la incubación, se añadió en cada pocillo 30  $\mu$ l de búfer de ensayo premezclado con búfer de sustrato de acuerdo a las instrucciones del fabricante. La señal luminiscente fue leída en una máquina CLIPR con un tiempo de integración de 20 segundos por placa.

[570] Las curvas dosis-respuesta fueron generadas para cada compuesto y los valores de EC<sub>50</sub> fueron determinados como la concentración en que se produce el 50% de la señal máxima.

### Resultados de algunos ensayos

[571] Varios compuestos de Fórmula (I) sin asociar o en forma de sales farmacéuticamente aceptables, exhiben propiedades farmacológicas, por ejemplo, como las indicadas por las pruebas in vitro descritas en ésta solicitud. El valor EC<sub>50</sub> en aquellos experimentos se entrega como la concentración de los compuestos bajo evaluación, que provocan una respuesta a mitad de camino entre la línea base y las respuestas máximas. En ciertos ejemplos, los compuestos de Fórmula (I) tienen valores de EC<sub>50</sub> en el rango de 1 nM a 100 μM. En otros ejemplos, los compuestos de Fórmula (I) tienen valores de EC<sub>50</sub> en el rango de 1 nM a 50 μM. En otros ejemplos, los compuestos de Fórmula (I) tienen valores de EC<sub>50</sub> en el rango de 1 nM a 25 μM. En otros ejemplos, los compuestos de Fórmula (I) tienen valores de EC<sub>50</sub> en el rango de 1 nM a 20 μM. En otros ejemplos, los compuestos de Fórmula (I) tienen valores de EC<sub>50</sub> en el rango de 1 nM a 15 μM. En otros ejemplos, los compuestos de Fórmula (I) tienen valores de EC<sub>50</sub> en el rango de 1 nM a 10 μM. En otros ejemplos, los compuestos de Fórmula (I) tienen valores de EC<sub>50</sub> en el rango de 1 nM a 5 μM. En otros ejemplos, los compuestos de Fórmula (I) tienen valores de EC<sub>50</sub> en el rango de 1 nM a 2 μM. En otros ejemplos, los compuestos de Fórmula (I) tienen valores de EC<sub>50</sub> en el rango de 1 nM a 1 μM. En otros ejemplos, los compuestos de Fórmula (I) tienen valores de EC<sub>50</sub> en el rango de 1 nM a 0,5 μM.

nM a 500 nM. En otros ejemplos, los compuestos de Fórmula (I) tienen valores de EC<sub>50</sub> en el rango de 1 nM a 250 nM. En otros ejemplos, los compuestos de Fórmula (I) tienen valores de EC<sub>50</sub> en el rango de 1 nM a 100 nM. En otros ejemplos, los compuestos de Fórmula (I) tienen valores de EC<sub>50</sub> en el rango de 1 nM a 50 nM. En otros ejemplos, los compuestos de Fórmula (I) tienen valores de EC<sub>50</sub> en el rango de 1 nM a 25 nM. En otros ejemplos, los compuestos de Fórmula (I) tienen valores de EC<sub>50</sub> en el rango de 1 nM a 10 nM. Tales valores de EC<sub>50</sub> fueron obtenidos relativos a la actividad de resiquimodo establecida como el 100%.

[572] Sólo a manera de ejemplo, los valores EC<sub>50</sub> para el TLR7 estimulado por ciertos compuestos de Fórmula (I), son enumerados en la Tabla (I).

#### *Formulación con adyuvantes que contienen aluminio*

[573] La unión de los compuestos de Fórmula (I), proporcionados en el presente documento, a adyuvantes que contienen aluminio a pH 9 y pH 6,5 fue evaluada mediante HPLC para monitorear la presencia del compuesto de Fórmula (I) en el sobrenadante.

#### Evaluación de la unión a pH 9

[574] El compuesto 1 (0,5 mg/mL) fue disuelto en NaOH 10 mM y adicionado a un adyuvante de hidróxido de aluminio (2 mg/mL) resultando en una formulación de 100 µg/dosis. El sobrenadante fue evaluado con HPLC usando un gradiente rápido ("ballistic gradient") (desde 10% CH<sub>3</sub>CN 10%-TFA 0,1 a 100% CH<sub>3</sub>CN-0,1%TFA en 2.5 minutos) en una columna C18 (50 cm x 4,6 mm) ACE a 45°C. Para evaluar el efecto del tiempo de incubación y la temperatura del sobrenadante sobre la unión, el sobrenadante se evaluó a una temperatura de sobrenadante de temperatura ambiente y a 37°C después de 1 hora, 5 horas y 24 horas. También se evaluó un control sin hidróxido de aluminio. Los cromatogramas HPLC para formulaciones del compuesto 1 con y sin hidróxido de aluminio, a cualquier temperatura o tiempo de incubación, indican que el compuesto 1 no estaba presente en el sobrenadante cuando el hidróxido de aluminio fue incluido en la formulación. La figura 1 muestra la concentración del compuesto 1 en el sobrenadante, medida a través de HPLC, para el compuesto 1 con alumbre a temperatura ambiente y 37°C y para el compuesto 1 sólo (control).

[575] El compuesto 5 (1 mg/mL) fue disuelto en NaOH 10 mM y se agregó al adyuvante de hidróxido de aluminio (2 mg/mL) resultando en una formulación de 100 µg/dosis. El sobrenadante fue evaluado con HPLC mediante un gradiente rápido (del 10% CH<sub>3</sub>CN-10%-TFA 0,1 a 100% CH<sub>3</sub>CN-0,1%TFA en 2.5 minutos) en una columna C18 (50 cm x 4,6 mm) ACE a 45°C. Para evaluar el efecto del tiempo de incubación y la temperatura del sobrenadante sobre la unión, el sobrenadante se evaluó a una temperatura de sobrenadante de temperatura ambiente y a 37°C después de 1 hora, 5 horas y 24 horas. También se evaluó un control sin hidróxido de aluminio. Los cromatogramas HPLC para formulaciones del compuesto 5 con y sin hidróxido de aluminio, a cualquier temperatura o tiempo de incubación, indican que el compuesto 5 no estaba presente en el sobrenadante cuando el hidróxido de aluminio fue incluido en la formulación. La figura 2 muestra la concentración del compuesto 5 en el sobrenadante, medida a través de HPLC, para el compuesto 5 con alumbre a temperatura ambiente y 37°C y para el compuesto 5 sólo (control).

000151

0,1%TFA al 100% CH<sub>3</sub>CN 0,1% TFA en 2,5 minutos) en una columna C18 (50 cm x 4,6 mm) ACE a 45°C. Para evaluar el efecto del tiempo de incubación y la temperatura del sobrenadante sobre la unión, el sobrenadante se evaluó a una temperatura de sobrenadante de temperatura ambiente y a 37°C después de 1 hora, 5 horas y 24 horas. También se evaluó un control sin hidróxido de aluminio. Los cromatogramas HPLC para formulaciones del compuesto 5 con y sin hidróxido de aluminio, a cualquier temperatura o tiempo de incubación, indican que el compuesto 5 no estaba presente en el sobrenadante cuando el hidróxido de aluminio fue incluido en la formulación.

#### Evaluación de la unión a pH 6,5

[576] El compuesto 1 (0,5 mg/mL) fue disuelto en NaOH 10 mM y se agregó al adyuvante de hidróxido de aluminio (2 mg/mL) resultando en una formulación de 100 µg/dosis. El pH de la solución fue ajustado a pH 6,5 usando HCl. El sobrenadante fue evaluado con HPLC mediante un gradiente rápido (del 10% CH<sub>3</sub>CN-0,1%TFA al 100% CH<sub>3</sub>CN 0,1% TFA en 2,5 minutos) en una columna C18 (50 cm x 4,6 mm) ACE a 45°C. Para evaluar el efecto del tiempo de incubación y la temperatura del sobrenadante sobre la unión, el sobrenadante se evaluó a una temperatura de sobrenadante de temperatura ambiente y a 37°C después de 1 hora, 5 horas y 24 horas. También se evaluó un control sin hidróxido de aluminio. Los cromatogramas HPLC para formulaciones del compuesto 1 con y sin hidróxido de aluminio, a cualquier temperatura o tiempo de incubación, indican que el compuesto 1 no estaba presente en el sobrenadante cuando el hidróxido de aluminio fue incluido en la formulación.

#### Evaluación de la unión a pH 6,7

[577] El compuesto 5 (1 mg/mL) fue disuelto en un búfer de histidina 10 mM (1 mg/mL) y se agregó al adyuvante de hidróxido de aluminio (2 mg/mL) resultando en una formulación de 100 µg/dosis. El sobrenadante fue evaluado con HPLC mediante un gradiente rápido (del 10% CH<sub>3</sub>CN-0,1%TFA a 100% CH<sub>3</sub>CN 0,1% TFA en 2,5 minutos) en una columna C18 (50 cm x 4,6 mm) ACE a 45°C. Para evaluar el efecto del tiempo de incubación y la temperatura del sobrenadante sobre la unión, el sobrenadante se evaluó a una temperatura de sobrenadante de temperatura ambiente y a 37°C después de 1 hora, 5 horas y 24 horas. También se evaluó un control sin hidróxido de aluminio. Los cromatogramas HPLC para formulaciones del compuesto 5 con y sin hidróxido de aluminio, a cualquier temperatura o tiempo de incubación, indican que el compuesto 5 no estaba presente en el sobrenadante cuando el hidróxido de aluminio fue incluido en la formulación.

#### Evaluación de la unión a pH 9 (con búfer de Histidina ajustado a pH 9)

000192

[578] Se utilizó un método de extracción con solvente orgánico para evaluar si el compuesto 1 estaba covalentemente unido a hidróxido de aluminio. La formulación fue preparada como sigue: 2 mg/ml de hidróxido de aluminio, 100µg/dosis del compuesto 1, búfer histidina 10 mM) y el pH se ajustó a 9. También se preparó una formulación de control sin hidróxido de aluminio.

[579] Un ml de la formulación que contenía alumbre fue mezclada con 1 ml de KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1 M, pH 9 (0,5M conc. final, pH 9) y quedó en agitación suave durante la noche a 37 ° C para permitir la desorción del compuestos 1 (compuesto 5) desde el hidróxido de aluminio a través del intercambio de ligandos con los aniones fosfato. La extracción orgánica se realizó a continuación: 1 ml de cada muestra fue mezclado con 1 ml de n-butanol y agitado en un vortex. Después de la formación de dos fases, la fase superior (butanol) fue recuperada, secada con N<sub>2</sub> y resuspendida en MeOH/ NaOH10 mM. El análisis de HPLC fue hecho tanto para los sobrenadantes de la formulación como para las muestras extraídas con butanol (columna C18; 0-100% B en 2 min; A = 0,1% TFA en H<sub>2</sub>O; B=0,1%TFA en ACN). Se observaron mayores cantidades de compuesto 1 en el sobrenadante de la formulación tratado con KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, indicando la desorción del compuesto 1 por los aniones fosfato. La misma tendencia se observó con las muestras extraídas. Los datos obtenidos se entregana continuación en la Tabla 2:

|                                  | Tiempo de Retención (min) | Área   | Concentración (mg/ml) |
|----------------------------------|---------------------------|--------|-----------------------|
| Sobrenadante Compuesto 1         | 1,9                       | 2687   | 0,005 +/- 0,001       |
| Sobrenadante fosfato Compuesto 1 | 1,9                       | 32303  | 0,059 +/- 0,001       |
| Sobrenadante control Compuesto 1 | 1,9                       | 180678 | 0,329 +/- 0,001       |
|                                  |                           |        |                       |
| Extracto Compuesto 1             | 1,9                       | 15008  | 0,027 +/- 0,001       |
| Extracto/fosfato Compuesto 1     | 1,9                       | 65427  | 0,119 +/- 0,001       |
| Extracto/control Compuesto 1     | 1,9                       | 119470 | 0,217 +/- 0,001       |

[580] La adsorción de los compuestos 6, 16, 17, 19 y 20 en hidróxido de aluminio fue evaluada como sigue: a tres volúmenes equivalentes de hidróxido aluminio acuoso (2 mg/mL) se agregó un volumen equivalente de compuesto en el búfer de histidina de 10 mM (4 mg/mL) a pH 6,8. La solución resultante fue diluida 10 veces con búfer de histidina en blanco hasta una concentración final de compuesto de 0,1 mg/mL. Soluciones diluidas fueron incubadas a 37 ° C durante 5 horas. Las muestras fueron centrifugadas a 14.000 rpm durante 10 minutos para sedimentarlos materiales insolubles. A continuación, el sobrenadante (junto con un

estándar interno), fue evaluado por LC-MS/MS mediante un gradiente rápido (de 5% CH<sub>3</sub>CN-0,5% ácido fórmico a 95% CH<sub>3</sub>CN-1,0% ácido fórmico en 3,5 minutos) en una columna de Waters Atlantis (50 mm x 2,1 mm) a temperatura ambiente contra una curva de calibración preparada con concentraciones de compuesto conocidas, desde 0,005 hasta 50 µM. Se calculó la concentración en el sobrenadante como % no unido a alumbre comparado con el control; el % unido a alumbre fue calculado como 100% menos % no unido. La tabla 3 muestra el % de unión de los respectivos compuestos evaluados.

| Compuesto de<br>Tabla 1 | % de unión a alumbre (alum) |
|-------------------------|-----------------------------|
| 6                       | 98,2                        |
| 16                      | 94,5                        |
| 17                      | 96,2                        |
| 19                      | 96,0                        |
| 20                      | 97,0                        |

[581] El compuesto 1 es intrínsecamente fluorescente. Una microscopía confocal de los adyuvantes de hidróxido de aluminio (3 mg/ml) antes y después de haberlos mezclado con el compuesto 1 (0,25 mg/ml), visualmente muestra que los compuestos de fósforo se asocian con partículas de sales metálicas insolubles.

[582] Un protocolo de desorción se utiliza para confirmar adicionalmente la unión de los compuestos al adyuvante de hidróxido de aluminio. La formulación del compuesto/adyuvante (fluorescente) es tratada con búfer de fosfato de 0,5 M y luego lavada con agua (para compuestos solubles en agua) o butanol (para compuestos poco solubles en agua). El adyuvante lavado, a continuación, se analiza y tal como el adyuvante de hidróxido de aluminio antes de haber sido mezclado con el compuesto, no muestra fluorescencia.

[583] Estudios de estabilidad muestran que los compuestos adsorbidos son estables durante varias semanas, tanto en términos de estabilidad del compuesto como en términos de adsorción. Todos los compuestos 1, 6, 16, 17, 19 y 20 muestran al menos 95% adsorción durante al menos un período de 3 semanas. El estudio continuo de los compuestos 19 y 20 muestran que son estables durante 6 semanas o más.

*Exposición sistémica después de administración in vivo*

[584] Los compuestos 6, 16, 19 y 20 son administrados a ratones Balb/C por inyección

000194

intramuscular en una concentración de 100µg (4 mg/kg), ya sea sólo con búfer o después de ser adsorbidos en un adyuvante de hidróxido de aluminio. Exposición sistémica en suero de los compuestos, es seguida por 24 horas. Como se muestra en la figura 3, para el compuesto 16, mientras que compuestos no adsorbidos tienen una alta concentración inicial en suero, la que disminuye rápidamente, los compuestos adsorbidos muestran una respuesta mucho más plana que se mantiene durante un período más largo.

[585] De manera similar, los niveles en músculo de los compuestos 1, 6, 16, 17, 19 & 20 son medidos 24 horas después de su administración mediante inyección intramuscular (100µg) a combinaciones de ratones (3 por grupo) Balb/C, los compuestos fueron administrados con antígenos de proteína, con o sin el adyuvante de hidróxido de aluminio. Excepto para el compuesto 1, los compuestos fueron indetectables cuando fueron inyectados sin el adyuvante, pero se detectaron fácilmente si se inyectaron con el adyuvante. El compuesto 1 es poco soluble en búfer de histidina, lo que explica su comportamiento diferente. Por lo tanto, la adsorción en el adyuvante mantiene alta la concentración de fosfonatos solubles en los sitios de inyección local.

[586] La citoquinas en suero son medidas 24 horas después de la inmunización con el compuesto 6, con o sin adyuvante de hidróxido de aluminio, o sólo con búfer. Los niveles de IL 6 y mKC, son ambos aproximadamente 4 veces superiores después de la administración del compuesto 6 sin adyuvante, y los niveles de MCP 1 son aproximadamente 20 veces superiores (comparados con el vehículo sólo). En contraste, cuando se administran en combinación con adyuvante, los niveles son < 2 veces superiores (véase los resultados de la figura 4; véase también los resultados de la figura 5 con el compuesto 20). Asimismo, la adsorción en adyuvante de hidróxido de aluminio, reduce tanto el porcentaje de células TCD4 + que son también CD69 + y la proporción de células B CD19 que son también CD86 +, y este efecto se observó tanto en el bazo como en los ganglios linfáticos de drenaje. Por ejemplo, la adsorción reduce la proporción de células B CD86 + B de ~ 75% a ~ 15%.

#### ***Efecto en la unión de los antígenos de MenB a hidróxido de aluminio***

[587] Se utilizó SDS-PAGE para evaluar el efecto de la unión del compuesto 1 al adyuvante de hidróxido de aluminio en la capacidad de los antígenos de MenB para unirse con el adyuvante de hidróxido de aluminio. El compuesto 1 fue disuelto en NaOH 10 mM a una concentración final de 0,5 mg/ml. El alumbre y el compuesto 1 se combinaron en una relación de 1:6 (compuestos 1: alumbre) en peso, en presencia de histidina a una concentración final de 10 mM. El pH se ajustó a 9,2 y la mezcla se agitó suavemente durante 3 horas a temperatura

ambiente, permitiendo que la reacción que se produzca. La mezcla se centrifugó a 5000 x g durante 10 minutos y el sobrenadante fue descartado. El pellet (i.e., el compuesto 1- alumbre modificado) fue resuspendido en el búfer de alumbre inicial para obtener la concentración inicial de alumbre. Se ajustó el pH a 6,5. El alumbre modificado fue utilizado para la formulación con los antígenos de MenB.

[588] El análisis de SDS-PAGE del sobrenadante de los antígenos de MenB formulado con solamente el adyuvante de hidróxido de aluminio (alumbre) o con adyuvantes de hidróxido de aluminio junto con el compuesto 1 se muestra en la Figura 2. Los antígenos de MenB evaluados fueron 287-953, 936-741 y 961 c, los antígenos están descritos en el documento WO2004/032958 y en Giuliani *et al.* (2006) *PNAS USA* 103:10834-9. Los carriles con la etiqueta "Sn" y TCA" representan el análisis de las sobrenadantes de las formulaciones, después de la centrifugación hecha para sedimentar el adyuvante de hidróxido de aluminio. Los carriles con la etiqueta "Des" representan los análisis de los antígenos recuperados después de la desorción desde el hidróxido de aluminio con búfer de fosfato de 0,5 M. La Figura 2 muestra que los antígenos de MenB se unen con hidróxido de aluminio igual de efectivamente con o sin compuesto 1.

[589] La adsorción de los compuestos 16 y 17 a hidróxido de aluminio también fue evaluada usando la formulación de alumbre descrita para el compuesto 1. El análisis con HPLC mostró que, para ambos compuestos, ningún compuesto se observó en el sobrenadante después de la adición de hidróxido de aluminio. Sin embargo, los compuestos de 16 y 17 fueron recuperados después de desorción con  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0,5 M. Hay que señalar que, no fue necesaria la extracción con solvente orgánico debido a la solubilidad en agua de los dos compuestos. Además, el análisis de SDS-PAGE de la unión de antígeno en presencia del compuesto 16 o el compuesto 17, se llevó a cabo según lo descrito anteriormente. Para ambos compuestos todos los antígenos MenB 3 fueron adsorbidos completamente en el compuesto 16-alumbre modificada y en el compuesto 17-alumbre modificada.

[590] Los antígenos de MenB fueron evaluados para la potenciación inmunogénica *in vivo* mediante un ensayo de anticuerpos bactericidas (SBA) de suero. La figura 6 muestra títulos bactericidas contra la cepa NZ98 de sueros obtenidos después de inmunización con 5CVMB combinada con (a) sólo adyuvante de hidróxido de aluminio, (b) adyuvante de hidróxido de aluminio + 25µg del compuesto 6, (c) adyuvante de hidróxido de aluminio + 100µg compuestos 6, (d) compuesto solo, o (e) adyuvante de hidróxido de aluminio y vesículas de membrana externa de MenB. La pre-adsorción del compuesto 6 en adyuvante de hidróxido de aluminio genera un gran aumento en el título de la SBA, y mucho mayor que lo que cabría

esperar basados en resultados observados con el compuesto 6 sólo.

