

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 525 826**

51 Int. Cl.:

**C07D 473/18** (2006.01)

**A61K 31/522** (2006.01)

**A61P 29/00** (2006.01)

**A61P 31/00** (2006.01)

**A61P 35/00** (2006.01)

**A61P 37/08** (2006.01)

**A61P 11/06** (2006.01)

12

## TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **08.02.2011 E 11709025 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **15.10.2014 EP 2534149**

54 Título: **Maleato de 6-amino-2-[[1-(1s)-1-metilbutil]-oxi]-9-[5-(1-piperidinil)pentil]-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona**

30 Prioridad:

**10.02.2010 US 303010 P**

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

**30.12.2014**

73 Titular/es:

**GLAXOSMITHKLINE LLC (100.0%)  
Corporation Service Company, 2711 Centreville  
Road, Suite 400  
Wilmington, Delaware 19808, US**

72 Inventor/es:

**GIBBON, ROBERT HERMANN;  
LUCAS, AMANDA y  
HERMITAGE, STEPHEN ANDREW**

74 Agente/Representante:

**CARPINTERO LÓPEZ, Mario**

**ES 2 525 826 T3**

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

## DESCRIPCIÓN

Maleato de 6-amino-2-[[1s]-1-metilbutil]-oxi]-9-[5-(1-piperidinil)pentil]-7,9-dihidro-8h-purin-8-ona

**Antecedentes de la Invención**

5 La presente invención se refiere a compuestos, a procesos para su preparación, a composiciones que los contienen, a su uso en el tratamiento de diversos trastornos, en particular enfermedades alérgicas y otras afecciones inflamatorias, por ejemplo, rinitis alérgica y asma, enfermedades infecciosas, cáncer, y como adyuvantes de vacunas.

10 Los vertebrados son constantemente amenazados por la invasión de microorganismos, y han evolucionado mecanismos de defensa inmunitaria para eliminar los patógenos infecciosos. En los mamíferos, este sistema inmunológico comprende dos ramificaciones; inmunidad innata e inmunidad adquirida. La primera línea de defensa del huésped es el sistema inmunológico innato, el cual es mediado por los macrófagos y las células dendríticas. La inmunidad adquirida involucra la eliminación de los patógenos en las etapas tardías de la infección y también hace posible la generación de la memoria inmunológica. La inmunidad adquirida es altamente específica, debido al vasto repertorio de linfocitos con receptores específicos del antígeno que han experimentado una reconfiguración de los genes.

15 Originalmente se pensaba que la respuesta inmunitaria innata no era específica, pero ahora se sabe que es capaz de discriminar entre los patógenos propios y una variedad de patógenos. El sistema inmunológico innato reconoce los microbios por medio de un número limitado de receptores de reconocimiento del patrón (PRRs) codificados por la línea germinal, los cuales tienen un número de características importantes.

20 Los receptores tipo Toll (TLRs) son una familia de diez receptores de reconocimiento de patrón (PRRs) descritos en el hombre. Los receptores tipo Toll (TLRs) son expresados predominantemente por las células inmunes innatas en donde su función es monitorear el medio ambiente para detectar los signos de infección y, sobre su activación, movilizar los mecanismos de defensa que tienen como objetivo la eliminación de los patógenos invasores. Las respuestas inmunitarias innatas tempranas desencadenadas por los receptores tipo Toll (TLRs) limitan la propagación de la infección, mientras que las citoquinas pro-inflamatorias y las quimiocinas que inducen, conducen al reclutamiento y la activación de las células presentadoras de antígeno, las células-B, y las células-T. Los receptores tipo Toll (TLRs) pueden modular la naturaleza de las respuestas inmunitarias adaptables para dar una protección apropiada por medio de la activación de las células dendríticas y la liberación de citoquina (Akira S. y colaboradores, Nat. Immunol., 2001: 2, 675-680). El perfil de la respuesta que se ve de los diferentes agonistas de los receptores tipo Toll (TLRs) depende del tipo de célula activada.

30 TLR7 es un miembro del subgrupo de receptores tipo Toll (TLRs) (TLRs 3, 7, 8, y 9), localizado en el compartimiento endosomal de las células que se han llegado a especializar para detectar los ácidos nucleicos no propios. TLR7 tiene una función clave en la defensa anti-viral por medio del reconocimiento del ssARN (Diebold S.S. y colaboradores, Science, 2004: 303, 1529-1531; y Lund J. M. y colaboradores, PNAS, 2004: 101, 5598-5603). El TLR7 tiene un perfil de expresión restringido en el hombre, y es expresado predominantemente por las células-B y las células dendríticas plasmacitoides (pDCs), y hasta un menor grado, por los monocitos. Las células dendríticas plasmacitoides (pDCs) son una población única de células dendríticas derivadas de linfoides (del 0,2 al 0,8 por ciento de células mononucleares de sangre periférica (PBMC)), que son las células productoras de interferón tipo I primarias que secretan altos niveles de interferón-alfa (IFN $\alpha$ ) y de interferón-beta (IFN $\beta$ ) en respuesta a las infecciones virales (Liu Y-J, Annu. Rev. Immunol., 2005: 23, 275-306).

40 Las enfermedades alérgicas están asociadas con una respuesta inmunitaria sesgada por Th2 a los alérgenos. Las respuestas de Th2 están asociadas con niveles elevados de IgE, que, por medio de sus efectos sobre los mastocitos, promueve una hipersensibilidad a los alérgenos, lo cual da como resultado los síntomas que se ven, por ejemplo, en la rinitis alérgica. En los individuos sanos, la respuesta inmunitaria a los alérgenos está más equilibrada con una respuesta mixta de Th2/Th1 y de células-T reguladoras. Se ha demostrado que los ligandos de TLR7 reducen la citoquina Th2 y mejoran la liberación de la citoquina Th1 in vitro, y mitigan las respuestas inflamatorias de tipo Th2 en los modelos alérgicos de pulmón in vivo (Fili L. y colaboradores, J. All. Clin. Immunol., 2006: 118, 511-517; Moisan J. y colaboradores, Am. J. Physiol. Pulmón Cell Mol. Physiol., 2006: 290, L987-995; Tao y colaboradores, Chin. Med. J., 2006: 119, 640-648). Por consiguiente, los ligandos de TLR7 tienen el potencial para reequilibrar la respuesta inmunitaria que se ve en los individuos alérgicos, y conducen a la modificación de la enfermedad.