[591] Se observan efectos similares con otros agonistas de TLR7 de la invención. Por ejemplo, la Figura 7 muestra los resultados del compuesto 20, utilizando 5CVMB formulado con (a) sin adyuvante, (b) adyuvante de hidróxido de aluminio + OMV, (c) 100µg compuesto 20, (d) 25µg de compuesto 20 + adyuvante de hidróxido de aluminio,ó (e) 100µg de compuesto 20 + adyuvante de hidróxido de aluminio. La Figura 8 muestra los resultados del compuesto 19, con 5CVMB formulado con (a) sin adyuvante, (b) adyuvante de hidróxido de aluminio y vesículas, (c) 100µg del compuesto 19, (d) 25µg del compuesto 19, (e) 100µg del compuesto 19 + adyuvante de hidróxido de aluminio, o (f) 25µg del compuesto 19 + adyuvante de hidróxido de aluminio.

[592] El compuesto 20 es pre-adsorbidoen hidróxido de aluminio para investigar la cobertura de la cepa en sueros obtenidos después de la inmunización con un 5CVMB modificado, en el que la proteína de fusión GNA2091/1870 es reemplazada por la proteína de fusión ' 936-10A-10A' divulgada en la solicitud internacional de patente presentada el 27 de agosto del año 2010 que reivindica prioridad sobre USSN 61/237.576 (SEQ ID NO: 126 incluidaen ella). La siguiente tabla muestra títulos contra cinco cepas diferentes después de la formulación de los tres polipéptidos con (a) aluminio hidróxido adyuvante sólo, (b) aluminio hidróxido adyuvante + 25µg de vesículas de membrana externa, (c) adyuvante de hidróxido de aluminio con 100µg del compuesto 20, (d) adyuvante de hidróxido de aluminio con 25µg del compuesto 20, (e) adyuvante de hidróxido de aluminio con 5µg del compuesto 20, ó (f) adyuvante de hidróxido de aluminio + IC31 <sup>TM</sup>:

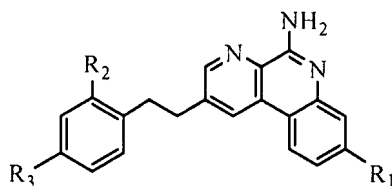
|     | MC58   | NZ98  | 961-5945 | UK355 | 599    |
|-----|--------|-------|----------|-------|--------|
| (a) | 16384  | 1024  | 16384    | 256   | 65536  |
| (b) | 32768  | 4096  | 8192     | 2048  | >65536 |
| (c) | >65536 | 16384 | 32768    | 4096  | >65536 |
| (d) | 32768  | 2048  | 16384    | 1024  | >65536 |
| (e) | >65536 | 4096  | 8192     | 2048  | >65536 |
| (f) | >65536 | 8192  | 16384    | 2048  | >65536 |

[593] En consecuencia, el compuesto 20 mejora la cobertura de la cepa en comparación con el hidróxido de aluminio sólo.

[594] Se entiende que los ejemplos y reivindicaciones descritos en el presente documento son sólo con fines ilustrativos y que diversas modificaciones o cambios a la luz de los mismos, serán sugeridos a las personas expertas en la materia y éstos deben ser incluidos dentro del espíritu y el alcance de esta solicitud y la extensión de las reivindicaciones anexadas. Todas las publicaciones, las patentes y solicitudes de patentes citadas en el presente documento se incorporan por referencia para todos los efectos.

## SE REIVINDICA

1. Una composición inmunogénica que comprende (i) un compuesto de Fórmula (I), ó una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, (ii) un antígeno, y (iii) un adyuvante que contiene aluminio; en donde el compuesto de Fórmula (I) es un agonista de TLR7:



Fórmula (I)

En donde:

$R^1$  es H,  $C_1$ - $C_6$  alquilo,  $-C(R^5)_2OH$ ,  $-L^1R^5$ ,  $-L^1R^6$ ,  $-L^2R^5$ ,  $-L^2R^6$ ,  $-OL^2R^5$ , ó  $-OL^2R^6$ ;

$L^1$  es  $-C(O)-$  ó  $-O-$ ;

$L^2$  es  $C_1$ - $C_6$ alquilenos,  $C_2$ - $C_6$ alquenilenos, arileno, heteroarileno ó  $-((CR^4R^4)_pO)_q(CH_2)_p-$ , en donde el  $C_1$ - $C_6$ alquilenos y  $C_2$ - $C_6$ alquenilenos de  $L^2$  están opcionalmente sustituidos con 1 a 4 grupos flúor;

cada  $L^3$  es independientemente seleccionado de entre  $C_1$ - $C_6$ alquilenos y  $-((CR^4R^4)_pO)_q(CH_2)_p-$ , en donde el  $C_1$ - $C_6$ alquilenos de  $L^3$  está opcionalmente sustituidos con 1 a 4 grupos flúor;

$L^4$  es arileno ó heteroarileno;

$R^2$  es H ó  $C_1$ - $C_6$ alquilo;

$R^3$  es seleccionado de entre  $C_1$ - $C_4$ alquilo,  $-L^3R^5$ ,  $-L^1R^5$ ,  $-L^3R^7$ ,  $-L^3L^4L^3R^7$ ,  $-L^3L^4R^5$ ,  $-L^3L^4L^3R^5$ ,  $-OL^3R^5$ ,  $-OL^3R^7$ ,  $-OL^3L^4R^7$ ,  $-OL^3L^4L^3R^7$ ,  $-O^8$ ,  $-OL^3L^4R^5$ ,  $-OL^3L^4L^3R^5$  y  $-C(R^5)_2OH$ ;

cada  $R^4$  es independientemente seleccionado de entre H y flúor;

$R^5$  es  $-P(O)(O^9)_2$ ,

000198

$R^6$  es  $-\text{CF}_2\text{P}(\text{O})(\text{O}^9)_2$  ó  $-\text{C}(\text{O})\text{O}^{10}$ ;

$R^7$  es  $-\text{CF}_2\text{P}(\text{O})(\text{O}^9)_2$  ó  $-\text{C}(\text{O})\text{O}^{10}$ ;

$R^8$  es H ó  $\text{C}_1\text{-C}_4$ alquilo;

cada  $R^9$  es independientemente seleccionado de entre H y  $\text{C}_1\text{-C}_6$ alquilo;

$R^{10}$  es H ó  $\text{C}_1\text{-C}_4$ alquilo;

cada p es independientemente seleccionado de entre 1, 2, 3, 4, 5 y 6, y

q es 1, 2, 3 ó 4;

con la salvedad de que cuando  $R^3$  es  $\text{C}_1\text{-C}_4$  alquilo ó  $-\text{O}^8$ ,  $R^1$  es  $-\text{C}(\text{R}^5)_2\text{OH}$ ,  $-\text{L}^1\text{R}^5$ ,  $-\text{L}^1\text{R}^6$ ,  $-\text{L}^2\text{R}^5$ ,  $-\text{L}^2\text{R}^6$ ,  $-\text{OL}^2\text{R}^5$ , ó  $-\text{OL}^2\text{R}^6$ , en donde  $R^6$  es  $-\text{CF}_2\text{P}(\text{O})(\text{O}^9)_2$  y  $R^7$  es  $-\text{CF}_2\text{P}(\text{O})(\text{O}^9)_2$ .

2. La composición inmunogénica de la reivindicación 1, en donde:

$R^1$  es  $\text{C}_1\text{-C}_6$  alquilo;

$R^2$  es  $\text{C}_1\text{-C}_6$  alquilo;

$R^3$  es  $-\text{OL}^3\text{R}^5$  ó  $-\text{OL}^3\text{R}^7$ ;

$R^5$  es  $-\text{P}(\text{O})(\text{OH})_2$ ;

$R^7$  es  $-\text{CF}_2\text{P}(\text{O})(\text{OH})_2$ , y

$\text{L}^3$  es  $\text{C}_1\text{-C}_6$  alquilenos.

3. La composición inmunogénica de la reivindicación 1, en donde:

$R^1$  es  $\text{C}_1\text{-C}_6$  alquilo;

$R^2$  es  $\text{C}_1\text{-C}_6$  alquilo;

$R^3$  es  $-\text{OL}^3\text{R}^5$  ó  $-\text{OL}^3\text{R}^7$ ;

$R^5$  es  $-\text{P}(\text{O})(\text{OH})_2$ ;

$R^7$  es  $-\text{CF}_2\text{P}(\text{O})(\text{OH})_2$ ;

$\text{L}^3$  es  $-(\text{CR}^4\text{R}^4)_p\text{O})_q(\text{CH}_2)_p-$ ;

$R^4$  es H;

q es 1 ó 2, y

p es 2.

4. La composición inmunogénica de la reivindicación 1, en donde:

$R^1$  es  $-L^2R^6$ ;

$R^2$  es  $C_1-C_6$  alquilo;

$R^3$  es  $-OL^3R^5$  ó  $-OL^3R^7$ ;

$R^5$  es  $-P(O)(OH)_2$ ;

$R^6$  es  $-C(O)OH$ ;

$R^7$  es  $-CF_2P(O)(OH)_2$ ;

$L^2$  es  $C_1-C_6$  alquilenos, y

$L^3$  es  $C_1-C_6$  alquilenos.

5. La composición inmunogénica de la reivindicación 1, en donde:

$R^1$  es  $-L^2R^6$ ;

$R^2$  es  $C_1-C_6$  alquilo;

$R^3$  es  $-OL^3R^5$  ó  $-OL^3R^7$ ;

$R^5$  es  $-P(O)(OH)_2$ ;

$R^6$  es  $-C(O)OH$ ;

$R^7$  es  $-CF_2P(O)(OH)_2$ ;

$L^2$  es  $C_1-C_6$  alquilenos;

$L^3$  es  $-((CR^4R^4)_pO)_q(CH_2)_p$ ;

$R^4$  es H;

q es 1 ó 2, y

p es 2.

6. La composición inmunogénica de la reivindicación 1, en donde:

$R^1$  es  $-C(R^5)_2OH$ ,  $-L^1R^5$ ,  $-L^2R^5$  ó  $-L^1R^6$ ;

$R^2$  es  $C_1-C_6$  alquilo;

$R^3$  es  $-O^8$ ;

$R^8$  es  $C_1-C_6$  alquilo;

$R^5$  es  $-P(O)(OH)_2$ ;

$R^6$  es  $-CF_2P(O)(OH)_2$ ;

$L^1$  es  $-C(O)-$ , y

$L^2$  es  $C_1-C_6$  alquilenos ó  $C_2-C_6$  alquenilenos, cada uno están opcionalmente sustituidos con 1 a 4 grupos flúor.

000200

7. La composición inmunogénica de la reivindicación 1, en donde:

$R^1$  es  $C_1$ - $C_6$  alquilo;

$R^2$  es  $C_1$ - $C_6$  alquilo;

$R^3$  es  $-\text{OL}^3\text{L}^4\text{R}^5$   $-\text{OL}^3\text{L}^4\text{L}^3\text{R}^5$ , ó  $-\text{OL}^3\text{L}^4\text{L}^3\text{R}^7$ ;

$R^5$  es  $-\text{P}(\text{O})(\text{OH})_2$ ;

$R^7$  es  $-\text{CF}_2\text{P}(\text{O})(\text{OH})_2$ ;

cada  $\text{L}^3$  es independientemente un  $C_1$ - $C_6$ alquilenos, y

$\text{L}^4$  es fenileno.

8. La composición inmunogénica de la reivindicación 1, en donde:

$R^1$  es  $C_1$ - $C_6$  alquilo;

$R^2$  es  $C_1$ - $C_6$  alquilo;

$R^3$  es  $-\text{C}(\text{R}^5)_2\text{OH}$  ó  $-\text{L}^1\text{R}^5$ ;

$R^5$  es  $-\text{P}(\text{O})(\text{OH})_2$ , y

$\text{L}^1$  es  $-\text{C}(\text{O})-$  ó  $-\text{O}-$ .

9. La composición inmunogénica de la reivindicación 1, en donde  $R^8$  es metilo.

10. La composición inmunogénica de cualquiera de las reivindicaciones 1-3 ó 7-9, en donde  $R^1$  es metilo.

11. La composición inmunogénica de cualquiera de las reivindicaciones 1-10,  $R^2$  es metilo.

12. La composición inmunogénica de la reivindicación 1, en donde el compuesto es seleccionado entre:

ácido 4-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)-1,1-difluorobutilfosfónico;

ácido 3-(5-amino-2-(4-(4,4-difluoro-4-fosfonobutoxi)-2-metilfenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-8-il)propanoico ;

ácido 3-(5-amino-2-(4-(2-(3,3-difluoro-3-fosfonopropoxi)etoxi)-2-metilfenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-8-il)propanoico ;

000201

ácido 3-(5-amino-2-(2-metil-4-(2-(2-(2-fosfonoetoxi)etoxi)etoxi)fenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-8-il)propanoico ;

4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenil dihidrogeno fosfato;

ácido (4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)metilfosfónico ;

ácido 5-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)-1,1-difluoropentilfosfónico ;

ácido 4-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)-1,1-difluorobutilfosfónico ;

ácido 3-(2-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)etoxi)-1,1-difluoropropilfosfónico ;

ácido 2-(4-((4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)metil)fenil)-1,1-difluoroetilfosfónico ;

ácido 2-(5-amino-2-(4-metoxi-2-metilfenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-8-il)-1,1-difluoro-2-oxoetilfosfónico ;

ácido (E)-2-(5-amino-2-(4-metoxi-2-metilfenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-8-il)vinilfosfónico ;

ácido 2-(5-amino-2-(4-metoxi-2-metilfenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-8-il)etilfosfónico ;

ácido (E)-2-(5-amino-2-(4-metoxi-2-metilfenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-8-il)-1-fluorovinilfosfónico ;

ácido 3-((4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)metil)fenilfosfónico ;

ácido 5-amino-2-(4-metoxi-2-metilfenetil)benzo[f][1,7]naftiridine-8-carbonilfosfónico ;

ácido 3-(5-amino-2-(2-metil-4-(3-fosfonopropoxi)fenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-8-il)propanoico ;

ácido (4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenil)(hidroxi)metilenedifosfónico ;

000202

ácido 3-(5-amino-2-(4-(2-(2-(3,3-difluoro-3-fosfonopropoxi)etoxi)etoxi)-2-metilfenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-8-il)propanoico ;

ácido (5-amino-2-(4-metoxi-2-metilfenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-8-il)(hidroxi)metilenedifosfónico ;

ácido 3-(5-amino-2-(2-metil-4-(2-(2-fosfonoetoxi)etoxi)fenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-8-il)propanoico ;

ácido 2-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)etilfosfónico ;

ácido 6-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)hexilfosfónico ;

ácido 6-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)-1,1-difluorohexilfosfónico ;

ácido 4-((4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)metil)benzilfosfónico ,

ácido 2-(2-(2-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)etoxi)etoxi)etilfosfónico .

ácido 3-[5-amino-2-(2-{4-[2-(3,3-difluoro-3-fosfonopropoxi)etoxi]-2-metilfenil}etil)benzo[f]1,7-naftiridin-8-il]propanoico ;

ácido {5-[4-(2-{5-amino-8-metilbenzo[f]1,7-naftiridin-2-il}etil)-3-metilfenoxi]pentil}fosfónico , y

ácido {4-[4-(2-{5-amino-8-metilbenzo[f]1,7-naftiridin-2-il}etil)-3-metilfenoxi]butil}fosfónico.

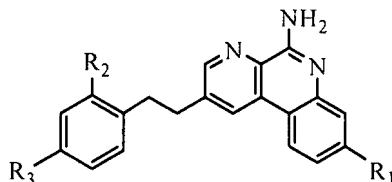
13. La composición inmunogénica de cualquiera de las reivindicaciones 1-12, en donde el compuesto está presente en una cantidad suficiente para producir un efecto inmunoestimulante cuando es administrado.
14. La composición inmunogénica de cualquiera de las reivindicaciones 1-12, en donde el compuesto está presente en una cantidad efectiva para mejorar una respuesta inmune al antígeno, en un sujeto al cual se le administra la composición.

000203

15. La composición inmunogénica de cualquiera de las reivindicaciones 1-14, en donde el antígeno es un antígeno bacteriano.
16. La composición inmunogénica de la reivindicación 15, en donde el antígeno bacteriano es un antígeno de *Neisseria meningitidis*.
17. La composición inmunogénica de la reivindicación 16, en donde el antígeno es un sacárido.
18. La composición inmunogénica de la reivindicación 17, en donde el sacárido es del serogrupo A, W135, Y ó C de *Neisseria meningitides*.
19. La composición inmunogénica de la reivindicación 16, en donde el antígeno es un polipéptido.
20. La composición inmunogénica de la reivindicación 19, en donde tiene al menos una identidad de secuencia del 85% con respecto a una secuencia seleccionada de un grupo consistente de SEQ ID NOs: 1-6.
21. La composición inmunogénica de cualquiera de las reivindicaciones 1-14, en donde el antígeno es un antígeno viral.
22. La composición inmunogénica de la reivindicación 21, en donde el antígeno viral es un antígeno de un virus sincicial respiratorio (RS).
23. La composición inmunogénica de la reivindicación 22, en donde el antígeno es seleccionado de entre un grupo que consiste en F, G, M y proteínas de fusión de las mismas.
24. La composición inmunogénica de cualquiera de las reivindicaciones 1-23, que además comprende un adyuvante adicional.
25. La composición inmunogénica de cualquiera de las reivindicaciones 1-24, en donde el compuesto está presente en cantidad terapéuticamente efectiva y está unido a un adyuvante que contiene aluminio.
26. La composición inmunogénica de cualquiera de las reivindicaciones 1-24, en donde el adyuvante que contiene aluminio es seleccionado de entre hidróxido de aluminio, oxihidróxido de aluminio y hidroxifosfato de aluminio.

000204

27. La composición inmunogénica de cualquiera de las reivindicaciones 1-24, en donde el adyuvante que contiene aluminio es oxihidróxido de aluminio ó hidróxido de aluminio.
28. La composición inmunogénica de cualquiera de las reivindicaciones 1-27, en donde la composición inmunogénica es sólida.
29. La composición inmunogénica de la reivindicación 28, en donde la composición inmunogénica es un sólido liofilizado.
30. Un método para mejorar la efectividad de una composición inmunogénica, el método comprende adicionar una cantidad efectiva de un compuesto de Fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde la composición inmunogénica comprende un adyuvante que contiene aluminio y un antígeno, y en donde el compuesto de Fórmula (I) es una agonista de TLR7:



Fórmula (I)

en donde:

$R^1$  es H,  $C_1$ - $C_6$  alquilo,  $-C(R^5)_2OH$ ,  $-L^1R^5$ ,  $-L^1R^6$ ,  $-L^2R^5$ ,  $-L^2R^6$ ,  $-OL^2R^5$ , ó  $-OL^2R^6$ ;

$L^1$  es  $-C(O)-$  ó  $-O-$ ;

$L^2$  es  $C_1$ - $C_6$  alquilenos,  $C_2$ - $C_6$  alquenilenos, arilenos, heteroarilenos ó  $-((CR^4R^4)_pO)_q(CH_2)_p-$ , en donde el  $C_1$ - $C_6$  alquilenos y  $C_2$ - $C_6$  alquenilenos de  $L^2$  están opcionalmente sustituidos con 1 a 4 grupos flúor;

cada  $L^3$  es independientemente seleccionado de entre  $C_1$ - $C_6$  alquilenos y  $-((CR^4R^4)_pO)_q(CH_2)_p-$ , en donde el  $C_1$ - $C_6$  alquilenos de  $L^3$  está opcionalmente sustituidos con 1 a 4 grupos flúor;

$L^4$  es arileno ó heteroarileno;

$R^2$  es H ó  $C_1$ - $C_6$  alquilo;

000205

$R^3$  es seleccionado de entre  $C_1$ - $C_4$  alquilo,  $-L^3R^5$ ,  $-L^1R^5$ ,  $-L^3R^7$ ,  $-L^3L^4L^3R^7$ ,  $-L^3L^4R^5$ ,  $-L^3L^4L^3R^5$ ,  $-OL^3R^5$ ,  $-OL^3R^7$ ,  $-OL^3L^4R^7$ ,  $-OL^3L^4L^3R^7$ ,  $-O^8$ ,  $-OL^3L^4R^5$ ,  $-OL^3L^4L^3R^5$  y  $-C(R^5)_2OH$ ;

cada  $R^4$  es independientemente seleccionado de entre H y flúor;

$R^5$  es  $-P(O)(O^9)_2$ ,

$R^6$  es  $-CF_2P(O)(O^9)_2$  ó  $-C(O)O^{10}$ ;

$R^7$  es  $-CF_2P(O)(O^9)_2$  ó  $-C(O)O^{10}$ ;

$R^8$  es H ó  $C_1$ - $C_4$ alquilo;

cada  $R^9$  es independientemente seleccionado de entre H y  $C_1$ - $C_6$  alquilo;

$R^{10}$  es H ó  $C_1$ - $C_4$  alquilo;

cada p es independientemente seleccionado de entre 1, 2, 3, 4, 5 y 6, y

q es 1, 2, 3 ó 4;

con la salvedad de que cuando  $R^3$  es  $C_1$ - $C_4$  alquilo ó  $-O^8$ ,  $R^1$  es  $-C(R^5)_2OH$ ,  $-L^1R^5$ ,  $-L^1R^6$ ,  $-L^2R^5$ ,  $-L^2R^6$ ,  $-OL^2R^5$ , ó  $-OL^2R^6$ , en donde  $R^6$  es  $-CF_2P(O)(O^9)_2$  y  $R^7$  es  $-CF_2P(O)(O^9)_2$ .

**31.** El uso de (i) un compuesto de Fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, como fue definido en cualquiera de las reivindicaciones anteriores (ii) un antígeno, y (iii) un adyuvante que contiene aluminio; en la fabricación de un medicamento para aumentar la respuesta inmune en un paciente.

**32.** Una combinación de (i) un compuesto de Fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, como fue definido en cualquiera de las reivindicaciones anteriores (ii) un antígeno, y (iii) un adyuvante que contiene aluminio; para su uso en un método para aumentar la respuesta inmune en un paciente.

LISTADO DE SECUENCIAS

<110> NOVARTIS AG

<120> COMPOSICIONES INMUNOGÉNICAS QUE INCLUYEN MODULADORES DE LA ACTIVIDAD DE LOS TLR

<130> P055393WO

<140> PCT/IB2010/002386

<141> 2010-09-01

<150> US 61/239,1560

<151> 2009-09-02

<160> 8

<170> SeqWin2010, version 1.0

<210> 1

<211> 248

<212> PRT

<213> Neisseria meningitidis

<400> 1

Val Ala Ala Asp Ile Gly Ala Gly Leu Ala Asp Ala Leu Thr Ala Pro

1 5 10 15

Leu Asp His Lys Asp Lys Gly Leu Gln Ser Leu Thr Leu Asp Gln Ser

20 25 30

Val Arg Lys Asn Glu Lys Leu Lys Leu Ala Ala Gln Gly Ala Glu Lys

35 40 45

- 000207

Thr Tyr Gly Asn Gly Asp Ser Leu Asn Thr Gly Lys Leu Lys Asn Asp  
50 55 60

Lys Val Ser Arg Phe Asp Phe Ile Arg Gln Ile Glu Val Asp Gly Gln  
65 70 75 80

Leu Ile Thr Leu Glu Ser Gly Glu Phe Gln Val Tyr Lys Gln Ser His  
85 90 95

Ser Ala Leu Thr Ala Phe Gln Thr Glu Gln Ile Gln Asp Ser Glu His  
100 105 110

Ser Gly Lys Met Val Ala Lys Arg Gln Phe Arg Ile Gly Asp Ile Ala  
115 120 125

Gly Glu His Thr Ser Phe Asp Lys Leu Pro Glu Gly Gly Arg Ala Thr  
130 135 140

Tyr Arg Gly Thr Ala Phe Gly Ser Asp Asp Ala Gly Gly Lys Leu Thr  
145 150 155 160

Tyr Thr Ile Asp Phe Ala Ala Lys Gln Gly Asn Gly Lys Ile Glu His  
165 170 175

Leu Lys Ser Pro Glu Leu Asn Val Asp Leu Ala Ala Ala Asp Ile Lys  
180 185 190

Pro Asp Gly Lys Arg His Ala Val Ile Ser Gly Ser Val Leu Tyr Asn  
195 200 205

Gln Ala Glu Lys Gly Ser Tyr Ser Leu Gly Ile Phe Gly Gly Lys Ala  
210 215 220

000208

Gln Glu Val Ala Gly Ser Ala Glu Val Lys Thr Val Asn Gly Ile Arg  
 225 230 235 240

His Ile Gly Leu Ala Ala Lys Gln  
 245

<210> 2

<211> 247

<212> PRT

<213> Neisseria meningitidis

<400> 2

Val Ala Ala Asp Ile Gly Ala Gly Leu Ala Asp Ala Leu Thr Ala Pro  
 1 5 10 15

Leu Asp His Lys Asp Lys Ser Leu Gln Ser Leu Thr Leu Asp Gln Ser  
 20 25 30

Val Arg Lys Asn Glu Lys Leu Lys Leu Ala Ala Gln Gly Ala Glu Lys  
 35 40 45

Thr Tyr Gly Asn Gly Asp Ser Leu Asn Thr Gly Lys Leu Lys Asn Asp  
 50 55 60

Lys Val Ser Arg Phe Asp Phe Ile Arg Gln Ile Glu Val Asp Gly Gln  
 65 70 75 80

Leu Ile Thr Leu Glu Ser Gly Glu Phe Gln Ile Tyr Lys Gln Asp His  
 85 90 95

Ser Ala Val Val Ala Leu Gln Ile Glu Lys Ile Asn Asn Pro Asp Lys  
 100 105 110

000209

Ile Asp Ser Leu Ile Asn Gln Arg Ser Phe Leu Val Ser Gly Leu Gly  
115 120 125

Gly Glu His Thr Ala Phe Asn Gln Leu Pro Asp Gly Lys Ala Glu Tyr  
130 135 140

His Gly Lys Ala Phe Ser Ser Asp Asp Ala Gly Gly Lys Leu Thr Tyr  
145 150 155 160

Thr Ile Asp Phe Ala Ala Lys Gln Gly His Gly Lys Ile Glu His Leu  
165 170 175

Lys Thr Pro Glu Gln Asn Val Glu Leu Ala Ala Ala Glu Leu Lys Ala  
180 185 190

Asp Glu Lys Ser His Ala Val Ile Leu Gly Asp Thr Arg Tyr Gly Ser  
195 200 205

Glu Glu Lys Gly Thr Tyr His Leu Ala Leu Phe Gly Asp Arg Ala Gln  
210 215 220

Glu Ile Ala Gly Ser Ala Thr Val Lys Ile Gly Glu Lys Val His Glu  
225 230 235 240

Ile Gly Ile Ala Gly Lys Gln  
245

<210> 3

<211> 250

<212> PRT

<213> Neisseria meningitidis

<400> 3

000210

Val Ala Ala Asp Ile Gly Thr Gly Leu Ala Asp Ala Leu Thr Ala Pro

1 5 10 15

Leu Asp His Lys Asp Lys Gly Leu Lys Ser Leu Thr Leu Glu Asp Ser

20 25 30

Ile Pro Gln Asn Gly Thr Leu Thr Leu Ser Ala Gln Gly Ala Glu Lys

35 40 45

Thr Phe Lys Ala Gly Asp Lys Asp Asn Ser Leu Asn Thr Gly Lys Leu

50 55 60

Lys Asn Asp Lys Ile Ser Arg Phe Asp Phe Val Gln Lys Ile Glu Val

65 70 75 80

Asp Gly Gln Thr Ile Thr Leu Ala Ser Gly Glu Phe Gln Ile Tyr Lys

85 90 95

Gln Asn His Ser Ala Val Val Ala Leu Gln Ile Glu Lys Ile Asn Asn

100 105 110

Pro Asp Lys Thr Asp Ser Leu Ile Asn Gln Arg Ser Phe Leu Val Ser

115 120 125

Gly Leu Gly Gly Glu His Thr Ala Phe Asn Gln Leu Pro Gly Gly Lys

130 135 140

Ala Glu Tyr His Gly Lys Ala Phe Ser Ser Asp Asp Pro Asn Gly Arg

145 150 155 160

Leu His Tyr Ser Ile Asp Phe Thr Lys Lys Gln Gly Tyr Gly Arg Ile

165 170 175

000211

Glu His Leu Lys Thr Leu Glu Gln Asn Val Glu Leu Ala Ala Ala Glu  
 180 185 190

Leu Lys Ala Asp Glu Lys Ser His Ala Val Ile Leu Gly Asp Thr Arg  
 195 200 205

Tyr Gly Ser Glu Glu Lys Gly Thr Tyr His Leu Ala Leu Phe Gly Asp  
 210 215 220

Arg Ala Gln Glu Ile Ala Gly Ser Ala Thr Val Lys Ile Gly Glu Lys  
 225 230 235 240

Val His Glu Ile Gly Ile Ala Gly Lys Gln  
 245 250

<210> 4

<211> 644

<212> PRT

<213> Neisseria meningitidis

<400> 4

Met Ala Ser Pro Asp Val Lys Ser Ala Asp Thr Leu Ser Lys Pro Ala  
 1 5 10 15

Ala Pro Val Val Ser Glu Lys Glu Thr Glu Ala Lys Glu Asp Ala Pro  
 20 25 30

Gln Ala Gly Ser Gln Gly Gln Gly Ala Pro Ser Ala Gln Gly Gly Gln  
 35 40 45

Asp Met Ala Ala Val Ser Glu Glu Asn Thr Gly Asn Gly Gly Ala Ala  
 50 55 60

000212

Ala Thr Asp Lys Pro Lys Asn Glu Asp Glu Gly Ala Gln Asn Asp Met  
 65 70 75 80

Pro Gln Asn Ala Ala Asp Thr Asp Ser Leu Thr Pro Asn His Thr Pro  
 85 90 95

Ala Ser Asn Met Pro Ala Gly Asn Met Glu Asn Gln Ala Pro Asp Ala  
 100 105 110

Gly Glu Ser Glu Gln Pro Ala Asn Gln Pro Asp Met Ala Asn Thr Ala  
 115 120 125

Asp Gly Met Gln Gly Asp Asp Pro Ser Ala Gly Gly Glu Asn Ala Gly  
 130 135 140

Asn Thr Ala Ala Gln Gly Thr Asn Gln Ala Glu Asn Asn Gln Thr Ala  
 145 150 155 160

Gly Ser Gln Asn Pro Ala Ser Ser Thr Asn Pro Ser Ala Thr Asn Ser  
 165 170 175

Gly Gly Asp Phe Gly Arg Thr Asn Val Gly Asn Ser Val Val Ile Asp  
 180 185 190

Gly Pro Ser Gln Asn Ile Thr Leu Thr His Cys Lys Gly Asp Ser Cys  
 195 200 205

Ser Gly Asn Asn Phe Leu Asp Glu Glu Val Gln Leu Lys Ser Glu Phe  
 210 215 220

Glu Lys Leu Ser Asp Ala Asp Lys Ile Ser Asn Tyr Lys Lys Asp Gly  
 225 230 235 240

000213

Lys Asn Asp Gly Lys Asn Asp Lys Phe Val Gly Leu Val Ala Asp Ser

245

250

255

Val Gln Met Lys Gly Ile Asn Gln Tyr Ile Ile Phe Tyr Lys Pro Lys

260

265

270

Pro Thr Ser Phe Ala Arg Phe Arg Arg Ser Ala Arg Ser Arg Arg Ser

275

280

285

Leu Pro Ala Glu Met Pro Leu Ile Pro Val Asn Gln Ala Asp Thr Leu

290

295

300

Ile Val Asp Gly Glu Ala Val Ser Leu Thr Gly His Ser Gly Asn Ile

305

310

315

320

Phe Ala Pro Glu Gly Asn Tyr Arg Tyr Leu Thr Tyr Gly Ala Glu Lys

325

330

335

Leu Pro Gly Gly Ser Tyr Ala Leu Arg Val Gln Gly Glu Pro Ser Lys

340

345

350

Gly Glu Met Leu Ala Gly Thr Ala Val Tyr Asn Gly Glu Val Leu His

355

360

365

Phe His Thr Glu Asn Gly Arg Pro Ser Pro Ser Arg Gly Arg Phe Ala

370

375

380

Ala Lys Val Asp Phe Gly Ser Lys Ser Val Asp Gly Ile Ile Asp Ser

385

390

395

400

Gly Asp Gly Leu His Met Gly Thr Gln Lys Phe Lys Ala Ala Ile Asp

405

410

415

. 000214

Gly Asn Gly Phe Lys Gly Thr Trp Thr Glu Asn Gly Gly Gly Asp Val

420

425

430

Ser Gly Lys Phe Tyr Gly Pro Ala Gly Glu Glu Val Ala Gly Lys Tyr

435

440

445

Ser Tyr Arg Pro Thr Asp Ala Glu Lys Gly Gly Phe Gly Val Phe Ala

450

455

460

Gly Lys Lys Glu Gln Asp Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ala Thr Tyr Lys

465

470

475

480

Val Asp Glu Tyr His Ala Asn Ala Arg Phe Ala Ile Asp His Phe Asn

485

490

495

Thr Ser Thr Asn Val Gly Gly Phe Tyr Gly Leu Thr Gly Ser Val Glu

500

505

510

Phe Asp Gln Ala Lys Arg Asp Gly Lys Ile Asp Ile Thr Ile Pro Val

515

520

525

Ala Asn Leu Gln Ser Gly Ser Gln His Phe Thr Asp His Leu Lys Ser

530

535

540

Ala Asp Ile Phe Asp Ala Ala Gln Tyr Pro Asp Ile Arg Phe Val Ser

545

550

555

560

Thr Lys Phe Asn Phe Asn Gly Lys Lys Leu Val Ser Val Asp Gly Asn

565

570

575

Leu Thr Met His Gly Lys Thr Ala Pro Val Lys Leu Lys Ala Glu Lys

580

585

590

- 000215

Phe Asn Cys Tyr Gln Ser Pro Met Ala Lys Thr Glu Val Cys Gly Gly  
595 600 605

Asp Phe Ser Thr Thr Ile Asp Arg Thr Lys Trp Gly Val Asp Tyr Leu  
610 615 620

Val Asn Val Gly Met Thr Lys Ser Val Arg Ile Asp Ile Gln Ile Glu  
625 630 635 640

Ala Ala Lys Gln

<210> 5  
<211> 434  
<212> PRT  
<213> Neisseria meningitidis

<400> 5  
Met Val Ser Ala Val Ile Gly Ser Ala Ala Val Gly Ala Lys Ser Ala  
1 5 10 15

Val Asp Arg Arg Thr Thr Gly Ala Gln Thr Asp Asp Asn Val Met Ala  
20 25 30

Leu Arg Ile Glu Thr Thr Ala Arg Ser Tyr Leu Arg Gln Asn Asn Gln  
35 40 45

Thr Lys Gly Tyr Thr Pro Gln Ile Ser Val Val Gly Tyr Asn Arg His  
50 55 60

Leu Leu Leu Leu Gly Gln Val Ala Thr Glu Gly Glu Lys Gln Phe Val  
65 70 75 80

Gly Gln Ile Ala Arg Ser Glu Gln Ala Ala Glu Gly Val Tyr Asn Tyr

85

90

95

Ile Thr Val Ala Ser Leu Pro Arg Thr Ala Gly Asp Ile Ala Gly Asp

100

105

110

Thr Trp Asn Thr Ser Lys Val Arg Ala Thr Leu Leu Gly Ile Ser Pro

115

120

125

Ala Thr Gln Ala Arg Val Lys Ile Val Thr Tyr Gly Asn Val Thr Tyr

130

135

140

Val Met Gly Ile Leu Thr Pro Glu Glu Gln Ala Gln Ile Thr Gln Lys

145

150

155

160

Val Ser Thr Thr Val Gly Val Gln Lys Val Ile Thr Leu Tyr Gln Asn

165

170

175

Tyr Val Gln Arg Gly Ser Gly Gly Gly Gly Val Ala Ala Asp Ile Gly

180

185

190

Ala Gly Leu Ala Asp Ala Leu Thr Ala Pro Leu Asp His Lys Asp Lys

195

200

205

Gly Leu Gln Ser Leu Thr Leu Asp Gln Ser Val Arg Lys Asn Glu Lys

210

215

220

Leu Lys Leu Ala Ala Gln Gly Ala Glu Lys Thr Tyr Gly Asn Gly Asp

225

230

235

240

Ser Leu Asn Thr Gly Lys Leu Lys Asn Asp Lys Val Ser Arg Phe Asp

245

250

255

000217

Phe Ile Arg Gln Ile Glu Val Asp Gly Gln Leu Ile Thr Leu Glu Ser  
 260 265 270

Gly Glu Phe Gln Val Tyr Lys Gln Ser His Ser Ala Leu Thr Ala Phe  
 275 280 285

Gln Thr Glu Gln Ile Gln Asp Ser Glu His Ser Gly Lys Met Val Ala  
 290 295 300

Lys Arg Gln Phe Arg Ile Gly Asp Ile Ala Gly Glu His Thr Ser Phe  
 305 310 315 320

Asp Lys Leu Pro Glu Gly Gly Arg Ala Thr Tyr Arg Gly Thr Ala Phe  
 325 330 335

Gly Ser Asp Asp Ala Gly Gly Lys Leu Thr Tyr Thr Ile Asp Phe Ala  
 340 345 350

Ala Lys Gln Gly Asn Gly Lys Ile Glu His Leu Lys Ser Pro Glu Leu  
 355 360 365

Asn Val Asp Leu Ala Ala Ala Asp Ile Lys Pro Asp Gly Lys Arg His  
 370 375 380

Ala Val Ile Ser Gly Ser Val Leu Tyr Asn Gln Ala Glu Lys Gly Ser  
 385 390 395 400

Tyr Ser Leu Gly Ile Phe Gly Gly Lys Ala Gln Glu Val Ala Gly Ser  
 405 410 415

Ala Glu Val Lys Thr Val Asn Gly Ile Arg His Ile Gly Leu Ala Ala  
 420 425 430

000218

Lys Gln

<210> 6  
<211> 327  
<212> PRT  
<213> Neisseria meningitidis

<400> 6  
Ala Thr Asn Asp Asp Asp Val Lys Lys Ala Ala Thr Val Ala Ile Ala  
1 5 10 15  
Ala Ala Tyr Asn Asn Gly Gln Glu Ile Asn Gly Phe Lys Ala Gly Glu  
20 25 30  
Thr Ile Tyr Asp Ile Asp Glu Asp Gly Thr Ile Thr Lys Lys Asp Ala  
35 40 45  
Thr Ala Ala Asp Val Glu Ala Asp Asp Phe Lys Gly Leu Gly Leu Lys  
50 55 60  
Lys Val Val Thr Asn Leu Thr Lys Thr Val Asn Glu Asn Lys Gln Asn  
65 70 75 80  
Val Asp Ala Lys Val Lys Ala Ala Glu Ser Glu Ile Glu Lys Leu Thr  
85 90 95  
Thr Lys Leu Ala Asp Thr Asp Ala Ala Leu Ala Asp Thr Asp Ala Ala  
100 105 110  
Leu Asp Ala Thr Thr Asn Ala Leu Asn Lys Leu Gly Glu Asn Ile Thr  
115 120 125

000219

Thr Phe Ala Glu Glu Thr Lys Thr Asn Ile Val Lys Ile Asp Glu Lys  
130 135 140

Leu Glu Ala Val Ala Asp Thr Val Asp Lys His Ala Glu Ala Phe Asn  
145 150 155 160

Asp Ile Ala Asp Ser Leu Asp Glu Thr Asn Thr Lys Ala Asp Glu Ala  
165 170 175

Val Lys Thr Ala Asn Glu Ala Lys Gln Thr Ala Glu Glu Thr Lys Gln  
180 185 190

Asn Val Asp Ala Lys Val Lys Ala Ala Glu Thr Ala Ala Gly Lys Ala  
195 200 205

Glu Ala Ala Ala Gly Thr Ala Asn Thr Ala Ala Asp Lys Ala Glu Ala  
210 215 220

Val Ala Ala Lys Val Thr Asp Ile Lys Ala Asp Ile Ala Thr Asn Lys  
225 230 235 240