50 Centrales para la generación de una respuesta inmunitaria innata efectiva en los mamíferos, son los mecanismos que provocan la inducción de interferones y de otras citoquinas que actúan sobre las células con el objeto de inducir un número de efectos. Estos efectos pueden incluir la activación de la expresión genética anti-infecciosa, la activación de la presentación del antígeno en las células para impulsar una fuerte inmunidad específica del antígeno y la promoción de la fagocitosis en las células fagocíticas.

El interferón fue primeramente descrito como una sustancia que podría proteger a las células de la infección viral (Isaacs y Lindemann, J. Virus Interference. Proc. R. Soc. Lon. Ser. B. Biol. Sci. 1957: 147, 258-267). En el hombre, los interferones tipo I son una familia de proteínas relacionadas codificadas por los genes sobre el cromosoma 9, y que codifican cuando menos 13 isoformas del interferón alfa (IFN $\alpha$ ), y una isoforma del interferón beta (IFN $\beta$ ). El IFN $\alpha$  recombinante fue el primer producto terapéutico biológico aprobado, y ha llegado a ser una terapia importante en las infecciones virales y en el cáncer. Así como la actividad anti-viral directa sobre las células, los interferones son conocidos como potentes moduladores de la respuesta inmunitaria, actuando sobre las células del sistema inmunológico.

Como una terapia de primera línea para la enfermedad por el virus de hepatitis C (HCV), las combinaciones de interferones pueden ser altamente efectivas para reducir la carga viral y, en algunos sujetos, para eliminar la réplica viral. Sin embargo, muchos pacientes fracasan para mostrar una respuesta viral sostenida y, en estos pacientes, no se controla la carga viral. Adicionalmente, la terapia con interferón inyectado se puede asociar con un número de efectos adversos indeseados, los cuales han demostrado que afectan al cumplimiento (Dudley T. y colaboradores, Gut., 2006: 55(9), 1362-3).

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

En los modelos animales, el imiquimod demostró actividades adyuvantes ya sea tópicamente (Adams S. y colaboradores, J. Immunol., 2008, 181: 776-84; Johnston D. y colaboradores, Vaccine, 2006, 24: 1958-65), o bien sistémicamente (Fransen F. y colaboradores, Infect. Immun., 2007, 75: 5939-46). También se ha demostrado que el resiquimod y otros agonistas de TLR7/8 relacionados exhiben una actividad adyuvante (Ma R. y colaboradores, Biochem. Biophys. Res. Commun., 2007, 361: 537-42; Wille-Reece U. y colaboradores, Proc. Natl. Acad. Sci. EUA, 2005, 102: 15190-4; Wille-Reece U. y colaboradores, Patente de los Estados Unidos de Norteamérica Número US2006045885 A1).

Los mecanismos que conducen a la inducción de los interferones tipo I son entendidos sólo parcialmente. Un mecanismo que puede conducir a la inducción del interferón en muchos tipos de células, es el reconocimiento de ARN viral de doble cadena por parte de las helicasas de ARN RIG-I y MDA5. Se piensa que este mecanismo es el mecanismo primario mediante el cual los interferones son inducidos por la infección de las células por el virus Sendai.

Otros mecanismos para la inducción de los interferones son por medio de los eventos de señalización dependientes de los receptores tipo Toll (TLRs). En el hombre, las células dendríticas plasmacitoides (pDCs) son las células productoras de interferón profesionales, capaces de elaborar grandes cantidades de interferones en respuesta a, por ejemplo, la infección viral. Se muestra que estas células dendríticas plasmacitoides (pDCs) expresan preferencialmente TLR7 y TLR9, y la estimulación de estos receptores con ARN o ADN viral, respectivamente, puede inducir la expresión del interferón alfa.

Se han descrito los agonistas de oligonucleótidos de TLR7 y TLR9 y los agonistas basados en purina de molécula pequeña de TLR7, los cuales pueden inducir el interferón alfa a partir de estos tipos de las células en animales y en el hombre (Takeda K. y colaboradores, Annu. Rev. Immunol., 2003: 21, 335-76). Los agonistas de TLR7 incluyen los compuestos de imidazoquinolina, tales como imiquimod y resiquimod, los análogos de oxoadenina y también los análogos de nucleósidos, tales como loxoribina y 7-tia-8-oxoguanosina, los cuales han sido conocidos durante mucho tiempo por inducir el interferón alfa. La Publicación de la Solicitud Internacional de Patente Número WO 2008/114008 (AstraZeneca AB/Dainippon Sumitomo Pharma Co. Ltd.) da a conocer compuestos de oxoadenina 9-sustituidos como moduladores de TLR7,

Sigue siendo poco clara la manera en la cual los compuestos de tipo purina de molécula pequeña pueden inducir los interferones tipo I y otras citoquinas, debido a que no se han identificado los objetivos moleculares de estos inductores conocidos. Sin embargo, se ha desarrollado una estrategia de ensayo para caracterizar los inductores de molécula pequeña del interferón humano IFN $\alpha$  (independientemente del mecanismo), la cual se basa en la estimulación de las células donadoras humanas primarias con los compuestos, y se da a conocer en la presente.