Asp Asn Ile Ala Lys Lys Ala Asn Ser Ala Asp Val Tyr Thr Arg Glu  
245 250 255

Glu Ser Asp Ser Lys Phe Val Arg Ile Asp Gly Leu Asn Ala Thr Thr  
260 265 270

Glu Lys Leu Asp Thr Arg Leu Ala Ser Ala Glu Lys Ser Ile Ala Asp  
275 280 285

His Asp Thr Arg Leu Asn Gly Leu Asp Lys Thr Val Ser Asp Leu Arg  
290 295 300

- 000220

Lys Glu Thr Arg Gln Gly Leu Ala Glu Gln Ala Ala Leu Ser Gly Leu  
305 310 315 320

Phe Gln Pro Tyr Asn Val Gly  
325

<210> 7  
<211> 26  
<212> DNA  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Oligonucléotido inmunoestimulante  
<220>  
<221> base\_modificada  
<222> 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25  
<223> 'n' is 'i' (Inosina)

<400> 7  
ncncncncnc ncncncncnc ncncnc 26

<210> 8  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Oligopéptido policationico

<400> 8  
Lys Leu Lys Leu Leu Leu Leu Lys Leu Lys  
1 5 10

000221

000222

Concentración en el Sobrenadante

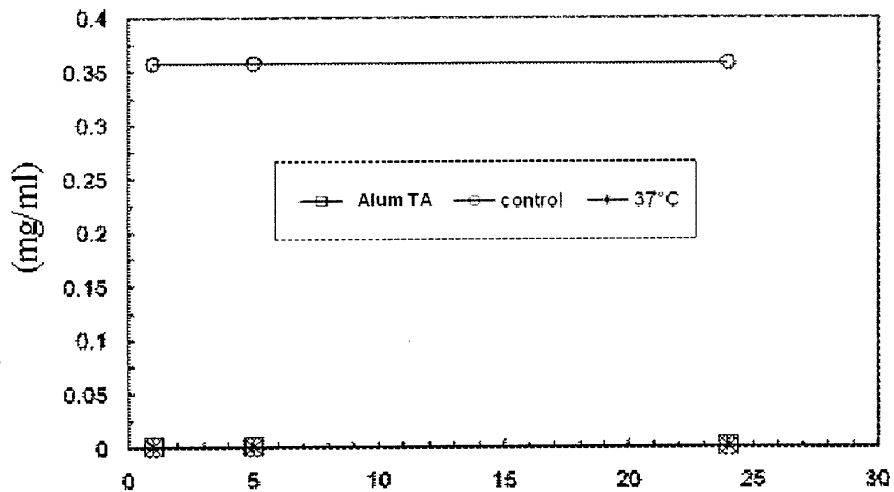


Figura 1

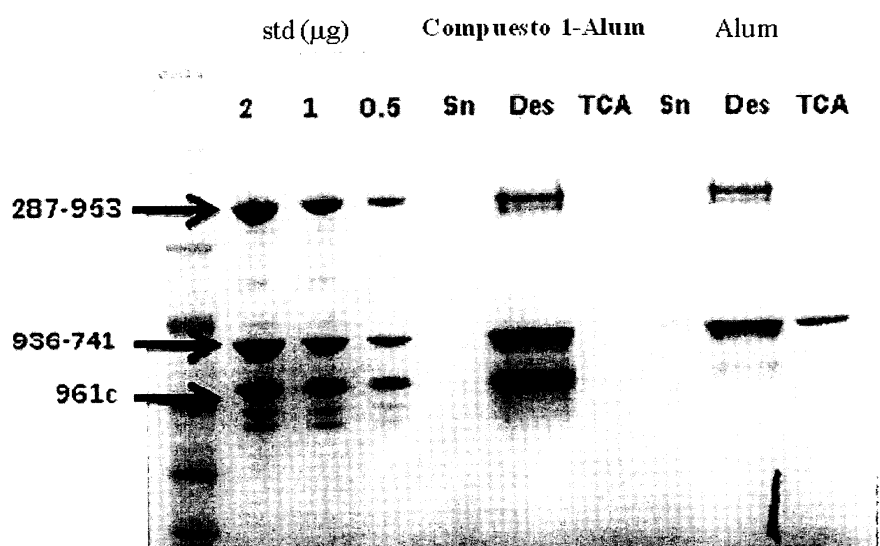
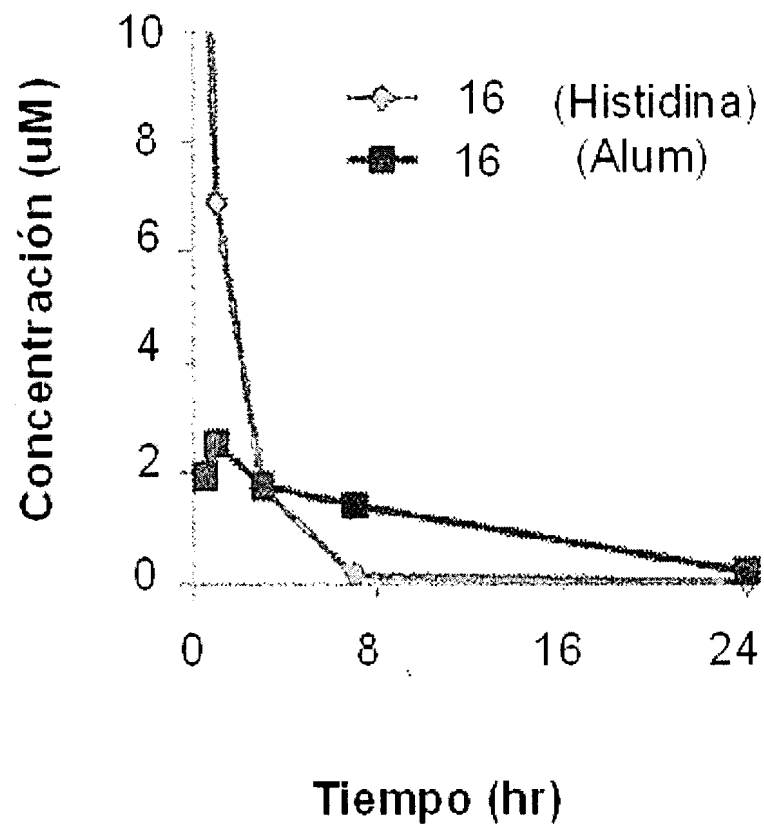
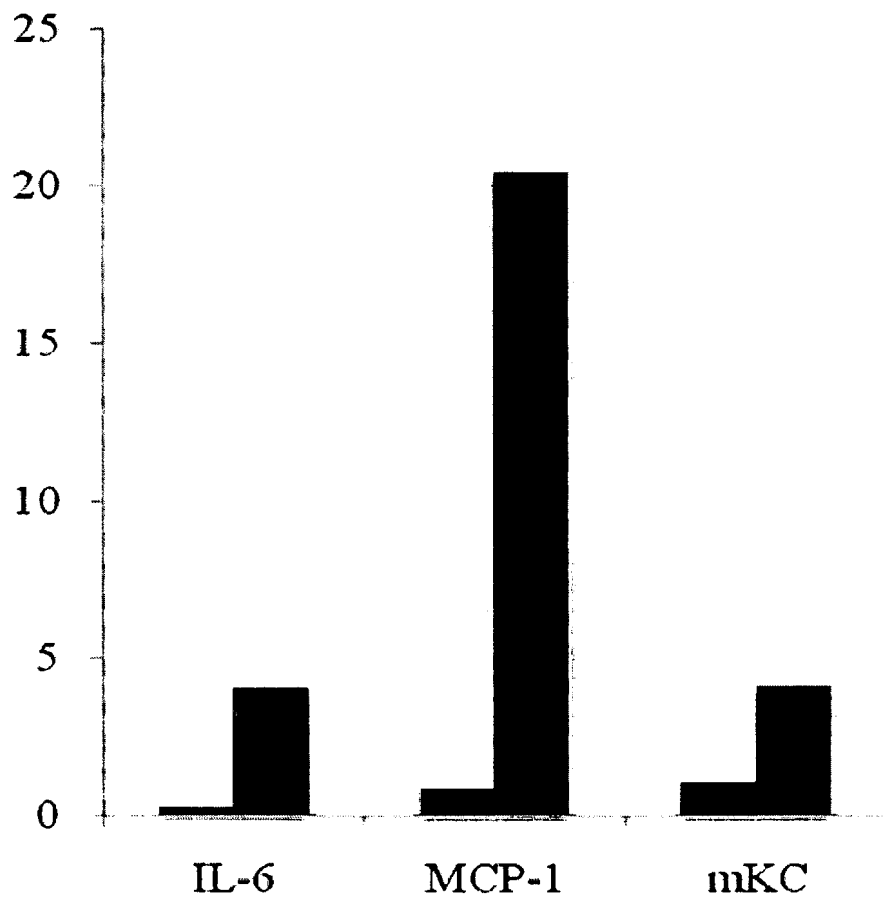


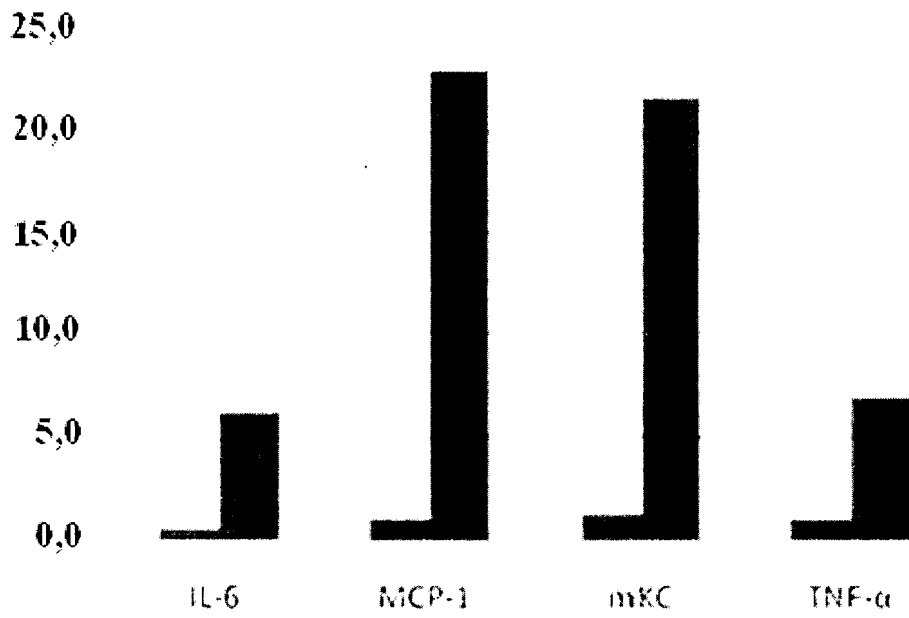
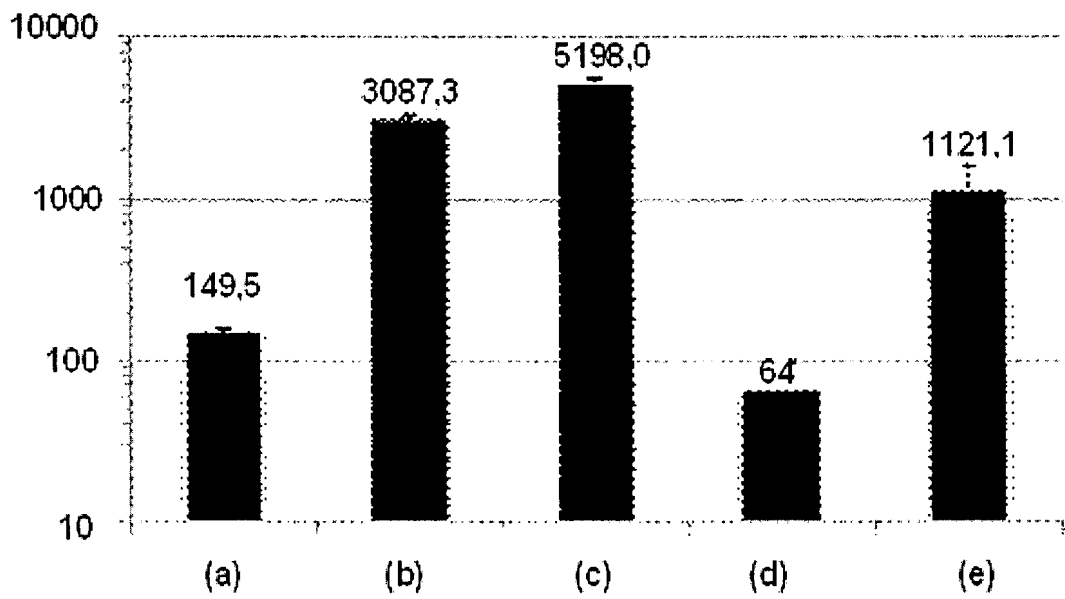
Figura 2

*Figura 3*

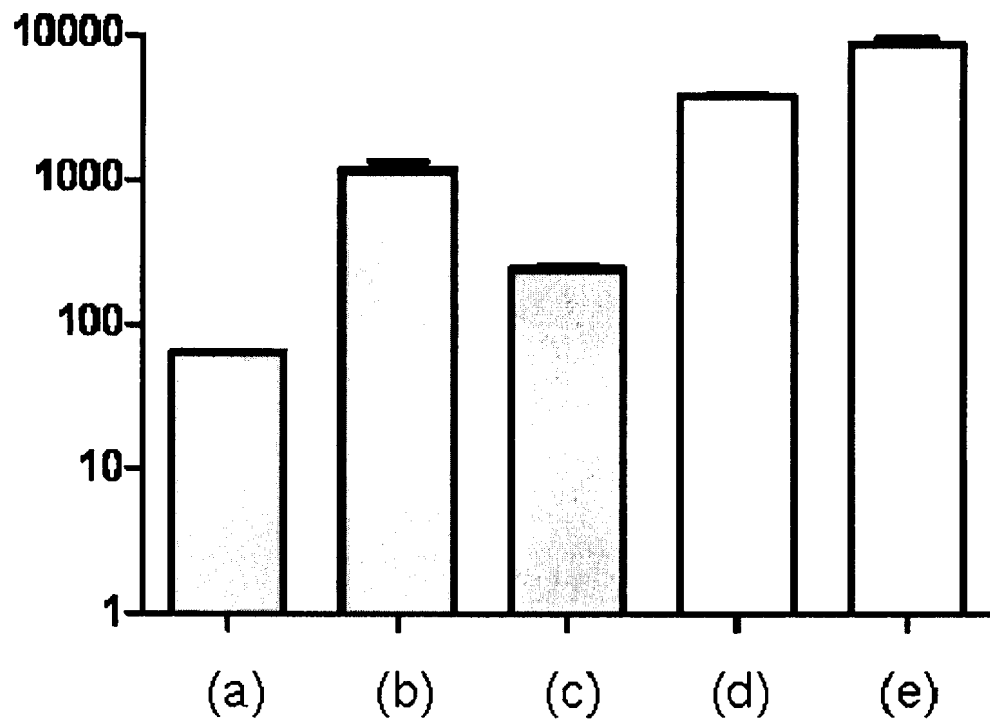
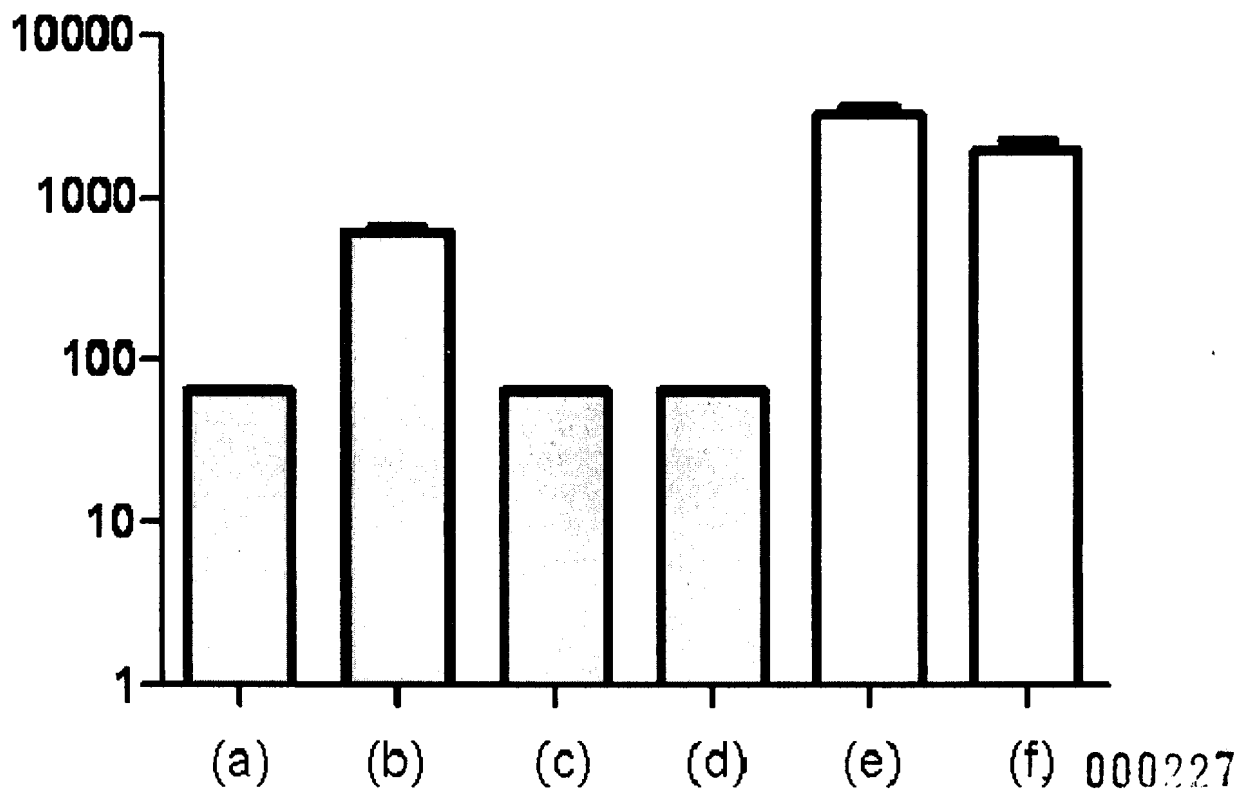
000224

*Figura 4*

000225

*Figura 5**Figura 6*

000226

*Figura 7**Figura 8*



(51) International Patent Classification:

A61K 39/095 (2006.01) A61K 33/08 (2006.01)  
A61K 39/39 (2006.01) A61K 33/42 (2006.01)  
A61K 31/4375 (2006.01) A61K 31/04 (2006.01)  
A61K 31/66 (2006.01) A61P 37/00 (2006.01)

(21) International Application Number:

PCT/IB2010/002386

(22) International Filing Date:

1 September 2010 (01.09.2010)

(25) Filing Language:

English

(26) Publication Language:

English

(30) Priority Data:

61/239,156 2 September 2009 (02.09.2009) US

(71) Applicant (for all designated States except US): NO-  
VARTIS AG [CH/CH]; Lichtstrasse 35, CH-4056 Basel  
(CH).

(72) Inventors; and

(75) Inventors/Applicants (for US only): SINGH, Manmo-  
han [US/US]; c/o Novartis Vaccines And Diagnostics,  
Inc., 4560 Horton Street, Emeryville, CA 94608 (US).  
SKIBINSKI, David [IT/IT]; c/o Novartis Vaccines, Via  
Fiorentia 1, I-53100 Siena (IT). CIANETTI, Simona [IT/

IT]; c/o Novartis Vaccines, Via Fiorentina 1, I-53100  
Siena (IT). DORO, Francesco [IT/IT]; c/o Novartis Vac-  
cines, Via Fiorentina 1, I-53100 Siena (IT). JAIN, Sid-  
dhartha [IN/US]; c/o Novartis Vaccines And Diagnos-  
tics, Inc., 4560 Horton Street, Emeryville, CA 94608  
(US).

(74) Agents: MARSHALL, Cameron, John et al.; Carpmaels  
& Ransford, One Southampton Row, London WC1B  
5HA (GB).