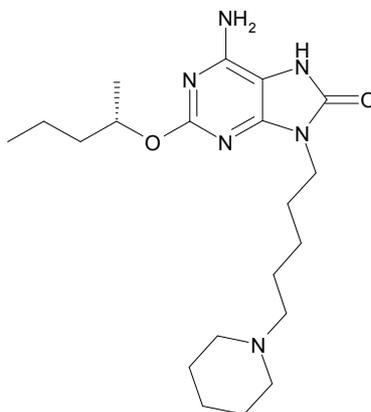
**Breve descripción de la Invención** El compuesto de 6-amino-2-[[[(1S)-1-metil-butil]-oxi]-9-[5-(1-piperidinil)-pentil]-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona, el cual se da a conocer en la Solicitud Internacional Número PCT/EP2009/060265, publicada como Documento WO2010/018133, esa mostrado ser un inductor del interferón humano, y puede poseer un perfil

mejorado con respecto a los inductores del interferón humano conocidos, por ejemplo, una mayor potencia, y puede mostrar una mejor selectividad por el IFN $\alpha$  con respecto al TNF $\alpha$ . Se espera que la 6-amino-2-[[1(S)-1-metil-butil]-oxi]-9-[5-(1-piperidinil)-pentil]-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona, en la forma de una sal de maleato, será más fácilmente formulada y/o procesada y/o manejada. Por ejemplo, la pureza de la 6-amino-2-[[1(S)-1-metil-butil]-oxi]-9-[5-(1-piperidinil)-pentil]-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona se puede mejorar por medio de la formación y/o recristalización de una sal de maleato, y/o su estabilidad se puede mejorar vis-à-vis la base libre. La 6-amino-2-[[1(S)-1-metil-butil]-oxi]-9-[5-(1-piperidinil)-pentil]-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona, la cual induce el interferón humano, puede ser útil en el tratamiento de diversos trastornos, por ejemplo, en el tratamiento de enfermedades alérgicas y de otras afecciones inflamatorias, por ejemplo, rinitis alérgica y asma, en el tratamiento de enfermedades infecciosas y cáncer, y también puede ser útil como un adyuvante de vacuna. Se espera que la 6-amino-2-[[1(S)-1-metil-butil]-oxi]-9-[5-(1-piperidinil)-pentil]-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona, en la forma de una sal de maleato, tendrá propiedades farmacológicas similares.

La 6-amino-2-[[1(S)-1-metil-butil]-oxi]-9-[5-(1-piperidinil)-pentil]-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona es un potente inmunomodulador y, de conformidad con lo anterior, se debe tener cuidado en su manejo.

### Sumario de la Invención

En un primer aspecto, se proporciona un compuesto que es la 6-amino-2-[[1(S)-1-metil-butil]-oxi]-9-[5-(1-piperidinil)-pentil]-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona:



en la forma de una sal de maleato.

Además, se proporciona la 6-amino-2-[[1(S)-1-metil-butil]-oxi]-9-[5-(1-piperidinil)-pentil]-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona, en la forma de una sal de maleato, en donde la proporción del anión de maleato a la 6-amino-2-[[1(S)-1-metil-butil]-oxi]-9-[5-(1-piperidinil)-pentil]-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona es de 1:1,

Por lo tanto, se proporciona, como un aspecto adicional de la invención, un compuesto que es la 6-amino-2-[[1(S)-1-metil-butil]-oxi]-9-[5-(1-piperidinil)-pentil]-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona, en la forma de una sal de maleato, para utilizarse en terapia.

Por consiguiente, también se proporciona un compuesto que es la 6-amino-2-[[1(S)-1-metil-butil]-oxi]-9-[5-(1-piperidinil)-pentil]-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona, en la forma de una sal de maleato, para utilizarse en el tratamiento de enfermedades alérgicas y de otras afecciones inflamatorias, enfermedades infecciosas, y cáncer.

Por consiguiente, también se proporciona un compuesto que es la 6-amino-2-[[1(S)-1-metil-butil]-oxi]-9-[5-(1-piperidinil)-pentil]-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona, en la forma de una sal de maleato, para utilizarse en el tratamiento de rinitis alérgica.

Por consiguiente, también se proporciona un compuesto que es la 6-amino-2-[[1(S)-1-metil-butil]-oxi]-9-[5-(1-piperidinil)-pentil]-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona, en la forma de una sal de maleato, para utilizarse en el tratamiento de asma.

Por consiguiente, también se proporciona un adyuvante de vacuna, el cual comprende un compuesto que es la 6-amino-2-[[1(S)-1-metil-butil]-oxi]-9-[5-(1-piperidinil)-pentil]-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona, en la forma de una sal de maleato.

Además se proporciona una composición inmunogénica que comprende un antígeno o una composición de antígeno y un compuesto que es la 6-amino-2-[[1(S)-1-metil-butil]-oxi]-9-[5-(1-piperidinil)-pentil]-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona, en la forma de una sal de maleato.

Además se proporciona una composición de vacuna que comprende un antígeno o una composición de antígeno y un compuesto que es la 6-amino-2-[[[(1S)-1-metil-butil]-oxi]-9-[5-(1-piperidinil)-pentil]-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona, en la forma de una sal de maleato.

5 Además se proporciona el uso de un compuesto que es la 6-amino-2-[[[(1S)-1-metil-butil]-oxi]-9-[5-(1-piperidinil)-pentil]-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona, en la forma de una sal de maleato, para la elaboración de una composición inmunogénica que comprende un antígeno o una composición de antígeno, para el tratamiento o la prevención de enfermedades.

Además se proporciona el uso de un compuesto que es la 6-amino-2-[[[(1S)-1-metil-butil]-oxi]-9-[5-(1-piperidinil)-pentil]-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona, en la forma de una sal de maleato, para la elaboración de una composición de vacuna que comprende un antígeno o una composición de antígeno, para el tratamiento o la prevención de enfermedades.

10 Además se proporciona el uso de un compuesto que es la 6-amino-2-[[[(1S)-1-metil-butil]-oxi]-9-[5-(1-piperidinil)-pentil]-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona, en la forma de una sal de maleato, para la elaboración de un medicamento para el tratamiento de las enfermedades alérgicas y otras afecciones inflamatorias, enfermedades infecciosas, y cáncer.