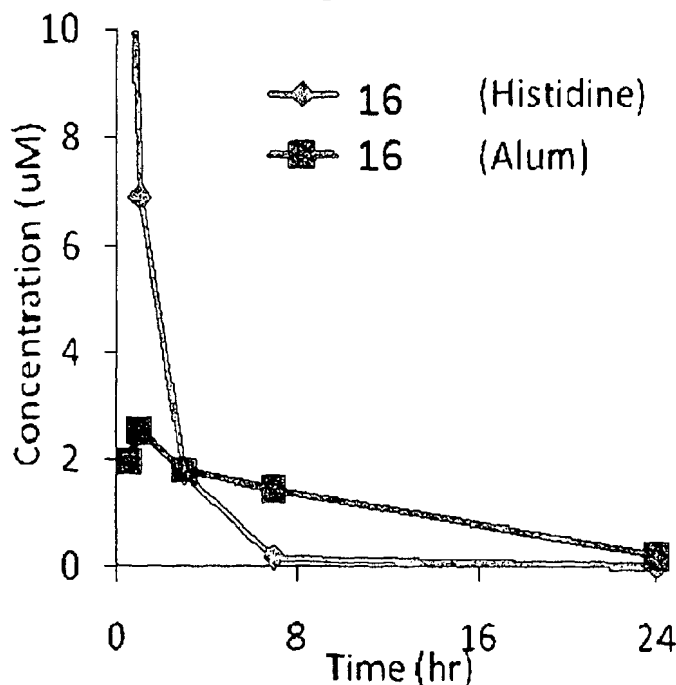
(81) Designated States (unless otherwise indicated, for every  
kind of national protection available): AE, AG, AL, AM,  
AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ,  
CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO,  
DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT,  
HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, 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, TH, 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, LR, 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: IMMUNOGENIC COMPOSITIONS INCLUDING TLR ACTIVITY MODULATORS

Figure 3



(57) Abstract: The invention pro-  
vides a novel class of compounds,  
immunogenic compositions and phar-  
maceutical compositions comprising  
such compounds and methods of us-  
ing such compounds to treat or pre-  
vent diseases or disorders associated  
with Toll-Like Receptors 7. In one  
aspect, the compounds are useful as  
adjuvants for enhancing the effective-  
ness of a vaccine.

000228



TM), European (AL, 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).

— with sequence listing part of description (Rule 5.2(a))

(88) Date of publication of the international search report:  
5 May 2011

Published:

— with international search report (Art. 21(3))

# PATENT COOPERATION TREATY

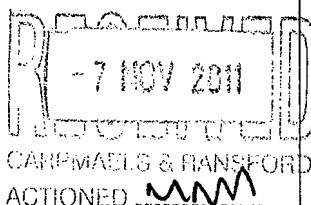
From the  
INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINING AUTHORITY

— 1 MXG

PCT

To:

Marshall, Cameron John  
Carpmaels & Ransford  
One Southampton Row  
GB-London WC1B 5HA  
ROYAUME UNI



NOTIFICATION OF TRANSMITTAL OF  
THE INTERNATIONAL PRELIMINARY  
REPORT ON PATENTABILITY

(PCT Rule 71.1)

Date of mailing  
(day/month/year)

03.11.2011

Applicant's or agent's file reference  
P055393WO

**IMPORTANT NOTIFICATION**

International application No.  
PCT/B2010/002386

International filing date (day/month/year)  
01.09.2010

Priority date (day/month/year)  
02.09.2009

Applicant  
Novartis AG

1. The applicant is hereby notified that this International Preliminary Examining Authority transmits herewith the international preliminary report on patentability and its annexes, if any, established on the international application.
2. A copy of the report and its annexes, if any, is being transmitted to the International Bureau for communication to all the elected Offices.
3. Where required by any of the elected Offices, the International Bureau will prepare an English translation of the report (but not of any annexes) and will transmit such translation to those Offices.

#### 4. REMINDER

The applicant must enter the national phase before each elected Office by performing certain acts (filing translations and paying national fees) within 30 months from the priority date (or later in some Offices) (Article 39(1)) (see also the reminder sent by the International Bureau with Form PCT/B/301).

Where a translation of the international application must be furnished to an elected Office, that translation must contain a translation of any annexes to the international preliminary report on patentability. It is the applicant's responsibility to prepare and furnish such translation directly to each elected Office concerned.

For further details on the applicable time limits and requirements of the elected Offices, see Volume II of the PCT Applicant's Guide.

The applicant's attention is drawn to Article 33(5), which provides that the criteria of novelty, inventive step and industrial applicability described in Article 33(2) to (4) merely serve the purposes of international preliminary examination and that "any Contracting State may apply additional or different criteria for the purposes of deciding whether, in that State, the claimed inventions is patentable or not" (see also Article 27(5)). Such additional criteria may relate, for example, to exemptions from patentability, requirements for enabling disclosure, clarity and support for the claims.

000230

Name and mailing address of the international  
preliminary examining authority:



European Patent Office  
D-80298 Munich  
Tel. +49 89 2399 - 0  
Fax: +49 89 2399 - 4465

Authorized Officer

Faux, Katarina

Tel. +49 89 2399-8062



## PATENT COOPERATION TREATY

## PCT

## INTERNATIONAL PRELIMINARY REPORT ON PATENTABILITY

(Chapter II of the Patent Cooperation Treaty)

(PCT Article 36 and Rule 70)

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |                                                                                                                                                                         |                                              |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------|
| Applicant's or agent's file reference<br>P055393WO                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       | FOR FURTHER ACTION                                                                                                                                                      | See Form PCT/IPEA/416                        |
| International application No.<br>PCT/IB2010/002386                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       | International filing date (day/month/year)<br>01.09.2010                                                                                                                | Priority date (day/month/year)<br>02.09.2009 |
| International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC<br>INV. A61K39/095                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |                                                                                                                                                                         |                                              |
| Applicant<br>Novartis AG                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |                                                                                                                                                                         |                                              |
| <p>1. This report is the international preliminary examination report, established by this International Preliminary Examining Authority under Article 35 and transmitted to the applicant according to Article 36.</p> <p>2. This REPORT consists of a total of <u>7</u> sheets, including this cover sheet.</p> <p>3. This report is also accompanied by ANNEXES, comprising:</p> <p>a. <input checked="" type="checkbox"/> (sent to the applicant and to the International Bureau) a total of <u>18</u> sheets, as follows:</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and/or sheets containing rectifications authorized by this Authority, unless those sheets were superseded or cancelled, and any accompanying letters (see Rules 46.5, 66.8, 70.16, 91.2, and Section 607 of the Administrative Instructions).</p> <p><input type="checkbox"/> sheets containing rectifications, where the decision was made by this Authority not to take them into account because they were not authorized by or notified to this Authority at the time when this Authority began to draw up this report, and any accompanying letters (Rules 66.4bis, 70.2(e), 70.16 and 91.2).</p> <p><input type="checkbox"/> superseded sheets and any accompanying letters, where this Authority either considers that the superseding sheets contain an amendment that goes beyond the disclosure in the international application as filed, or the superseding sheets were not accompanied by a letter indicating the basis for the amendments in the application as filed, as indicated in item 4 of Box No. I and the Supplemental Box (see Rule 70.16(b)).</p> <p>b. <input type="checkbox"/> (sent to the International Bureau only) a total of (indicate type and number of electronic carrier(s)) , containing a sequence listing, in electronic form only, as indicated in the Supplemental Box Relating to Sequence Listing (see paragraph 3bis of Annex C of the Administrative Instructions).</p> |                                                                                                                                                                         |                                              |
| <p>4. This report contains indications relating to the following items:</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> Box No. I Basis of the report</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> Box No. II Priority</p> <p><input type="checkbox"/> Box No. III Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability</p> <p><input type="checkbox"/> Box No. IV Lack of unity of invention</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> Box No. V Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> Box No. VI Certain documents cited</p> <p><input type="checkbox"/> Box No. VII Certain defects in the international application</p> <p><input type="checkbox"/> Box No. VIII Certain observations on the international application</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |                                                                                                                                                                         |                                              |
| Date of submission of the demand                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | Date of completion of this report                                                                                                                                       |                                              |
| 04.07.2011                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | 03.11.2011 - 000231                                                                                                                                                     |                                              |
| Name and mailing address of the international preliminary examining authority:<br> European Patent Office<br>D-80298 Munich<br>Tel. +49 89 2399 - 0<br>Fax: +49 89 2399 - 4465                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | Authorized officer<br><br>Bayer, Annette<br><br>Telephone No. +49 89 2399-7103<br> |                                              |

**INTERNATIONAL PRELIMINARY REPORT  
ON PATENTABILITY**

International application No.  
PCT/IB2010/002386

---

**Box No. I Basis of the report**

---

1. With regard to the **language**, this report is based on
- ☒ 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 (under Rules 12.3(a) and 23.1(b))
    - ☐ publication of the international application (under Rule 12.4(a))
    - ☐ international preliminary examination (under Rules 55.2(a) and/or 55.3(a) and (b))
2. With regard to the **elements\*** of the international application, this report is based on (*replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to this report*):

**Description, Pages**

1-140 as originally filed

**Sequence listings, SEQ ID NO**

1-8 as originally filed

**Claims, Numbers**

1-28 filed with the demand for preliminary international examination  
29-31 filed with telefax on 29-09-2011

**Drawings, Sheets**

1/5, 3/5-5/5 as originally filed  
2/2 filed with the letter of 15-11-2010

- ☒ a sequence listing - see Supplemental Box Relating to Sequence Listing.

3. ☒ The amendments have resulted in the cancellation of:
- ☐ the description, pages
  - ☒ the claims, Nos. 1-32
  - ☐ the drawings, sheets/figs
  - ☐ the sequence listing (*specify*):
  - ☐ any table(s) related to sequence listing (*specify*):
4. ☐ This report has been established as if (some of) the amendments annexed to this report and listed below had not been made, since either they are considered to go beyond the disclosure as filed, or they were not accompanied by a letter indicating the basis for the amendments in the application as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rules 70.2(c) and (c-bis)):
- ☐ the description, pages
  - ☐ the claims, Nos.
  - ☐ the drawings, sheets/figs
  - ☐ the sequence listing (*specify*):

000232

INTERNATIONAL PRELIMINARY REPORT  
ON PATENTABILITY

International application No.  
PCT/IB2010/002386

5. ☒ This report has been established:
- ☒ taking into account the rectification of an obvious mistake authorized by or notified to this Authority under Rule 91 (Rules 66.1(d-bis) and 70.2(e)).
  - ☐ without taking into account the rectification of an obvious mistake authorized by or notified to this Authority under Rule 91 (Rules 66.4bis and 70.2(e)).
6. ☐ Supplementary international search report(s) from Authority(ies) has/have been received and taken into account in establishing this report (Rule 45bis.8(b) and (c)).

| Box No. II                  | Priority                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
|-----------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1. <input type="checkbox"/> | This report has been established as if no priority had been claimed due to the failure to furnish within the prescribed time limit the requested: <ul style="list-style-type: none"><li><input type="checkbox"/> copy of the earlier application whose priority has been claimed (Rule 66.7(a)).</li><li><input type="checkbox"/> translation of the earlier application whose priority has been claimed (Rule 66.7(b)).</li></ul> |
| 2. <input type="checkbox"/> | This report has been established as if no priority had been claimed due to the fact that the priority claim has been found invalid (Rule 64.1). Thus for the purposes of this report, the international filing date indicated above is considered to be the relevant date.                                                                                                                                                         |
| 3.                          | Additional observations, if necessary:<br><u>see separate sheet</u>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |

| Box No. V Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement |             |             |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------|-------------|
| 1. Statement                                                                                                                                                              |             |             |
| Novelty (N)                                                                                                                                                               | Yes: Claims | <u>1-31</u> |
|                                                                                                                                                                           | No: Claims  |             |
| Inventive step (IS)                                                                                                                                                       | Yes: Claims | <u>1-31</u> |
|                                                                                                                                                                           | No: Claims  |             |
| Industrial applicability (IA)                                                                                                                                             | Yes: Claims | <u>1-31</u> |
|                                                                                                                                                                           | No: Claims  |             |
| 2. Citations and explanations (Rule 70.7):<br><u>see separate sheet</u>                                                                                                   |             |             |

000233

**INTERNATIONAL PRELIMINARY REPORT  
ON PATENTABILITY**

International application No.  
PCT/B2010/002386

---

**Box No. VI Certain documents cited**

---

1. Certain published documents (Rule 70.10)

and / or

2. Non-written disclosures (Rule 70.9)

see separate sheet

---

**Supplemental Box relating to Sequence Listing**

---

**Continuation of Box I, item 2:**

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application and necessary to the claimed invention, 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 and/or examination

☐ to this Authority as an amendment on

2. ☒ 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.

3. Additional comments:

see separate sheet

\* *If item 4 in Box No. I applies, the sequence listing, which forms part of the basis of the report, may be marked "superseded."*

000234

**INTERNATIONAL PRELIMINARY  
REPORT ON PATENTABILITY  
(SEPARATE SHEET)**

International application No.

PCT/IB2010/002386

**Re Item I**

The drawing 2/5 submitted with the letter dated 15.11. 2010 meets the requirements of Rule 91 PCT.

**Re Item II**

As the priority of the present application is considered to be validly claimed, the published document (Rule 70.10 PCT) WO2009/111337 is considered as not being part of the prior art (Rule 64.1 PCT).

**Re Item V**

Reference is made to the following documents:

- D1 WO 2007/109813 A1 (NOVARTIS AG [CH]; SUTTON JAMES [US]; XU FENG [US]; VALIANTE NICHOLAS []) 27 September 2007 (2007-09-27)
- D2 HEM S L ET AL: "STRUCTURE AND PROPERTIES OF ALUMINUM-CONTAINING ADJUVANTS",  
VACCINE DESIGN. SUBUNIT AND ADJUVANT APPROACH;  
[PHARMACEUTICAL BIOTECHNOLOGY], NEW YORK, PLENUM PRESS, US,  
vol. VOL. 6, 1 January 1995 (1995-01-01), pages 249-276, XP001053762,  
ISBN: 978-0-306-44867-6
- D3 US 5 059 258 A (WEFERS KARL [US] ET AL) 22 October 1991  
(1991-10-22)
- D4 HEM STANLEY L ET AL: "Relationship between physical and chemical properties of aluminum-containing adjuvants and immunopotential",  
EXPERT REVIEW OF VACCINES, UK,  
vol. 6, no. 5, 1 October 2007 (2007-10-01), pages 685-698,  
XP009143527,  
ISSN: 1744-8395

As far as not otherwise indicated, reference is made to the passages cited in the search report.

000235

***Novelty***

There is no prior art teaching an immunogenic composition as claimed. Accordingly, the subject-matter of claims 1-31 is considered as novel.

***Inventive step***

1. In view of the prior art, represented by document D1, the subject-matter of the present application is considered as inventive:

D1 discloses imidazoquinoxaline compounds which are TLR7 (or TLR8) agonists as immune response modifiers in antigen comprising immunogenic compositions also in combination with further adjuvants including aluminum based adjuvants. However, D1 does not disclose the use of benzonaphthyridine derivatives instead of the imidazoquinoxaline compounds.

Thus, the objective technical problem in view of D1 is seen in the provision of alternative immune response modifiers which are TLR7 (or TLR8) agonists.

For the reason that D1 does not give any incentive to the use of benzonaphthyridine derivatives for said purpose, the subject-matter claimed is considered as inventive in view of the prior art.

2. The present application relates to the provision of compositions for enhanced immunostimulation. The basic principle evidenced by the experimental data in the present application is that the compounds falling under the scope of formula (I) having a P group (either a phosphonate or a phosphate) are capable of binding to aluminium adjuvants having exchangeable hydroxyl groups. Such binding results in a large (unexpected) enhanced immunostimulatory response compared to the response for the compound of formula (I) alone. Thus, it is credible that any composition comprising a compound of formula (I) and an aluminium adjuvant selected from aluminum hydroxide, aluminum oxyhydroxide and aluminum hydroxyphosphate, in which the compound is capable of binding to the surface of the adjuvant, will show the same technical effect, i.e. will show an enhanced immunostimulatory response.

Accordingly, an inventive step is acknowledged for the present claims.

- 000236

**INTERNATIONAL PRELIMINARY  
REPORT ON PATENTABILITY  
(SEPARATE SHEET)**

International application No.

PCT/IB2010/002386

**Re item VI**

The published document (Rule 70.10 PCT) WO2009/111337 is considered as not being part of the prior art (Rule 64.1 PCT) due to the validity of the priority of the present application. However, this document may be of importance in a subsequent national/regional phase.

000237

# CARPMAELS & RANSFORD

Facsimile

EPO - Munich  
75

06 Juli 2011

European Patent Office  
Erhardtstrasse 27  
D-80469 Munich  
Germany

Chartered Patent Attorneys  
European Patent Attorneys  
Trade Mark Attorneys  
Regulated by IPRag

BY FACSIMILE AND MAIL

CONFIRMATION COPY

Carpmaels & Ransford  
One Southampton Row  
London WC1B 5HA  
United Kingdom  
T +44 20 7242 8692  
F +44 20 7405 4166  
E email@carpmaels.com  
www.carpmaels.com

Fax No. 498923994465 Pages 26  
Your Ref  
Our Ref P055393WO: CJM/MXG  
Date 4th July 2011

Dear Sirs,

Re: International Patent Application No. PCT/IB2010/002386  
NOVARTIS AG et al.

I refer to the official communication dated 18th February 2011 enclosing the international search report and written opinion (WO) and file a Demand for International Preliminary Examination. Form PCT/IPEA/401 is enclosed.

In response to the WO I enclose a clean version of an amended set of claims. A tracked-changes version of the amended claims is also enclosed so that the changes made to the claims can be easily identified.

Claims 1 and 30 have been amended by the deletion of the possibility that  $R^7 = -C(O)OR^{10}$ , with consequential amendment to the proviso at the end of the claims. These claims have also been amended to incorporate the subject-matter of claim 26 (also present on page 2, line 4, paragraph [7]). Claim 26 has been deleted and the following claims have been renumbered accordingly.

I note that the WO held that all of the claims as filed are novel. The amendments made with the present submission limit the scope of the claims, and so the finding of novelty is also applicable to the amended claims filed herewith.

The WO raises the objection that the claims lack an inventive step. However, I note that this objection does not relate to a particular prior art document, as the claims were considered not to be obvious on the basis of D1 (see the comments on the page of the WO with the heading *Inventive Step*). Nevertheless, an objection has been raised because it is considered that an inventive step cannot be acknowledged across the whole scope of the claim, because the claim is not limited to

000238

Keith Howick CMA, EAM, TMA  
Huw G Hallybone CMA, EAM, TMA  
Richard E Jackson CMA, EAM, TMA  
Paul N Howard CMA, EAM, TMA

Anthony C James CMA, EAM  
Bruce Cockerton CMA, EAM  
Cameron Marshall CMA, EAM  
Hugh R Goodfellow CMA, EAM

Chris Tunstall CMA, EAM  
Susan E Kirsch CMA, EAM  
Gary J Small CMA, EAM  
James Warner CMA, EAM

Rachel M Bullett CMA, EAM  
John Brunner CMA, EAM  
Mark Chapman CMA, EAM

# CARPMAELS & RANSFORD

phosphonic acid groups as the specific phosphorous containing groups and aluminium hydroxide as the specific aluminium containing adjuvant. The applicant has the following comments in response to these objections.

Firstly, the deletion of the option that  $R^7 = -C(O)OR^{10}$  now means that all of the compounds of formula (I) must contain at least one pendant phosphorous containing group (a "P" group) selected from a phosphonate group  $[R-P(O)(OR)_2]$  or a phosphate group  $[RO-P(O)(OR)_2]$ , at position  $R^1$  or  $R^3$ .

For example, when  $R^3$  does not contain a P group (i.e.  $R^3 = C_1-C_4$  alkyl or  $-OR^8$ ) then  $R^1$  must contain one by virtue of the proviso at the end of the claim which requires that  $R^1$  is  $-C(R^5)_2OH$ ,  $-L^1R^5$ ,  $-L^1R^8$ ,  $-L^2R^5$ ,  $-L^2R^8$ ,  $-OL^2R^5$ , or  $-OL^2R^8$ , wherein  $R^8$  is  $-CF_2P(O)(OR^9)_2$  (since  $R^5$  and  $R^8$  must contain a P group, all of the options for  $R^1$  result in a P group).

Alternatively, where  $R^3$  is any of the other groups permitted by its definition in claim 1 ( $-L^3R^5$ ,  $-L^1R^5$ ,  $-L^3R^7$ ,  $-L^3L^4L^3R^7$ ,  $-L^3L^4R^5$ ,  $-L^3L^4L^3R^5$ ,  $-OL^3R^5$ ,  $-OL^3R^7$ ,  $-OL^3L^4R^7$ ,  $-OL^3L^4L^3R^7$ ,  $-OL^3L^4R^5$ ,  $-OL^3L^4L^3R^5$  or  $-C(R^5)_2OH$ ) these all contain a P group by virtue of the  $R^5$  or  $R^7$  group. So, a P group is present at either  $R^1$  or  $R^3$  (or both) for all of the compounds of formula (I).

Secondly, the compositions have been limited to those where the aluminium-containing adjuvant is selected from aluminium hydroxide, aluminium oxyhydroxide and aluminium hydroxyphosphate.

As pointed out in the WO, the effect of enhanced immunostimulation is shown by the examples in the application which relate to a composition containing a compound of formula (I) having a phosphonate group bound to an aluminium hydroxide adjuvant. The data discussed in paragraphs [582] and [583] and illustrated in Figures 6 to 8 show that the compositions provide an unexpectedly large enhancement in the immunostimulatory response compared to that expected from the results of the response for the compound of formula (I) alone (evidenced by the unexpectedly large increase in SBA titer). The objection in the WO states that this technical effect is not supported across the whole scope of the claim. However, we strongly disagree with this objection.

The data in the application as filed clearly show that the enhanced response is attributable to the binding of the compound of formula (I) to the aluminium adjuvant. Therefore, it is credible that any composition containing a compound of formula (I) and an aluminium adjuvant, in which the compound is capable of binding to the surface of the adjuvant, will show the same technical effect as that discussed above. Since, the amended claims only cover such compositions an inventive step must be acknowledged across the whole scope of the claims.

# CARPMAELS & RANSFORD

The WO states that a phosphonate group on the compounds of formula (I) and aluminium hydroxide as the aluminium-containing adjuvant are both features essential to achieve the technical effect that the invention displays.

With regard to the phosphonate group, as discussed above, the compounds of formula (I) must all contain at least one P group (either a phosphonate or a phosphate). In order to confirm that the concept of aluminium binding has applicability to phosphate groups as well as phosphonate groups, the applicant has conducted additional studies which confirm that a phosphate containing compound of the invention (compound 2 in table 1) is capable of binding to aluminium hydroxide. The results of these tests are presented in the enclosed **Annex A**. Based on the data in Annex A, the effect of aluminium binding for compounds of formula (I) in which a phosphate group is present has been confirmed, and so the effect of increased immunostimulatory response for compositions containing these compounds bound to aluminium is also confirmed. Thus, the technical effect of the invention is credibly substantiated across all of the possible compounds of formula (I).

With regard to the aluminium-containing adjuvant, as discussed above, the definition of this component in the claims has been limited to specific aluminium containing adjuvants. These aluminium containing adjuvants are those commonly used in the field of vaccine technology. This is confirmed in the background prior art documents that are referred to in the WO (for example see the introduction of D2 and see D4, page 685, left hand column). These three adjuvants all have surface hydroxyl groups capable of ligand exchange with P groups and so all can mediate adsorption by this mechanism. Thus, the skilled person would consider that the data in the application as filed plausibly establish activity for all of the aluminium containing adjuvants now claimed. In confirmation of this, the applicant has conducted additional studies in which compounds 6 and 20 of formula (I) have been tested for adsorption to aluminium hydroxyphosphate adjuvant. The results are presented in the enclosed **Annex B**. As can be seen, the binding of compounds 6 and 20 to the adjuvant has been clearly demonstrated, and so the effect of enhanced immunostimulatory response would also be expected for the compositions in which aluminium hydroxyphosphate is used as the aluminium containing adjuvant.

The basic principle evidenced by the data in the application as filed is that the compounds of formula (I) having a P group are capable of binding to aluminium adjuvants having exchangeable hydroxyl groups. The ligand exchange mechanism of such binding would be expected for each of the compounds of formula (I) and each of the aluminium containing adjuvants covered by the amended claims. The additional studies discussed in Annex A and Annex B merely confirm the broad applicability of the concept that the present invention is based on. For these reasons the technical effect displayed in the application as filed is credibly displayed across the whole scope of the claims, and so an inventive step must be acknowledged.

# CARPMAELS & RANSFORD

The WO comments that original claims 30 and 31 relate to subject-matter deemed to fall under the definition of Rule 39.1(iv) (i.e. a method of treatment of the human or animal body by surgery or therapy). However, we do not agree with this interpretation of the claims.

Original claim 30 (now claim 29) relates to a method of enhancing the effectiveness of an immunogenic composition (i.e. not a method of treatment of the human or animal body). Furthermore, none of the steps of the method relate to the treatment of the human or animal body. Therefore, claim 29 does not relate to excluded subject-matter under Rule 39.1(iv).

Original claim 31 (now claim 30) relates to the use of a compound for formula (I)...in the manufacture of a medicament for raising an immune response in a patient. Thus, this claim is drafted in the allowable Swiss format for claiming medical uses, and as such does not relate to excluded subject-matter under Rule 39.1(iv).

In view of the above amendments and arguments the claims are considered to comply with the requirements of the PCT with regard to novelty and inventive step. Accordingly, a favourable International preliminary report on patentability (Chapter II) is respectfully requested. If the examiner does not agree with the above arguments and intends to issue an unfavourable IPRP (Chapter II), a further opportunity to submit arguments or amendments is requested (Rule 66.4(b) PCT). In particular, a telephone discussion with the examiner under Article 34(2)(a) PCT is requested.

Yours truly,



MARSHALL, Cameron John

Carpmaels & Ransford Professional Association No. 182

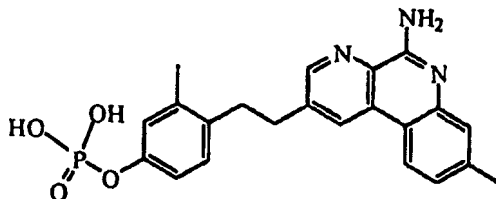
Enc: Form PCT/IPEA/401  
Amended claims (clean and tracked-changes versions)  
Annex A  
Annex B

- 000241

## ANNEX A

### Adsorption of compound 2 from PCT/IB2010/002386 to Alum (aluminum hydroxide)

**Purpose:** Compound 2 is a phosphate containing TLR7 modulator with structure shown below.



Compound 2

This evaluation studied the adsorption of this phosphate-containing compound to aluminum hydroxide.

#### **Method:**

1. **Compound 2 Solution:** 2mg of the compound was dissolved in 2mL water to prepare 1mg/mL solution. Briefly, 2mL water was added to 2mg of compound 2 and the suspension was sonicated for 10 min. 1N NaOH was added in 2 $\mu$ L increments until solution went clear; a total of 12 $\mu$ L of 1N NaOH was added. Final pH of solution was determined using a pH strip as ~10. Solution was further sonicated for 5min and maintained at room temperature.
2. **Alum Adsorption:** Alum adsorption samples were prepared with 3mg/mL aluminum hydroxide and 0.5mg/mL of compound 2 without a buffer
  - a. **Experimental:** 303 $\mu$ L of water + 197 $\mu$ L of aluminum hydroxide (15.22mg/mL, lot 1050) + 500 $\mu$ L of 1mg/mL compound 2  $\rightarrow$  rock at room temperature overnight
  - b. **Control:** 500 $\mu$ L water + 500 $\mu$ L of 1mg/mL compound 2  $\rightarrow$  rock at room temperature overnight

#### **Results:**

1. **Visual:** Upon addition of compound 2 for experimental vial, the suspension became whitish and cloudy, similar to that observed with phosphonates and fluorophosphonates (Compounds 20 and 19 disclosed in PCT/IB2010/002386)
2. **RP-HPLC:** Adsorption and recovery were determined by RP-HPLC. Standards used were 400, 40 and 4  $\mu$ g/mL; Slope was Area = 18000 x Concentration ( $\mu$ g/mL)
  - a. **Adsorption Efficiency:** 10x diluted supernatant was analyzed
    - i. **Experimental:** Area = 133708; Concentration (1x) = 74.3  $\mu$ g/mL; Efficiency = 85.1%
    - ii. **Control:** Area = 923681; Concentration (1x) = 513.2  $\mu$ g/mL; Efficiency = -2.6 % (equivalent to 0%)

- b. Recovery: 10x diluted supernatant after boiling with 0.5M Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (pH9)
- i. Experimental: Area = 931578; Concentration (1x) = 517.5 µg/mL; Recovery = 103.5%
  - ii. Control: Area = 870826; Concentration (1x) = 483.8 µg/mL; Recovery = 96.8%

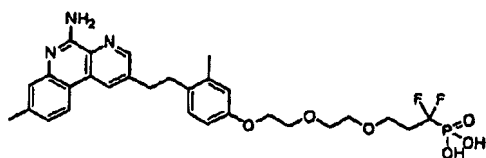
**Conclusions:**

Phosphate-containing TLR7 modulator compound 2 adsorbs to aluminum hydroxide at >80% adsorption efficiency to deliver 50 µg dose in 100 µL injection volume.

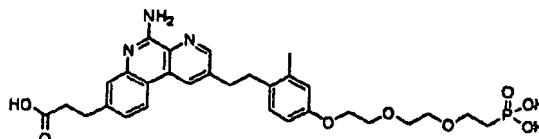
000243

**ANNEX B****Adsorption studies – aluminium phosphate**

Adsorption of compounds 6 and 20 disclosed in PCT/IB2010/002386 (formulae shown below) to an aluminium phosphate (Al-P) adjuvant was studied. The Al-P adjuvant is chemically a hydroxyphosphate salt with a  $\text{PO}_4/\text{Al}$  molar ratio of about 0.9 and a PZC about 5.7.



Compound (6)



Compound (20)

Results are as follows, showing % adsorption:

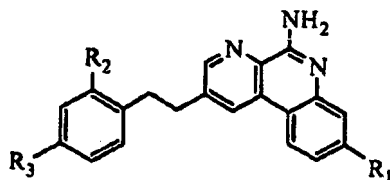
|         |      |
|---------|------|
| Cmpd 6  | 91.6 |
| Cmpd 20 | 97.4 |

Thus the compounds adsorb to Al-P with good efficiency (> 90%).

000244

**WE CLAIM:**

1. An immunogenic composition comprising (i) a compound of Formula (I), or pharmaceutically acceptable salt thereof, (ii) an antigen, and (iii) an aluminum-containing adjuvant; wherein the aluminum-containing adjuvant is selected from aluminum hydroxide, aluminum oxyhydroxide and aluminum hydroxyphosphate; and wherein the compound of Formula (I) is a TLR7 agonist:



Formula (I)

wherein:

- R<sup>1</sup> is H, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>alkyl, -C(R<sup>5</sup>)<sub>2</sub>OH, -L<sup>1</sup>R<sup>5</sup>, -L<sup>1</sup>R<sup>6</sup>, -L<sup>2</sup>R<sup>5</sup>, -L<sup>2</sup>R<sup>6</sup>, -OL<sup>2</sup>R<sup>5</sup>, or -OL<sup>2</sup>R<sup>6</sup>;
- L<sup>1</sup> is -C(O)- or -O-;
- L<sup>2</sup> is C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>alkylene, C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>alkenylene, arylene, heteroarylene or ((CR<sup>4</sup>R<sup>4</sup>)<sub>p</sub>O)<sub>q</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>p</sub>-, wherein the C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>alkylene and C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>alkenylene of L<sup>2</sup> are optionally substituted with 1 to 4 fluoro groups;
- each L<sup>3</sup> is independently selected from C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>alkylene and -((CR<sup>4</sup>R<sup>4</sup>)<sub>p</sub>O)<sub>q</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>p</sub>-, wherein the C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>alkylene of L<sup>3</sup> is optionally substituted with 1 to 4 fluoro groups;
- L<sup>4</sup> is arylene or heteroarylene;
- R<sup>2</sup> is H or C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>alkyl;
- R<sup>3</sup> is selected from C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>alkyl, -L<sup>3</sup>R<sup>5</sup>, -L<sup>1</sup>R<sup>5</sup>, -L<sup>3</sup>R<sup>7</sup>, -L<sup>3</sup>L<sup>4</sup>L<sup>3</sup>R<sup>7</sup>, -L<sup>3</sup>L<sup>4</sup>R<sup>5</sup>, -L<sup>3</sup>L<sup>4</sup>L<sup>3</sup>R<sup>5</sup>, -OL<sup>3</sup>R<sup>5</sup>, -OL<sup>3</sup>R<sup>7</sup>, -OL<sup>3</sup>L<sup>4</sup>R<sup>7</sup>, -OL<sup>3</sup>L<sup>4</sup>L<sup>3</sup>R<sup>7</sup>, -OR<sup>8</sup>, -OL<sup>3</sup>L<sup>4</sup>R<sup>5</sup>, -OL<sup>3</sup>L<sup>4</sup>L<sup>3</sup>R<sup>5</sup> and -C(R<sup>5</sup>)<sub>2</sub>OH;
- each R<sup>4</sup> is independently selected from H and fluoro;
- R<sup>5</sup> is -P(O)(OR<sup>9</sup>)<sub>2</sub>;
- R<sup>6</sup> is -CF<sub>2</sub>P(O)(OR<sup>9</sup>)<sub>2</sub> or -C(O)OR<sup>10</sup>;
- R<sup>7</sup> is -CF<sub>2</sub>P(O)(OR<sup>9</sup>)<sub>2</sub>;
- R<sup>8</sup> is H or C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>alkyl;
- each R<sup>9</sup> is independently selected from H and C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>alkyl;
- R<sup>10</sup> is H or C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>alkyl;
- each p is independently selected from 1, 2, 3, 4, 5 and 6, and
- q is 1, 2, 3 or 4;
- with the proviso that when R<sup>3</sup> is C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> alkyl or -OR<sup>8</sup>, R<sup>1</sup> is -C(R<sup>5</sup>)<sub>2</sub>OH, -L<sup>1</sup>R<sup>5</sup>, -L<sup>1</sup>R<sup>6</sup>, -L<sup>2</sup>R<sup>5</sup>, -L<sup>2</sup>R<sup>6</sup>, -OL<sup>2</sup>R<sup>5</sup>, or -OL<sup>2</sup>R<sup>6</sup>, wherein R<sup>6</sup> is -CF<sub>2</sub>P(O)(OR<sup>9</sup>)<sub>2</sub>.

2. The immunogenic composition of claim 1, wherein:

R<sup>1</sup> is C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>alkyl;

R<sup>2</sup> is C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>alkyl;

000245

- $R^3$  is  $-\text{OL}^3\text{R}^5$  or  $-\text{OL}^3\text{R}^7$ ;  
 $R^5$  is  $-\text{P}(\text{O})(\text{OH})_2$ ;  
 $R^7$  is  $-\text{CF}_2\text{P}(\text{O})(\text{OH})_2$ , and  
 $L^3$  is  $\text{C}_1\text{-C}_6$ alkylene.
3. The immunogenic composition of claim 1, wherein:  
 $R^1$  is  $\text{C}_1\text{-C}_6$ alkyl;  
 $R^2$  is  $\text{C}_1\text{-C}_6$ alkyl;  
 $R^3$  is  $-\text{OL}^3\text{R}^5$  or  $-\text{OL}^3\text{R}^7$ ;  
 $R^5$  is  $-\text{P}(\text{O})(\text{OH})_2$ ;  
 $R^7$  is  $-\text{CF}_2\text{P}(\text{O})(\text{OH})_2$ ;  
 $L^3$  is  $-\text{((CR}^4\text{R}^4)_p\text{O})_q(\text{CH}_2)_p-$ ;  
 $R^4$  is H;  
 $q$  is 1 or 2, and  
 $p$  is 2.
4. The immunogenic composition of claim 1, wherein:  
 $R^1$  is  $-\text{L}^2\text{R}^6$ ;  
 $R^2$  is  $\text{C}_1\text{-C}_6$ alkyl;  
 $R^3$  is  $-\text{OL}^3\text{R}^5$  or  $-\text{OL}^3\text{R}^7$ ;  
 $R^5$  is  $-\text{P}(\text{O})(\text{OH})_2$ ;  
 $R^6$  is  $-\text{C}(\text{O})\text{OH}$ ;  
 $R^7$  is  $-\text{CF}_2\text{P}(\text{O})(\text{OH})_2$ ;  
 $L^2$  is  $\text{C}_1\text{-C}_6$ alkylene, and  
 $L^3$  is  $\text{C}_1\text{-C}_6$ alkylene.
5. The immunogenic composition of claim 1, wherein:  
 $R^1$  is  $-\text{L}^2\text{R}^6$ ;  
 $R^2$  is  $\text{C}_1\text{-C}_6$ alkyl;  
 $R^3$  is  $-\text{OL}^3\text{R}^5$  or  $-\text{OL}^3\text{R}^7$ ;  
 $R^5$  is  $-\text{P}(\text{O})(\text{OH})_2$ ;  
 $R^6$  is  $-\text{C}(\text{O})\text{OH}$ ;  
 $R^7$  is  $-\text{CF}_2\text{P}(\text{O})(\text{OH})_2$ ;  
 $L^2$  is  $\text{C}_1\text{-C}_6$ alkylene;  
 $L^3$  is  $-\text{((CR}^4\text{R}^4)_p\text{O})_q(\text{CH}_2)_p-$ ;  
 $R^4$  is H;  
 $q$  is 1 or 2, and  
 $p$  is 2.
6. The immunogenic composition of claim 1, wherein:  
 $R^1$  is  $-\text{C}(\text{R}^5)_2\text{OH}$ ,  $-\text{L}^1\text{R}^5$ ,  $-\text{L}^2\text{R}^5$  or  $-\text{L}^1\text{R}^6$ ;  
 $R^2$  is  $\text{C}_1\text{-C}_6$ alkyl;

000246

$R^3$  is  $-OR^8$ ;

$R^8$  is  $C_1$ - $C_6$ alkyl;

$R^5$  is  $-P(O)(OH)_2$ ;

$R^6$  is  $-CF_2P(O)(OH)_2$ ;

$L^1$  is  $-C(O)-$ , and

$L^2$  is  $C_1$ - $C_6$ alkylene or  $C_2$ - $C_6$ alkenylene, each optionally substituted with 1 to 4 fluoro groups.

7. The immunogenic composition of claim 1, wherein:

$R^1$  is  $C_1$ - $C_6$ alkyl;

$R^2$  is  $C_1$ - $C_6$ alkyl;

$R^3$  is  $-OL^3L^4R^5$ ,  $-OL^3L^4L^3R^5$ , or  $-OL^3L^4L^3R^7$ ;

$R^5$  is  $-P(O)(OH)_2$ ;

$R^7$  is  $-CF_2P(O)(OH)_2$ ;

each  $L^3$  is independently a  $C_1$ - $C_6$ alkylene, and

$L^4$  is phenylene.

8. The immunogenic composition of claim 1, wherein:

$R^1$  is  $C_1$ - $C_6$ alkyl;

$R^2$  is  $C_1$ - $C_6$ alkyl;

$R^3$  is  $-C(R^5)_2OH$  or  $-L^1R^5$ ;

$R^5$  is  $-P(O)(OH)_2$ , and

$L^1$  is  $-C(O)-$  or  $-O-$ .