15 Además se proporciona el uso de un compuesto que es la 6-amino-2-[[[(1S)-1-metil-butil]-oxi]-9-[5-(1-piperidinil)-pentil]-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona, en la forma de una sal de maleato, para la elaboración de un medicamento para el tratamiento de rinitis alérgica.

Además se proporciona el uso de un compuesto que es la 6-amino-2-[[[(1S)-1-metil-butil]-oxi]-9-[5-(1-piperidinil)-pentil]-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona, en la forma de una sal de maleato, para la elaboración de un medicamento para el tratamiento de asma.

20 La invención proporciona, en un aspecto adicional, una combinación que comprende un compuesto que es la 6-amino-2-[[[(1S)-1-metil-butil]-oxi]-9-[5-(1-piperidinil)-pentil]-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona, en la forma de una sal de maleato, junto con cuando menos otro agente terapéuticamente activo.

Además se proporciona una composición farmacéutica, la cual comprende un compuesto que es la 6-amino-2-[[[(1S)-1-metil-butil]-oxi]-9-[5-(1-piperidinil)-pentil]-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona, en la forma de una sal de maleato, y uno o más diluyentes o vehículos farmacéuticamente aceptables.

25 También se proporciona un proceso para la preparación de una composición farmacéutica, el cual comprende mezclar un compuesto que es la 6-amino-2-[[[(1S)-1-metil-butil]-oxi]-9-[5-(1-piperidinil)-pentil]-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona, en la forma de una sal de maleato, con uno o más diluyentes o vehículos farmacéuticamente aceptables.

30 La 6-amino-2-[[[(1S)-1-metil-butil]-oxi]-9-[5-(1-piperidinil)-pentil]-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona, y las sales de la misma, se puede preparar mediante la metodología descrita en la Solicitud Provisional US Número 61/087777 y en la Solicitud Internacional Número PCT/EP2009/ 060265, publicada como WO2010/018133, incorporada a la presente por referencia.

### **Descripción detallada de la invención**

35 Se apreciará que muchos compuestos orgánicos pueden formar complejos con los disolventes en los que se hacen reaccionar o a partir de los cuales se precipitan o se cristalizan. Estos complejos son conocidos como "solvatos". Por ejemplo, un complejo con agua se conoce como un "hidrato". Los disolventes con altos puntos de ebullición y/o los disolventes con una alta propensión a formar enlaces de hidrógeno, tales como agua, etanol, alcohol isopropílico, y N-metil-pirrolidinona, se pueden utilizar para formar solvatos. Los métodos para la identificación de los solvatos incluyen, pero no se limitan a, RMN y microanálisis. Los solvatos de la 6-amino-2-[[[(1S)-1-metil-butil]-oxi]-9-[5-(1-piperidinil)-pentil]-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona, en la forma de una sal de maleato, están dentro del ámbito de la invención.

40 Se apreciará que la 6-amino-2-[[[(1S)-1-metil-butil]-oxi]-9-[5-(1-piperidinil)-pentil]-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona estará presente primordialmente en la forma del isómero-S, pero puede incluir pequeñas cantidades, por ejemplo, menos del 5 por ciento, o menos del 3 por ciento, y de preferencia menos del 1 por ciento, o de preferencia menos del 0,5 por ciento del isómero-R. Se apreciará que las sales de maleato de estas mezclas se consideran dentro del alcance de la presente invención.

45 La 6-amino-2-[[[(1S)-1-metil-butil]-oxi]-9-[5-(1-piperidinil)-pentil]-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona, en la forma de una sal de maleato, puede existir en formas tautoméricas. Se entenderá que la presente invención abarca todos los tautómeros de la 6-amino-2-[[[(1S)-1-metil-butil]-oxi]-9-[5-(1-piperidinil)-pentil]-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona, en la forma de una sal de maleato, ya sea como los tautómeros individuales, o bien como mezclas de los mismos.

50 La 6-amino-2-[[[(1S)-1-metil-butil]-oxi]-9-[5-(1-piperidinil)-pentil]-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona, en la forma de una sal de maleato, puede estar en una forma cristalina o amorfa. Adicionalmente, algunas de las formas cristalinas de la 6-amino-

2-[[[1S]-1-metil-butil]-oxi]-9-[5-(1-piperidinil)-pentil]-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona, en la forma de una sal de maleato, pueden existir como polimorfos, los cuales se incluyen dentro del alcance de la presente invención. Son de un interés particular la forma o las formas polimórficas más termodinámicamente estables.

5 Las formas polimórficas de la 6-amino-2-[[[1S]-1-metil-butil]-oxi]-9-[5-(1-piperidinil)-pentil]-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona, en la forma de una sal de maleato, se pueden caracterizar y diferenciar utilizando un número de técnicas analíticas convencionales, incluyendo, pero no limitándose a, difracción en polvo de rayos-X (XRPD), espectroscopía infrarroja (IR), espectroscopía Raman, calorimetría de exploración diferencial (DSC), análisis termogravimétrico (TGA), y resonancia magnética nuclear en estado sólido (ssRMN).

10 Se apreciará a partir de lo anterior que, dentro del alcance de la invención, se incluyen los solvatos, hidratos, isómeros y las formas polimórficas de la 6-amino-2-[[[1S]-1-metil-butil]-oxi]-9-[5-(1-piperidinil)-pentil]-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona, en la forma de una sal de maleato.

15 Los ejemplos de los estados de enfermedad en donde la 6-amino-2-[[[1S]-1-metil-butil]-oxi]-9-[5-(1-piperidinil)-pentil]-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona, en la forma de una sal de maleato, puede tener efectos potencialmente benéficos, incluyen las enfermedades alérgicas y otras afecciones inflamatorias, por ejemplo, rinitis alérgica y asma, enfermedades infecciosas, y cáncer. La 6-amino-2-[[[1S]-1-metil-butil]-oxi]-9-[5-(1-piperidinil)-pentil]-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona, en la forma de una sal de maleato, también es de uso potencial como un adyuvante de vacuna.