9. The immunogenic composition of claim 1 or claim 6, wherein  $R^8$  is methyl.

10. The immunogenic composition of any one of claims 1-3 or 7-9, wherein  $R^1$  is methyl.

11. The immunogenic composition of any one of claims 1-10, wherein  $R^2$  is methyl.

12. The immunogenic composition of claim 1, wherein the compound is selected from:

4-(4-(2-(5-amino-8-methylbenzo[f][1,7]naphthyridin-2-yl)ethyl)-3-methylphenoxy)-1,1-difluorobutylphosphonic acid;

3-(5-amino-2-(4-(4,4-difluoro-4-phosphonobutoxy)-2-

methylphenethyl)benzo[f][1,7]naphthyridin-8-yl)propanoic acid;

3-(5-amino-2-(4-(2-(3,3-difluoro-3-phosphonopropoxy)ethoxy)-2-

methylphenethyl)benzo[f][1,7]naphthyridin-8-yl)propanoic acid;

3-(5-amino-2-(2-methyl-4-(2-(2-(2-

phosphonoethoxy)ethoxy)ethoxy)phenethyl)benzo[f][1,7]naphthyridin-8-yl)propanoic acid;

4-(2-(5-amino-8-methylbenzo[f][1,7]naphthyridin-2-yl)ethyl)-3-methylphenyl dihydrogen phosphate;

(4-(2-(5-amino-8-methylbenzo[f][1,7]naphthyridin-2-yl)ethyl)-3-methylphenoxy)methylphosphonic acid;

000247

5-(4-(2-(5-amino-8-methylbenzo[f][1,7]naphthyridin-2-yl)ethyl)-3-methylphenoxy)-  
 1,1-difluoropentylphosphonic acid;  
 4-(4-(2-(5-amino-8-methylbenzo[f][1,7]naphthyridin-2-yl)ethyl)-3-methylphenoxy)-  
 1,1-difluorobutylphosphonic acid;  
 3-(2-(4-(2-(5-amino-8-methylbenzo[f][1,7]naphthyridin-2-yl)ethyl)-3-  
 methylphenoxy)ethoxy)-1,1-difluoropropylphosphonic acid;  
 2-(4-((4-(2-(5-amino-8-methylbenzo[f][1,7]naphthyridin-2-yl)ethyl)-3-  
 methylphenoxy)methyl)phenyl)-1,1-difluoroethylphosphonic acid;  
 2-(5-amino-2-(4-methoxy-2-methylphenethyl)benzo[f][1,7]naphthyridin-8-yl)-1,1-  
 difluoro-2-oxoethylphosphonic acid;  
 (E)-2-(5-amino-2-(4-methoxy-2-methylphenethyl)benzo[f][1,7]naphthyridin-8-  
 yl)vinylphosphonic acid;  
 2-(5-amino-2-(4-methoxy-2-methylphenethyl)benzo[f][1,7]naphthyridin-8-  
 yl)ethylphosphonic acid;  
 (E)-2-(5-amino-2-(4-methoxy-2-methylphenethyl)benzo[f][1,7]naphthyridin-8-yl)-1-  
 fluorovinylphosphonic acid;  
 3-((4-(2-(5-amino-8-methylbenzo[f][1,7]naphthyridin-2-yl)ethyl)-3-  
 methylphenoxy)methyl)phenylphosphonic acid;  
 5-amino-2-(4-methoxy-2-methylphenethyl)benzo[f][1,7]naphthyridine-8-  
 carbonylphosphonic acid;  
 3-(5-amino-2-(2-methyl-4-(3-  
 phosphonopropoxy)phenethyl)benzo[f][1,7]naphthyridin-8-yl)propanoic acid;  
 (4-(2-(5-amino-8-methylbenzo[f][1,7]naphthyridin-2-yl)ethyl)-3-  
 methylphenyl)(hydroxy)methylenediphosphonic acid;  
 3-(5-amino-2-(4-(2-(2-(3,3-difluoro-3-phosphonopropoxy)ethoxy)ethoxy)-2-  
 methylphenethyl)benzo[f][1,7]naphthyridin-8-yl)propanoic acid;  
 (5-amino-2-(4-methoxy-2-methylphenethyl)benzo[f][1,7]naphthyridin-8-  
 yl)(hydroxy)methylenediphosphonic acid;  
 3-(5-amino-2-(2-methyl-4-(2-(2-  
 phosphonoethoxy)ethoxy)phenethyl)benzo[f][1,7]naphthyridin-8-yl)propanoic acid;  
 2-(4-(2-(5-amino-8-methylbenzo[f][1,7]naphthyridin-2-yl)ethyl)-3-  
 methylphenoxy)ethylphosphonic acid;  
 6-(4-(2-(5-amino-8-methylbenzo[f][1,7]naphthyridin-2-yl)ethyl)-3-  
 methylphenoxy)hexylphosphonic acid;  
 6-(4-(2-(5-amino-8-methylbenzo[f][1,7]naphthyridin-2-yl)ethyl)-3-methylphenoxy)-  
 1,1-difluorohexylphosphonic acid;  
 4-((4-(2-(5-amino-8-methylbenzo[f][1,7]naphthyridin-2-yl)ethyl)-3-  
 methylphenoxy)methyl)benzylphosphonic acid,  
 2-(2-(2-(4-(2-(5-amino-8-methylbenzo[f][1,7]naphthyridin-2-yl)ethyl)-3-  
 methylphenoxy)ethoxy)ethoxy)ethylphosphonic acid.

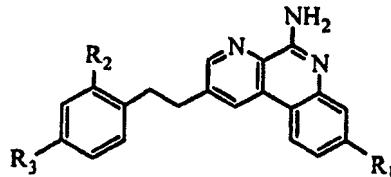
000248

3-[5-amino-2-(2-{4-[2-(3,3-difluoro-3-phosphonopropoxy)ethoxy]-2-methylphenyl}ethyl)benzo[f]1,7-naphthyridin-8-yl]propanoic acid;  
 {5-[4-(2-{5-amino-8-methylbenzo[f]1,7-naphthyridin-2-yl}ethyl)-3-methylphenoxy]pentyl}phosphonic acid, and  
 {4-[4-(2-{5-amino-8-methylbenzo[f]1,7-naphthyridin-2-yl}ethyl)-3-methylphenoxy]butyl}phosphonic acid.

13. The immunogenic composition of any one of claims 1-12, wherein the compound is present in an amount sufficient to produce an immunostimulatory effect when administered.
14. The immunogenic composition of any one of claims 1-12, wherein the compound is present in an amount effective to enhance an immune response to the antigen in a subject to whom the composition is administered.
15. The immunogenic composition of any one of claims 1-14, wherein the antigen is a bacterial antigen.
16. The immunogenic composition of claim 15, wherein the bacterial antigen is an antigen from *Neisseria meningitidis*.
17. The immunogenic composition of claim 16, wherein the antigen is a saccharide.
18. The immunogenic composition of claim 17, wherein the saccharide is from *Neisseria meningitidis* serogroup A, W135, Y or C.
19. The immunogenic composition of claim 16, wherein the antigen is a polypeptide.
20. The immunogenic composition of claim 19, wherein the polypeptide has at least 85% identity to a sequence selected from the group consisting of SEQ ID NOs: 1-6.
21. The immunogenic composition of any one of claims 1-14, wherein the antigen is a viral antigen.
22. The immunogenic composition of claim 21, wherein the viral antigen is an antigen from respiratory syncytial virus (RSV).
23. The immunogenic composition of claim 22, wherein the antigen is selected from the group consisting of F, G, M and fusion proteins thereof.
24. The immunogenic composition of any one of claims 1-23, further comprising an additional adjuvant.
25. The immunogenic composition of any one of claims 1-24, wherein the compound is present in a therapeutically effective amount and is bound to the aluminum-containing adjuvant.
26. The immunogenic composition of any one of claims 1-24, wherein the aluminum-containing adjuvant is aluminum oxyhydroxide or aluminum hydroxide.
27. The immunogenic composition of any one of claims 1-26, wherein the immunogenic composition is a solid.
28. The immunogenic composition of claim 27, wherein the immunogenic composition is a lyophilized solid.

000249

29. A method for enhancing the effectiveness of an immunogenic composition, the method comprising adding an effective amount of a compound of Formula (I), or pharmaceutically acceptable salt thereof, wherein the immunogenic composition comprises an aluminum-containing adjuvant and an antigen, wherein the aluminum-containing adjuvant is selected from aluminum hydroxide, aluminum oxyhydroxide and aluminum hydroxyphosphate, and wherein the compound of Formula (I) is a TLR7 agonist:



Formula (I)

wherein:

$R^1$  is H,  $C_1$ - $C_6$ alkyl,  $-C(R^5)_2OH$ ,  $-L^1R^5$ ,  $-L^1R^6$ ,  $-L^2R^5$ ,  $-L^2R^6$ ,  $-OL^2R^5$ , or  $-OL^2R^6$ ;

$L^1$  is  $-C(O)-$  or  $-O-$ ;

$L^2$  is  $C_1$ - $C_6$ alkylene,  $C_2$ - $C_6$ alkenylene, arylene, heteroarylene or  $((CR^4R^4)_pO)_q(CH_2)_p-$ , wherein the  $C_1$ - $C_6$ alkylene and  $C_2$ - $C_6$ alkenylene of  $L^2$  are optionally substituted with 1 to 4 fluoro groups;

each  $L^3$  is independently selected from  $C_1$ - $C_6$ alkylene and  $-((CR^4R^4)_pO)_q(CH_2)_p-$ , wherein the  $C_1$ - $C_6$ alkylene of  $L^3$  is optionally substituted with 1 to 4 fluoro groups;

$L^4$  is arylene or heteroarylene;

$R^2$  is H or  $C_1$ - $C_6$ alkyl;

$R^3$  is selected from  $C_1$ - $C_4$ alkyl,  $-L^3R^5$ ,  $-L^1R^5$ ,  $-L^3R^7$ ,  $-L^3L^4L^3R^7$ ,  $-L^3L^4R^5$ ,  $-L^3L^4L^3R^5$ ,  $-OL^3R^5$ ,  $-OL^3R^7$ ,  $-OL^3L^4R^7$ ,  $-OL^3L^4L^3R^7$ ,  $-OR^8$ ,  $-OL^3L^4R^5$ ,  $-OL^3L^4L^3R^5$  and  $-C(R^5)_2OH$ ;

each  $R^4$  is independently selected from H and fluoro;

$R^5$  is  $-P(O)(OR^9)_2$ ;

$R^6$  is  $-CF_2P(O)(OR^9)_2$  or  $-C(O)OR^{10}$ ;

$R^7$  is  $-CF_2P(O)(OR^9)_2$ ;

$R^8$  is H or  $C_1$ - $C_4$ alkyl;

each  $R^9$  is independently selected from H and  $C_1$ - $C_6$ alkyl;

$R^{10}$  is H or  $C_1$ - $C_4$ alkyl;

each p is independently selected from 1, 2, 3, 4, 5 and 6, and

q is 1, 2, 3 or 4;

with the proviso that when  $R^3$  is  $C_1$ - $C_4$  alkyl or  $-OR^8$ ,  $R^1$  is  $-C(R^5)_2OH$ ,  $-L^1R^5$ ,  $-L^1R^6$ ,  $-L^2R^5$ ,  $-L^2R^6$ ,  $-OL^2R^5$ , or  $-OL^2R^6$ , wherein  $R^6$  is  $-CF_2P(O)(OR^9)_2$

30. The use of (i) a compound of Formula (I), or pharmaceutically acceptable salt thereof, as defined in any preceding claim (ii) an antigen, and (iii) an aluminum-containing adjuvant, in the manufacture of a medicament for raising an immune response in a patient.

000250

31. A combination of (i) a compound of Formula (I), or pharmaceutically acceptable salt thereof, as defined in any preceding claim (ii) an antigen, and (iii) an aluminum-containing adjuvant, for use in a method for raising an immune response in a patient.

000251

# CARPMAELS & RANSFORD

Facsimile

EPO - Munich  
67

30. Sep. 2011

European Patent Office  
Erhardtstrasse 27  
D-80469 Munich  
Germany

**BY FACSIMILE AND MAIL**

Chartered Patent Attorneys  
European Patent Attorneys  
Trade Mark Attorneys  
Regulated by IPReg

Carpmaels & Ransford  
One Southampton Row  
London WC1B 5HA  
United Kingdom  
T +44 20 7242 8692  
F +44 20 7405 4166  
E email@carpmaels.com  
www.carpmaels.com

Fax No. 498923994465 Pages 6  
Your Ref  
Our Ref P055393WO: CJM/MXG  
Date 28th September 2011

## CONFIRMATION COPY

Dear Sirs,

Re: International Patent Application No. PCT/IB2010/002386  
NOVARTIS AG et al.

I refer to the official communication dated 5th August 2011 under Rule 66.2(c) PCT and file a response along with amendments according to Rule 66.3 PCT.

In view of the examiner's comments in the official communication with regard to claims 30 and 31, replacement pages 146 and 147 in the claims are filed herewith in which claims 30 and 31 have been amended. A clean and a tracked-changes version of the replacement pages is included to show the amendments that have been made.

Claims 30 and 31 have been amended to specify that the aluminium containing adjuvant is selected from aluminium hydroxide, aluminium oxyhydroxide and aluminium hydroxyphosphate. There is basis for this amendment in claim 26 as filed and on page 2, paragraph [7] of the application as filed.

In view of the amendment of claims 30 and 31 to specify aluminium containing adjuvants having exchangeable hydroxyl groups, these claims are considered to be allowable, in conjunction with claims 1 to 29 which were previously acknowledged as allowable.

The examiner comments that claim 29 falls under the definition of Rule 39.1(iv) (i.e. a method of treatment of the human or animal body by surgery or therapy). We do not agree with this opinion. Claim 29 relates to a manufacturing method not a method of treatment according to Rule 39.1(iv). There is no step in claim 29 which is practised on the human or animal body and the addition step relates to manufacture. Therefore, it is considered that the opinion on patentability to be issued with the International Preliminary Report on Patentability (IPRP) Chapter II can include claim 29.

000252

Keith Howick CMA, EAM, TMA  
Huw C Hallybone CMA, EAM, TMA  
Richard E Jackson CMA, EAM, TMA  
Paul N Howard CMA, EAM, TMA

Anthony C James CMA, EAM  
Bruce Cockerton CMA, EAM  
Cameron Marshall CMA, EAM  
Hugh R Goodfellow CMA, EAM

Chris Tunstall CMA, EAM  
Susan E Kirsch CMA, EAM  
Gary J Small CMA, EAM  
James Warner CMA, EAM

Rachel M Bullett CMA, EAM  
John Brunner CMA, EAM  
Mark Chapman CMA, EAM

# CARPMAELS & RANSFORD

The amendments made with the present response are made without prejudice and to advance the present proceedings.

In view of the above mentioned amendments and arguments a favourable IRPR Chapter II is respectfully requested. If the examiner has any outstanding objections, I request a telephone discussion with the examiner under Article 34(2)(a) PCT, to discuss these objections.

Yours truly,



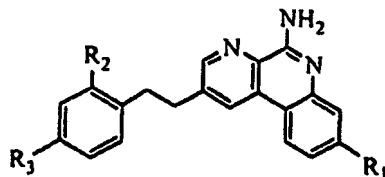
MARSHALL, Cameron John

Carpmaels & Ransford Professional Association No. 182

Enc: Replacement pages 146 and 147 in the claims (tracked and un-tracked versions)

000253  
2

29. A method for enhancing the effectiveness of an immunogenic composition, the method comprising adding an effective amount of a compound of Formula (I), or pharmaceutically acceptable salt thereof, wherein the immunogenic composition comprises an aluminum-containing adjuvant and an antigen, wherein the aluminum-containing adjuvant is selected from aluminum hydroxide, aluminum oxyhydroxide and aluminum hydroxyphosphate, and wherein the compound of Formula (I) is a TLR7 agonist:



Formula (I)

wherein:

$R^1$  is H,  $C_1$ - $C_6$ alkyl,  $-C(R^5)_2OH$ ,  $-L^1R^5$ ,  $-L^1R^6$ ,  $-L^2R^5$ ,  $-L^2R^6$ ,  $-OL^2R^5$ , or  $-OL^2R^6$ ;

$L^1$  is  $-C(O)-$  or  $-O-$ ;

$L^2$  is  $C_1$ - $C_6$ alkylene,  $C_2$ - $C_6$ alkenylene, arylene, heteroarylene or  $((CR^4R^4)_pO)_q(CH_2)_p-$ , wherein the  $C_1$ - $C_6$ alkylene and  $C_2$ - $C_6$ alkenylene of  $L^2$  are optionally substituted with 1 to 4 fluoro groups;

each  $L^3$  is independently selected from  $C_1$ - $C_6$ alkylene and  $((CR^4R^4)_pO)_q(CH_2)_p-$ , wherein the  $C_1$ - $C_6$ alkylene of  $L^3$  is optionally substituted with 1 to 4 fluoro groups;

$L^4$  is arylene or heteroarylene;

$R^2$  is H or  $C_1$ - $C_6$ alkyl;

$R^3$  is selected from  $C_1$ - $C_4$ alkyl,  $-L^3R^5$ ,  $-L^1R^5$ ,  $-L^3R^7$ ,  $-L^3L^4L^3R^7$ ,  $-L^3L^4R^5$ ,  $-L^3L^4L^3R^5$ ,  $-OL^3R^5$ ,  $-OL^3R^7$ ,  $-OL^3L^4R^7$ ,  $-OL^3L^4L^3R^7$ ,  $-OR^8$ ,  $-OL^3L^4R^5$ ,  $-OL^3L^4L^3R^5$  and  $-C(R^5)_2OH$ ;

each  $R^4$  is independently selected from H and fluoro;

$R^5$  is  $-P(O)(OR^9)_2$ ,

$R^6$  is  $-CF_2P(O)(OR^9)_2$  or  $-C(O)OR^{10}$ ;

$R^7$  is  $-CF_2P(O)(OR^9)_2$ ;

$R^8$  is H or  $C_1$ - $C_4$ alkyl;

each  $R^9$  is independently selected from H and  $C_1$ - $C_6$ alkyl;

$R^{10}$  is H or  $C_1$ - $C_4$ alkyl;

each  $p$  is independently selected from 1, 2, 3, 4, 5 and 6, and

$q$  is 1, 2, 3 or 4;

with the proviso that when  $R^3$  is  $C_1$ - $C_4$  alkyl or  $-OR^8$ ,  $R^1$  is  $-C(R^5)_2OH$ ,  $-L^1R^5$ ,  $-L^1R^6$ ,  $-L^2R^5$ ,  $-L^2R^6$ ,  $-OL^2R^5$ , or  $-OL^2R^6$ , wherein  $R^6$  is  $-CF_2P(O)(OR^9)_2$

30. The use of (i) a compound of Formula (I), or pharmaceutically acceptable salt thereof, as defined in any preceding claim (ii) an antigen, and (iii) an aluminum-containing adjuvant, wherein the aluminum-containing adjuvant is selected from aluminum hydroxide, aluminum

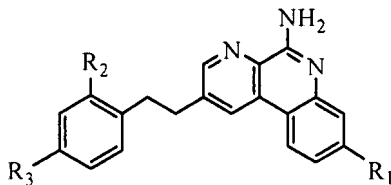
oxyhydroxide and aluminum hydroxyphosphate, in the manufacture of a medicament for raising an immune response in a patient.

31. A combination of (i) a compound of Formula (I), or pharmaceutically acceptable salt thereof, as defined in any preceding claim (ii) an antigen, and (iii) an aluminum-containing adjuvant, wherein the aluminum-containing adjuvant is selected from aluminum hydroxide, aluminum oxyhydroxide and aluminum hydroxyphosphate, for use in a method for raising an immune response in a patient.

000255

SE REIVINDICA

1. Una composición inmunogénica que comprende (i) un compuesto de Fórmula (I), ó una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, (ii) un antígeno, y (iii) un adyuvante que contiene aluminio; en donde el compuesto de Fórmula (I) es un agonista de TLR7:



Fórmula (I)

En donde:

$R^1$  es H,  $C_1$ - $C_6$  alquilo,  $-C(R^5)_2OH$ ,  $-L^1R^5$ ,  $-L^1R^6$ ,  $-L^2R^5$ ,  $-L^2R^6$ ,  $-OL^2R^5$ , ó  $-OL^2R^6$ ;

$L^1$  es  $-C(O)-$  ó  $-O-$ ;

$L^2$  es  $C_1$ - $C_6$ alquilenio,  $C_2$ - $C_6$ alquenilenio, arileno, heteroarileno ó  $((CR^4R^4)_pO)_q(CH_2)_p-$ , en donde el  $C_1$ - $C_6$ alquilenio y  $C_2$ - $C_6$ alquenilenio de  $L^2$  están opcionalmente sustituidos con 1 a 4 grupos flúor;

cada  $L^3$  es independientemente seleccionado de entre  $C_1$ - $C_6$ alquilenio y  $((CR^4R^4)_pO)_q(CH_2)_p-$ , en donde el  $C_1$ - $C_6$ alquilenio de  $L^3$  está opcionalmente sustituidos con 1 a 4 grupos flúor;

$L^4$  es arileno ó heteroarileno;

$R^2$  es H ó  $C_1$ - $C_6$ alquilo;

$R^3$  es seleccionado de entre  $C_1$ - $C_4$ alquilo,  $-L^3R^5$ ,  $-L^1R^5$ ,  $-L^3R^7$ ,  $-L^3L^4L^3R^7$ ,  $-L^3L^4R^5$ ,  $-L^3L^4L^3R^5$ ,  $-OL^3R^5$ ,  $-OL^3R^7$ ,  $-OL^3L^4R^7$ ,  $-OL^3L^4L^3R^7$ ,  $-O^8$ ,  $-OL^3L^4R^5$ ,  $-OL^3L^4L^3R^5$  y  $-C(R^5)_2OH$ ;

cada  $R^4$  es independientemente seleccionado de entre H y flúor;

$R^5$  es  $-P(O)(O^9)_2$ ,

000256

$R^6$  es  $-\text{CF}_2\text{P}(\text{O})(\text{O}^9)_2$  ó  $-\text{C}(\text{O})\text{O}^{10}$ ;

$R^7$  es  $-\text{CF}_2\text{P}(\text{O})(\text{O}^9)_2$  ó  $-\text{C}(\text{O})\text{O}^{10}$ ;

$R^8$  es H ó  $\text{C}_1\text{-C}_4$ alquilo;

cada  $R^9$  es independientemente seleccionado de entre H y  $\text{C}_1\text{-C}_6$ alquilo;

$R^{10}$  es H ó  $\text{C}_1\text{-C}_4$ alquilo;

cada p es independientemente seleccionado de entre 1, 2, 3, 4, 5 y 6, y

q es 1, 2, 3 ó 4;

con la salvedad de que cuando  $R^3$  es  $\text{C}_1\text{-C}_4$  alquilo ó  $-\text{O}^8$ ,  $R^1$  es  $-\text{C}(\text{R}^5)_2\text{OH}$ ,  $-\text{L}^1\text{R}^5$ ,  $-\text{L}^1\text{R}^6$ ,  $-\text{L}^2\text{R}^5$ ,  $-\text{L}^2\text{R}^6$ ,  $-\text{OL}^2\text{R}^5$ , ó  $-\text{OL}^2\text{R}^6$ , en donde  $R^6$  es  $-\text{CF}_2\text{P}(\text{O})(\text{O}^9)_2$ .

2. La composición inmunogénica de la reivindicación 1, en donde:

$R^1$  es  $\text{C}_1\text{-C}_6$  alquilo;

$R^2$  es  $\text{C}_1\text{-C}_6$  alquilo;

$R^3$  es  $-\text{OL}^3\text{R}^5$  ó  $-\text{OL}^3\text{R}^7$ ;

$R^5$  es  $-\text{P}(\text{O})(\text{OH})_2$ ;

$R^7$  es  $-\text{CF}_2\text{P}(\text{O})(\text{OH})_2$ , y

$\text{L}^3$  es  $\text{C}_1\text{-C}_6$  alquilenos.

3. La composición inmunogénica de la reivindicación 1, en donde:

$R^1$  es  $\text{C}_1\text{-C}_6$  alquilo;

$R^2$  es  $\text{C}_1\text{-C}_6$  alquilo;

$R^3$  es  $-\text{OL}^3\text{R}^5$  ó  $-\text{OL}^3\text{R}^7$ ;

$R^5$  es  $-\text{P}(\text{O})(\text{OH})_2$ ;

$R^7$  es  $-\text{CF}_2\text{P}(\text{O})(\text{OH})_2$ ;

$\text{L}^3$  es  $-\text{((CR}^4\text{R}^4)_p\text{O)}_q(\text{CH}_2)_p-$ ;

$R^4$  es H;

q es 1 ó 2, y

p es 2.

000257

4. La composición inmunogénica de la reivindicación 1, en donde:

$R^1$  es  $-L^2R^6$ ;

$R^2$  es  $C_1-C_6$  alquilo;

$R^3$  es  $-OL^3R^5$  ó  $-OL^3R^7$ ;

$R^5$  es  $-P(O)(OH)_2$ ;

$R^6$  es  $-C(O)OH$ ;

$R^7$  es  $-CF_2P(O)(OH)_2$ ;

$L^2$  es  $C_1-C_6$  alquilenos, y

$L^3$  es  $C_1-C_6$  alquilenos.

5. La composición inmunogénica de la reivindicación 1, en donde:

$R^1$  es  $-L^2R^6$ ;

$R^2$  es  $C_1-C_6$  alquilo;

$R^3$  es  $-OL^3R^5$  ó  $-OL^3R^7$ ;

$R^5$  es  $-P(O)(OH)_2$ ;

$R^6$  es  $-C(O)OH$ ;

$R^7$  es  $-CF_2P(O)(OH)_2$ ;

$L^2$  es  $C_1-C_6$  alquilenos;

$L^3$  es  $-((CR^4R^4)_pO)_q(CH_2)_p$ ;

$R^4$  es H;

q es 1 ó 2, y

p es 2.

6. La composición inmunogénica de la reivindicación 1, en donde:

$R^1$  es  $-C(R^5)_2OH$ ,  $-L^1R^5$ ,  $-L^2R^5$  ó  $-L^1R^6$ ;

$R^2$  es  $C_1-C_6$  alquilo;

$R^3$  es  $-O^8$ ;

$R^8$  es  $C_1-C_6$  alquilo;

$R^5$  es  $-P(O)(OH)_2$ ;

$R^6$  es  $-CF_2P(O)(OH)_2$ ;

$L^1$  es  $-C(O)-$ , y

$L^2$  es  $C_1-C_6$  alquilenos ó  $C_2-C_6$  alquilenos, cada uno están opcionalmente sustituidos con 1 a 4 grupos flúor.

000258

7. La composición inmunogénica de la reivindicación 1, en donde:

$R^1$  es  $C_1$ - $C_6$  alquilo;

$R^2$  es  $C_1$ - $C_6$  alquilo;

$R^3$  es  $-OL^3L^4R^5$   $-OL^3L^4L^3R^5$ , ó  $-OL^3L^4L^3R^7$ ;

$R^5$  es  $-P(O)(OH)_2$ ;

$R^7$  es  $-CF_2P(O)(OH)_2$ ;

cada  $L^3$  es independientemente un  $C_1$ - $C_6$ alquilenos, y

$L^4$  es fenileno.

8. La composición inmunogénica de la reivindicación 1, en donde:

$R R^1$  es  $C_1$ - $C_6$  alquilo;

$R^2$  es  $C_1$ - $C_6$  alquilo;

$R^3$  es  $-C(R^5)_2OH$  ó  $-L^1R^5$ ;

$R^5$  es  $-P(O)(OH)_2$ , y

$L^1$  es  $-C(O)-$  ó  $-O-$ .

9. La composición inmunogénica de la reivindicación 1, en donde  $R^8$  es metilo.

10. La composición inmunogénica de cualquiera de las reivindicaciones 1-3 ó 7-9, en donde  $R^1$  es metilo.

11. La composición inmunogénica de cualquiera de las reivindicaciones 1-10,  $R^2$  es metilo.

12. La composición inmunogénica de la reivindicación 1, en donde el compuesto es seleccionado entre:

ácido 4-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)-1,1-difluorobutilfosfónico;

ácido 3-(5-amino-2-(4-(4,4-difluoro-4-fosfonobutoxi)-2-metilfenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-8-il)propanoico ;

ácido 3-(5-amino-2-(4-(2-(3,3-difluoro-3-fosfonopropoxi)etoxi)-2-metilfenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-8-il)propanoico ;

000259

ácido 3-(5-amino-2-(2-metil-4-(2-(2-(2-fosfonoetoxi)etoxi)etoxi)fenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-8-il)propanoico ;

4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenil dihidrogeno fosfato;

ácido (4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)metilfosfónico ;

ácido 5-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)-1,1-difluoropentilfosfónico ;

ácido 4-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)-1,1-difluorobutilfosfónico ;

ácido 3-(2-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)etoxi)-1,1-difluoropropilfosfónico ;

ácido 2-(4-((4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)metil)fenil)-1,1-difluoroetilfosfónico ;

ácido 2-(5-amino-2-(4-metoxi-2-metilfenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-8-il)-1,1-difluoro-2-oxoetilfosfónico ;

ácido (E)-2-(5-amino-2-(4-metoxi-2-metilfenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-8-il)vinilfosfónico ;

ácido 2-(5-amino-2-(4-metoxi-2-metilfenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-8-il)etilfosfónico ;

ácido (E)-2-(5-amino-2-(4-metoxi-2-metilfenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-8-il)-1-fluorovinilfosfónico ;

ácido 3-((4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)metil)fenilfosfónico ;

ácido 5-amino-2-(4-metoxi-2-metilfenetil)benzo[f][1,7]naftiridine-8-carbonilfosfónico ;

ácido 3-(5-amino-2-(2-metil-4-(3-fosfonopropoxi)fenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-8-il)propanoico ;

ácido (4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenil)(hidroxi)metilenedifosfónico ;

000260

ácido 3-(5-amino-2-(4-(2-(2-(3,3-difluoro-3-fosfonopropoxi)etoxi)etoxi)-2-metilfenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-8-il)propanoico ;

ácido (5-amino-2-(4-metoxi-2-metilfenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-8-il)(hidroxi)metilenedifosfónico ;

ácido 3-(5-amino-2-(2-metil-4-(2-(2-fosfonoetoxi)etoxi)fenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-8-il)propanoico ;

ácido 2-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)etilfosfónico ;

ácido 6-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)hexilfosfónico ;

ácido 6-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)-1,1-difluorohexilfosfónico ;

ácido 4-((4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)metil)benzilfosfónico ,

ácido 2-(2-(2-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)etoxi)etoxi)etilfosfónico .

ácido 3-[5-amino-2-(2-{4-[2-(3,3-difluoro-3-fosfonopropoxi)etoxi]-2-metilfenil}etil)benzo[f]1,7-naftiridin-8-il)propanoico ;

ácido{5-[4-(2-{5-amino-8-metilbenzo[f]1,7-naftiridin-2-il}etil)-3-metilfenoxi]pentil}fosfónico , y

ácido{4-[4-(2-{5-amino-8-metilbenzo[f]1,7-naftiridin-2-il}etil)-3-metilfenoxi]butil}fosfónico.

13. La composición inmunogénica de cualquiera de las reivindicaciones 1-12, en donde el compuesto está presente en una cantidad suficiente para producir un efecto inmunoestimulante cuando es administrado.

14. La composición inmunogénica de cualquiera de las reivindicaciones 1-12, en donde el compuesto está presente en una cantidad efectiva para mejorar una respuesta inmune al antígeno, en un sujeto al cual se le administra la composición.

000261

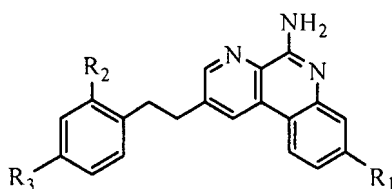
15. La composición inmunogénica de cualquiera de las reivindicaciones 1-14, en donde el antígeno es un antígeno bacteriano.
16. La composición inmunogénica de la reivindicación 15, en donde el antígeno bacteriano es un antígeno de *Neisseria meningitidis*.
17. La composición inmunogénica de la reivindicación 16, en donde el antígeno es un sacárido.
18. La composición inmunogénica de la reivindicación 17, en donde el sacárido es del serogrupo A, W135, Y ó C de *Neisseria meningitides*.
19. La composición inmunogénica de la reivindicación 16, en donde el antígeno es un polipéptido.
20. La composición inmunogénica de la reivindicación 19, en donde tiene al menos una identidad de secuencia del 85% con respecto a una secuencia seleccionada de un grupo consistente de SEQ ID NOs: 1-6.
21. La composición inmunogénica de cualquiera de las reivindicaciones 1-14, en donde el antígeno es un antígeno viral.
22. La composición inmunogénica de la reivindicación 21, en donde el antígeno viral es un antígeno de un virus sincicial respiratorio (RS).
23. La composición inmunogénica de la reivindicación 22, en donde el antígeno es seleccionado de entre un grupo que consiste en F, G, M y proteínas de fusión de las mismas.
24. La composición inmunogénica de cualquiera de las reivindicaciones 1-23, que además comprende un adyuvante adicional.
25. La composición inmunogénica de cualquiera de las reivindicaciones 1-24, en donde el compuesto está presente en cantidad terapéuticamente efectiva y está unido a un adyuvante que contiene aluminio.
26. La composición inmunogénica de cualquiera de las reivindicaciones 1-24, en donde el adyuvante que contiene aluminio es oxihidróxido de aluminio ó hidróxido de aluminio.
27. La composición inmunogénica de cualquiera de las reivindicaciones 1-26, en donde la

000262

composición inmunogénica es sólida.

28. La composición inmunogénica de la reivindicación 27, en donde la composición inmunogénica es un sólido liofilizado.

29. Un método para mejorar la efectividad de una composición inmunogénica, el método comprende adicionar una cantidad efectiva de un compuesto de Fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde la composición inmunogénica comprende un adyuvante que contiene aluminio y un antígeno, y en donde el compuesto de Fórmula (I) es una agonista de TLR7:



Fórmula (I)

en donde:

R<sup>1</sup> es H, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> alquilo, -C(R<sup>5</sup>)<sub>2</sub>OH, -L<sup>1</sup>R<sup>5</sup>, -L<sup>1</sup>R<sup>6</sup>, -L<sup>2</sup>R<sup>5</sup>, -L<sup>2</sup>R<sup>6</sup>, -OL<sup>2</sup>R<sup>5</sup>, ó -OL<sup>2</sup>R<sup>6</sup>;

L<sup>1</sup> es -C(O)- ó -O-;

L<sup>2</sup> es C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> alquilenos, C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub> alquenilenos, arilenos, heteroarilenos ó -  
((CR<sup>4</sup>R<sup>4</sup>)<sub>p</sub>O)<sub>q</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>p</sub>-, en donde el C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> alquilenos y C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub> alquenilenos de L<sup>2</sup> están  
opcionalmente sustituidos con 1 a 4 grupos flúor;

cada L<sup>3</sup> es independientemente seleccionado de entre C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> alquilenos y -  
((CR<sup>4</sup>R<sup>4</sup>)<sub>p</sub>O)<sub>q</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>p</sub>-, en donde el C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> alquilenos de L<sup>3</sup> está opcionalmente sustituidos  
con 1 a 4 grupos flúor;

L<sup>4</sup> es arileno ó heteroarileno;

R<sup>2</sup> es H ó C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> alquilo;

R<sup>3</sup> es seleccionado de entre C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> alquilo, -L<sup>3</sup>R<sup>5</sup>, -L<sup>1</sup>R<sup>5</sup>, -L<sup>3</sup>R<sup>7</sup>, -L<sup>3</sup>L<sup>4</sup>L<sup>3</sup>R<sup>7</sup>, -L<sup>3</sup>L<sup>4</sup>R<sup>5</sup>, -  
L<sup>3</sup>L<sup>4</sup>L<sup>3</sup>R<sup>5</sup>, -OL<sup>3</sup>R<sup>5</sup>, -OL<sup>3</sup>R<sup>7</sup>, -OL<sup>3</sup>L<sup>4</sup>R<sup>7</sup>, -OL<sup>3</sup>L<sup>4</sup>L<sup>3</sup>R<sup>7</sup>, -Ó<sup>8</sup>, -OL<sup>3</sup>L<sup>4</sup>R<sup>5</sup>, -OL<sup>3</sup>L<sup>4</sup>L<sup>3</sup>R<sup>5</sup> y -  
C(R<sup>5</sup>)<sub>2</sub>OH ;

000263

cada  $R^4$  es independientemente seleccionado de entre H y flúor;

$R^5$  es  $-P(O)(O^9)_2$ ,

$R^6$  es  $-CF_2P(O)(O^9)_2$  ó  $-C(O)O^{10}$ ;

$R^7$  es  $-CF_2P(O)(O^9)_2$  ó  $-C(O)O^{10}$ ;

$R^8$  es H ó  $C_1$ - $C_4$ alquilo;

cada  $R^9$  es independientemente seleccionado de entre H y  $C_1$ - $C_6$  alquilo;

$R^{10}$  es H ó  $C_1$ - $C_4$  alquilo;

cada p es independientemente seleccionado de entre 1, 2, 3, 4, 5 y 6, y

q es 1, 2, 3 ó 4;

con la salvedad de que cuando  $R^3$  es  $C_1$ - $C_4$  alquilo ó  $-O^8$ ,  $R^1$  es  $-C(R^5)_2OH$ ,  $-L^1R^5$ ,  $-L^1R^6$ ,  $-L^2R^5$ ,  $-L^2R^6$ ,  $-OL^2R^5$ , ó  $-OL^2R^6$ , en donde  $R^6$  es  $-CF_2P(O)(O^9)_2$ .

**30.** El uso de (i) un compuesto de Fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, como fue definido en cualquiera de las reivindicaciones anteriores (ii) un antígeno, y (iii) un adyuvante que contiene aluminio; en la fabricación de un medicamento para aumentar la respuesta inmune en un paciente.

**31.** Una combinación de (i) un compuesto de Fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, como fue definido en cualquiera de las reivindicaciones anteriores (ii) un antígeno, y (iii) un adyuvante que contiene aluminio; para su uso en un método para aumentar la respuesta inmune en un paciente.

000264



No. 12-055287- -00000-0000

Fecha: 2012-04-02 16:16:19 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR  
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 379 FASENACIONALII  
Act. 411 PRESENTACION Folios: 264

LISTA DE CHEQUEO  
ADMISIÓN A TRÁMITE – NUEVAS CREACIONES

PATENTE DE INVENCION ☐

MODELO DE UTILIDAD ☐

Art 33 Decisión 486/00

|                                   |                                                                                     |
|-----------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|
| <input type="checkbox"/>          | Indicación que se solicita una patente.                                             |
| <input type="checkbox"/>          | Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud   |
| <input type="checkbox"/>          | Descripción de la invención                                                         |
| <input type="checkbox"/>          | Dibujos de ser estos pertinentes                                                    |
| <input type="checkbox"/>          | Comprobante de pago de las tasas establecidas (De ser el caso formato de descuento) |
| Completa <input type="checkbox"/> | Incompleta <input type="checkbox"/>                                                 |

~~PATENTE DE INVENCION PCT ☒~~

~~MODELO DE UTILIDAD PCT ☒~~

Art.33 Decisión 486/00, Circular Única

|                                                         |                                                                                                                                    |
|---------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <del><input type="checkbox"/></del>                     | <del>Indicación que se solicita una PCT</del>                                                                                      |
| <del><input type="checkbox"/></del>                     | <del>Copia de la solicitud en español, tal como fue presentada inicialmente (capítulo descriptivo, reivindicatorio, resumen)</del> |
| <del><input type="checkbox"/></del>                     | <del>Dibujos de ser estos pertinentes</del>                                                                                        |
| <del><input type="checkbox"/></del>                     | <del>Comprobante de pago de las tasas establecidas (de ser el caso formato de descuento)</del>                                     |
| <del>Completa <input checked="" type="checkbox"/></del> | <del>Incompleta <input type="checkbox"/></del>                                                                                     |

DISEÑO INDUSTRIAL ☐

(Art. 119 Decisión 486/00)

|                                   |                                                                                                           |
|-----------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <input type="checkbox"/>          | Indicación que se solicita Diseño industrial                                                              |
| <input type="checkbox"/>          | Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud                         |
| <input type="checkbox"/>          | Representación gráfica y fotográfica del Diseño industrial o muestra del material que incorpora el diseño |
| <input type="checkbox"/>          | Comprobante de pago de las tasas establecidas                                                             |
| Completa <input type="checkbox"/> | Incompleta <input type="checkbox"/>                                                                       |

ESQUEMA DE TRAZADO ☐

(Art. 92 Decisión 486/00)

|                                   |                                                                                   |
|-----------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|
| <input type="checkbox"/>          | Indicación que se solicita un esquema de trazado                                  |
| <input type="checkbox"/>          | Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud |
| <input type="checkbox"/>          | Representación gráfica de un esquema de trazado                                   |
| <input type="checkbox"/>          | Comprobante de pago de las tasas establecidas                                     |
| Completa <input type="checkbox"/> | Incompleta <input type="checkbox"/>                                               |