20 Como un modulador de la respuesta inmunitaria, la 6-amino-2-[[[1S]-1-metil-butil]-oxi]-9-[5-(1-piperidinil)-pentil]-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona, en la forma de una sal de maleato, también puede ser útil, de una manera independiente o en combinación como un adyuvante, en el tratamiento y/o en la prevención de los trastornos inmunológicamente mediados, incluyendo, pero no limitándose a, las enfermedades inflamatorias o alérgicas, tales como asma, rinitis alérgica y rinoconjuntivitis, alergia a alimentos, enfermedades pulmonares por hipersensibilidad, neumonitis eosinofílica, trastornos de hipersensibilidad de tipo retardado, aterosclerosis, pancreatitis, gastritis, colitis, osteoartritis, soriasis, sarcoidosis, fibrosis pulmonar, síndrome de insuficiencia respiratoria, bronquiolitis, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, sinusitis, fibrosis quística, queratosis actínica, displasia de piel, urticaria crónica, eczema, y todos los tipos de dermatitis.

25 La 6-amino-2-[[[1S]-1-metil-butil]-oxi]-9-[5-(1-piperidinil)-pentil]-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona, en la forma de una sal de maleato, también puede ser útil en el tratamiento y/o en la prevención de las reacciones contra las infecciones respiratorias, incluyendo, pero no limitándose a, exacerbaciones virales de las vías respiratorias y tonsilitis. La 6-amino-2-[[[1S]-1-metil-butil]-oxi]-9-[5-(1-piperidinil)-pentil]-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona, en la forma de una sal de maleato, también puede ser útil en el tratamiento y/o en la prevención de las enfermedades autoinmunes, incluyendo, pero no limitándose a, artritis reumatoide, artritis psoriásica, lupus eritematoso sistémico, enfermedad de Sjögrens, espondilitis anquilosante, esclerodemia, dermatomiositis, diabetes, rechazo de injerto, incluyendo la enfermedad del injerto contra el huésped, enfermedades inflamatorias del intestino, incluyendo, pero no limitándose a, enfermedad de Crohn y colitis ulcerosa.

35 La 6-amino-2-[[[1S]-1-metil-butil]-oxi]-9-[5-(1-piperidinil)-pentil]-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona, en la forma de una sal de maleato, también puede ser útil en el tratamiento de las enfermedades infecciosas, incluyendo, pero no limitándose a, aquellas causadas por los virus de hepatitis (por ejemplo, virus de hepatitis B, virus de hepatitis C), virus de inmunodeficiencia humana, virus de papiloma, virus de herpes, virus respiratorios (por ejemplo, virus de influenza, virus sincicial respiratorio, rinovirus, metaneumovirus, virus de parainfluenza, SARS), y virus West Nile. La 6-amino-2-[[[1S]-1-metil-butil]-oxi]-9-[5-(1-piperidinil)-pentil]-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona, en la forma de una sal de maleato, también puede ser útil en el tratamiento de infecciones microbianas causadas, por ejemplo, por bacterias, hongos, o protozoarios. Éstas incluyen, pero no se limitan a, tuberculosis, neumonía bacteriana, aspergilosis, histoplasmosis, candidiasis, neumocistosis, lepra, clamidia, enfermedad criptocócica, criptosporidiosis, toxoplasmosis, leishmania, malaria, y tripanosomiasis.

40 La 6-amino-2-[[[1S]-1-metil-butil]-oxi]-9-[5-(1-piperidinil)-pentil]-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona, en la forma de una sal de maleato, también puede ser útil en el tratamiento de diferentes cánceres, en particular en el tratamiento de los cánceres que se sepa que responden a la inmunoterapia, e incluyendo, pero no limitándose a, carcinoma de células renales, cáncer de pulmón, cáncer de mama, cáncer colo-rectal, cáncer de vejiga, melanoma, leucemia, linfomas y cáncer de ovario.

45 Será apreciado por los expertos en la materia que las referencias en la presente al tratamiento o a la terapia, dependiendo de la condición, se extienden a la profilaxis, así como al tratamiento de condiciones establecidas.

50 Como se menciona en la presente, la 6-amino-2-[[[1S]-1-metil-butil]-oxi]-9-[5-(1-piperidinilo) pentil]-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona, en la forma de una sal de maleato, puede ser útil como un agente terapéutico.

La 6-amino-2-[[[1S]-1-metil-butil]-oxi]-9-[5-(1-piperidinil)-pentil]-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona, en la forma de una sal de maleato, se puede formular para su administración en cualquier forma conveniente.

La 6-amino-2-[[[1S]-1-metil-butil]-oxi]-9-[5-(1-piperidinil)-pentil]-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona, en la forma de una sal de maleato, por ejemplo, se puede formular para su administración oral, tópica, inhalada, intranasal, bucal, parenteral (por ejemplo, intravenosa, subcutánea, intradérmica, o intramuscular) o rectal. En un aspecto, la 6-amino-2-[[[1S]-1-metil-butil]-oxi]-9-[5-(1-piperidinil)-pentil]-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona, en la forma de una sal de maleato, se formula para su administración oral. En un aspecto adicional, la 6-amino-2-[[[1S]-1-metil-butil]-oxi]-9-[5-(1-piperidinil)-pentil]-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona, en la forma de una sal de maleato, se formula para su administración tópica, por ejemplo, para su administración intranasal o inhalada.

Los comprimidos y cápsulas para su administración oral pueden contener los excipientes convencionales, tales como agentes aglutinantes, por ejemplo, jarabe, acacia, gelatina, sorbitol, tragacanto, muclago de almidón, celulosa o polivinil-pirrolidona; rellenos, por ejemplo, lactosa, celulosa microcristalina, azúcar, almidón de maíz, fosfato de calcio o sorbitol; lubricantes, por ejemplo, estearato de magnesio, ácido esteárico, talco, polietilenglicol o sílice; desintegrantes, por ejemplo, almidón de papa, croscarmelosa de sodio o glicolato de almidón de sodio; o agentes humectantes, tales como lauril-sulfato de sodio. Los comprimidos se pueden recubrir de acuerdo con los métodos bien conocidos en la materia.

Las preparaciones líquidas orales pueden estar en la forma, por ejemplo, de suspensiones acuosas u oleosas, soluciones, emulsiones, jarabes o elixires, o se pueden presentar como un producto seco para su reconstitución con agua o con otro vehículo adecuado antes de usarse. Estas preparaciones líquidas pueden contener aditivos convencionales, tales como agentes de suspensión, por ejemplo, jarabe de sorbitol, metil-celulosa, jarabe de glucosa/azúcar, gelatina, hidroximetilcelulosa, carboximetilcelulosa, gel de estearato de aluminio, o grasas comestibles hidrogenadas; agentes emulsionantes, por ejemplo, lecitina, mono-oleato de sorbitán o acacia; vehículos no acuosos (los cuales pueden incluir aceites comestibles), por ejemplo, aceite de almendra, aceite de coco fraccionado, ésteres oleosos, propilenglicol o alcohol etílico; o conservadores, por ejemplo, p-hidroxibenzoatos de metilo o propilo, o ácido sórbico. Las preparaciones también pueden contener sales reguladoras del pH agentes saborizantes, colorantes y/o edulcorantes (por ejemplo, manitol), como sea apropiado.

Las composiciones para administración intranasal incluyen composiciones acuosas administradas a la nariz mediante gotas o mediante una bomba presurizada. Las composiciones adecuadas contienen agua como el diluyente o vehículo para este propósito. Las composiciones para su administración al pulmón o a la nariz pueden contener uno o más excipientes, por ejemplo, uno o más agentes de suspensión, uno o más conservadores, uno o más tensoactivos, uno o más agentes de ajuste de tonicidad, uno o más co-disolventes, y pueden incluir componentes para controlar el pH de la composición, por ejemplo, un sistema regulador del pH. Además, las composiciones pueden contener otros excipientes, tales como antioxidantes, por ejemplo, metabisulfito de sodio, y agentes enmascaradores del sabor. Las composiciones también se pueden administrar a la nariz o a otras regiones del tracto respiratorio mediante nebulización. La 6-amino-2-[[[1S]-1-metil-butil]-oxi]-9-[5-(1-piperidinil)-pentil]-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona, en la forma de una sal de maleato, puede ofrecer suficiente solubilidad y estabilidad para su presentación como una formulación en solución acuosa intranasal.

Las composiciones intranasales pueden permitir que la 6-amino-2-[[[1S]-1-metil-butil]-oxi]-9-[5-(1-piperidinil)-pentil]-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona, en la forma de una sal de maleato, sea suministrada a todas las áreas de las cavidades nasales (el tejido objetivo), y además, pueden permitir que los compuestos activos permanezcan en contacto con el tejido objetivo durante períodos de tiempo más largos. Un régimen de dosificación adecuado para las composiciones intranasales sería que el paciente inhale lentamente a través de la nariz después de limpiarse la cavidad nasal. Durante la inhalación, la composición se administraría a una fosa nasal, mientras que se comprima manualmente la otra. Este procedimiento se repetiría luego para la otra fosa nasal. Típicamente, se administrarían una o dos aspersiones por fosa nasal mediante el procedimiento anterior, una, dos, o tres veces cada día, idealmente una vez al día. Son de un interés particular las composiciones intranasales adecuadas para su administración una vez al día.

Los agentes de suspensión, si se incluyen, típicamente estarán presentes en una cantidad del 0,1 al 5 por ciento (peso/peso), tal como del 1,5 por ciento al 2,4 por ciento (peso/peso), basándose en el peso total de la composición. Los ejemplos de los agentes de suspensión farmacéuticamente aceptables incluyen, pero no se limitan a, Avicel® (celulosa microcristalina y carboxi-metil-celulosa de sodio), carboxi-metil-celulosa de sodio, veegum, tragacanto, bentonita, metil-celulosa, goma de xantano, carbopol y polietilenglicoles.

Las composiciones para su administración al pulmón o a la nariz pueden contener uno o más excipientes, y se pueden proteger de la contaminación y el crecimiento microbiano o fúngico mediante la inclusión de uno o más conservadores. Los ejemplos de los agentes anti-microbianos o conservadores farmacéuticamente aceptables incluyen, pero no se limitan a, compuestos de amonio cuaternario (por ejemplo, cloruro de benzalconio, cloruro de bencetonio, cetrimida, cloruro de cetil-piridinio, cloruro de lauralconio y cloruro de miristil-picolinio), agentes mercurícos (por ejemplo, nitrato fenil-mercúrico, acetato fenil-mercúrico, y timerosal), agentes alcohólicos (por ejemplo, cloro-butanol, alcohol fenil-etílico,

5 y alcohol bencílico), ésteres anti-bacterianos (por ejemplo, ésteres de ácido para-hidroxibenzoico), agentes quelantes, tales como edetato de sodio (EDTA), y otros agentes anti-microbianos, tales como clorhexidina, clorocresol, ácido sórbico y sus sales (tales como sorbato de potasio), y polimixina. Los ejemplos de los agentes anti-fúngicos o conservadores farmacéuticamente aceptables incluyen, pero no se limitan a, benzoato de sodio, ácido sórbico, propionato de sodio, metil-parabeno, etil-parabeno, propil-parabeno y butil-parabeno. Los conservadores, si se incluyen, pueden estar presentes en una cantidad del 0,001 al 1 por ciento (peso/peso), tal como del 0,015 por ciento al 0,5 por ciento (peso/peso), basándose en el peso total de la composición.

10 Las composiciones (por ejemplo, en donde cuando menos un compuesto está en suspensión) pueden incluir uno o más tensoactivos, los cuales funcionan para facilitar la disolución de las partículas de medicamento en la fase acuosa de la composición. Por ejemplo, la cantidad de tensoactivo utilizada es una cantidad que no provocará una espumación durante la mezcla. Los ejemplos de los tensoactivos farmacéuticamente aceptables incluyen alcoholes grasos, ésteres y éteres, tales como mono-oleato de sorbitán de polioxietileno (20) (Polisorbato 80), éteres de macrogol, y poloxámeros. El tensoactivo puede estar presente en una cantidad de entre aproximadamente el 0,01 y el 10 por ciento (peso/peso), tal como de entre el 0,01 y el 0,75 por ciento (peso/peso), por ejemplo, de aproximadamente el 0,5 por ciento (peso/peso), basándose en el peso total de la composición.

15 Se pueden incluir uno o más agentes de ajuste de tonicidad para lograr la tonicidad con los fluidos corporales, por ejemplo, con los fluidos de la cavidad nasal, que den como resultado niveles reducidos de irritación. Los ejemplos de los agentes de ajuste de tonicidad farmacéuticamente aceptables incluyen, pero no se limitan a, cloruro de sodio, dextrosa, xilitol, cloruro de calcio, glucosa, glicerina y sorbitol. Un agente de ajuste de tonicidad, si está presente, se puede incluir en una cantidad del 0,1 al 10 por ciento (peso/peso), tal como del 4,5 al 5,5 por ciento (peso/peso), por ejemplo, de aproximadamente el 5,0 por ciento (peso/peso), basándose en el peso total de la composición.

20 La 6-amino-2-[[[1S]-1-metil-butil]-oxi]-9-[5-(1-piperidinil)-pentil]-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona, en la forma de una sal de maleato, se puede regular mediante la adición de agentes reguladores adecuados, tales como citrato de sodio, ácido cítrico, trometamol, fosfatos, tales como di-fosfato de sodio (por ejemplo, el dodecahidrato, heptahidrato, dihidrato y las formas anhidras), o fosfato de sodio, y mezclas de los mismos.

25 Un agente regulador, si está presente, se puede incluir en una cantidad del 0,1 al 5 por ciento (peso/peso), por ejemplo, del 1 al 3 por ciento (peso/peso), basándose en el peso total de la composición.

30 Los ejemplos de los agentes enmascaradores de sabor incluyen sucralosa, sacarosa, sacarina o una sal de la misma, fructosa, dextrosa, glicerol, jarabe de maíz, aspartame, acesulfame-K, xilitol, sorbitol, eritritol, glicirrinato de amonio, taumatina, neotame, manitol, mentol, aceite de eucalipto, canfor, un agente saborizante natural, un agente saborizante artificial, y combinaciones de los mismos.

35 Se pueden incluir uno o más co-disolventes para ayudar a la solubilidad de los compuestos de medicamento y/o de los otros excipientes. Los ejemplos de los co-disolventes farmacéuticamente aceptables incluyen, pero no se limitan a, propilenglicol, dipropilenglicol, etilenglicol, glicerol, etanol, polietilenglicoles (por ejemplo, PEG300 ó PEG400), y metanol. En una realización, el co-disolvente es propilenglicol.

El co-disolvente, si está presente, se puede incluir en una cantidad del 0,05 al 30 por ciento (peso/peso), tal como del 1 al 25 por ciento (peso/peso), por ejemplo, del 1 al 10 por ciento (peso/peso), basándose en el peso total de la composición.

40 Las composiciones para administración inhalada incluyen las mezclas acuosas, orgánicas, o acuosas/orgánicas, las composiciones en polvo seco o cristalinas administradas al tracto respiratorio mediante una bomba presurizada o mediante un inhalador, por ejemplo, los inhaladores de depósito de polvo seco, los inhaladores de dosis unitaria de polvo seco, los inhaladores de múltiples dosis previamente medidas de polvo seco, los inhaladores nasales o los inhaladores en aerosol presurizados, los nebulizadores, o los insufladores. Las composiciones adecuadas contienen agua como el diluyente o vehículo para este propósito, y pueden ser provistas con los excipientes convencionales, tales como agentes reguladores del pH, agentes modificadores de la tonicidad, y similares. Las composiciones acuosas también se pueden administrar a la nariz y a otras regiones del tracto respiratorio mediante nebulización. Estas composiciones pueden ser soluciones o suspensiones acuosas, o aerosoles suministrados a partir de paquetes presurizados, tales como un inhalador de dosis medida, con el uso de un propelente licuado adecuado.

50 Las composiciones para su administración tópicamente a la nariz (por ejemplo, para el tratamiento de rinitis) o al pulmón, incluyen las composiciones en aerosol presurizadas, y las composiciones acuosas suministradas a las cavidades nasales mediante una bomba presurizada. Las composiciones que no están presurizadas y que son adecuadas para su administración tópicamente a la cavidad nasal son de un interés particular. Las composiciones adecuadas contienen agua como el diluyente o vehículo para este propósito. Las composiciones acuosas para su administración al pulmón o a la nariz pueden ser provistas con los excipientes convencionales, tales como agentes reguladores del pH, agentes

modificadores de la tonicidad, y similares. Las composiciones acuosas también se pueden administrar a la nariz mediante nebulización.

Típicamente se puede utilizar un dosificador de fluidos para suministrar una composición fluida a las cavidades nasales. La composición fluida puede ser acuosa o no acuosa, pero típicamente es acuosa. Este dosificador de fluidos puede tener una boquilla de dosificación o un orificio de dosificación a través del cual se dosifica una dosis medida de la composición fluida después de la aplicación de una fuerza aplicada por el usuario a un mecanismo de bombeo del dosificador de fluidos. Estos dosificadores de fluidos están provistos en general con un depósito de múltiples dosis medidas de la composición fluida, pudiéndose suministrar la dosis después de accionamientos secuenciales de la bomba. La boquilla o el orificio de dosificación se puede configurar para insertarse en las fosas nasales del usuario para dosificar por aspersión la composición fluida en la cavidad nasal. Un dosificador de fluidos del tipo anteriormente mencionado se describe y se ilustra en la Publicación de la Solicitud Internacional de Patente Número WO 2005/044354 (Glaxo Group Limited). El dosificador tiene un alojamiento que aloja a un dispositivo de descarga de fluido que tiene una bomba de compresión montada sobre un recipiente para contener una composición fluida. El alojamiento tiene cuando menos una palanca lateral operable con el dedo, la cual se puede mover hacia dentro con respecto al alojamiento para mover el recipiente hacia arriba en el alojamiento por medio de una leva, para hacer que la bomba comprima y bombee una dosis medida de la composición hacia fuera de un tallo de la bomba, a través de una boquilla nasal del alojamiento. En una realización, el dosificador de fluidos es del tipo general ilustrado en las Figuras 30 a 40 del documento WO 2005/044354,

Las composiciones acuosas que contienen la 6-amino-2-[[[(1S)-1-metil-butil]-oxi]-9-[5-(1-piperidinil)-pentil]-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona, en la forma de una sal de maleato, también se pueden suministrar mediante una bomba, como se da a conocer en la Publicación de la Solicitud Internacional de Patente Número WO2007/138084 (Glaxo Group Limited), por ejemplo, como se da a conocer con referencia a las Figuras 22 a 46 de la misma, o como se da a conocer en la Solicitud de Patente del Reino Unido Número GB0723418,0 (Glaxo Group Limited), por ejemplo, como se da a conocer con referencia a las Figuras 7 a 32 de la misma. La bomba puede ser accionada mediante un accionador como se da a conocer en las Figuras 1 a 6 del documento GB0723418,0,

Las composiciones en polvo seco para suministro tópico al pulmón mediante inhalación, por ejemplo, se pueden presentar en cápsulas y cartuchos, por ejemplo, de gelatina, o en burbujas, por ejemplo, de hoja de aluminio laminada, para utilizarse en un inhalador o en un insuflador. Las composiciones de mezcla de polvo contienen en general una mezcla de polvo para la inhalación de una sal de maleato de la 6-amino-2-[[[(1S)-1-metil-butil]-oxi]-9-[5-(1-piperidinil)-pentil]-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona y una base de polvo adecuada (sustancia de vehículo/diluyente/excipiente), tal como mono-, di-, o poli-sacáridos (por ejemplo, lactosa o almidón). Las composiciones en polvo seco también pueden incluir, en adición al fármaco y al vehículo, un excipiente adicional (por ejemplo, un agente ternario, tal como un éster de azúcar, por ejemplo, octa-acetato de celobiosa, estearato de calcio, o estearato de magnesio.

En una realización, una composición adecuada para su administración inhalada se puede incorporar en una pluralidad de recipientes de dosis sellados provistos con paquetes de medicamento montados dentro de un dispositivo de inhalación adecuado. Los recipientes pueden ser rompibles, desprendibles, o abribles de otra manera uno a la vez, y se administra la dosis de la composición e polvo seco mediante la inhalación en una boquilla del dispositivo de inhalación, como es conocido en la materia. El paquete de medicamento puede tomar un número de formas diferentes, por ejemplo, una forma de disco o una tira alargada. Los dispositivos de inhalación representativos son los dispositivos DISKHALER<sup>MR</sup> y DISKUS<sup>MR</sup>, comercializados por GlaxoSmithKline.

Una composición inhalable en polvo seco también se puede proporcionar como un depósito a granel en un dispositivo para inhalación, estando entonces el dispositivo provisto con un mecanismo medidor para medir una dosis de la composición a partir del depósito hasta un canal de inhalación, en donde la dosis medida puede ser inhalada por un paciente que inhale en la boquilla del dispositivo. Los dispositivos de este tipo comercializados de ejemplo son TURBUHALER<sup>MR</sup> (AstraZeneca), TWISTHALER<sup>MR</sup> (Schering), y CLICKHALER<sup>MR</sup> (Innovata.)

Un método de suministro adicional para una composición inhalable en polvo seco es el de la provisión de dosis medidas de la composición en cápsulas (una dosis por cápsula), las cuales entonces son cargadas en un dispositivo para inhalación, típicamente por el paciente sobre demanda. El dispositivo tiene elementos para romper, perforar, o abrir de otra manera la cápsula, de tal manera que la dosis se puede introducir en el pulmón del paciente cuando éste inhala en la boquilla del dispositivo. Como los ejemplos comercializados de estos dispositivos, se pueden mencionar ROTAHALER<sup>MR</sup> (GlaxoSmithKline), y HANDIHALER<sup>MR</sup> (Boehringer Ingelheim.)

Las composiciones en aerosol presurizadas adecuadas para inhalación pueden ser ya sea una suspensión o una solución, y pueden contener una sal de maleato de la 6-amino-2-[[[(1S)-1-metil-butil]-oxi]-9-[5-(1-piperidinil)-pentil]-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona y un propelente adecuado, tal como un fluoro-carbono, o un cloro-fluoro-carbono que contiene hidrógeno, o mezclas de los mismos, en particular hidrofluoro-alcanos, en especial 1,1,1,2-tetrafluoro-etano,

1,1,1,2,3,3,3-heptafluoro-n-propano, o una mezcla de los mismos. La composición en aerosol puede contener opcionalmente excipientes adicionales de la composición bien conocidos en la materia, tales como tensoactivos, por ejemplo, ácido oleico, lecitina, o un ácido oligoláctico o un derivado del mismo, por ejemplo, como se describe en los documentos WO 94/21229 y WO 98/34596 (Minnesota Mining and Manufacturing Company), y co-disolventes, por ejemplo, etanol. Las composiciones presurizadas en términos generales se guardarán en una lata (por ejemplo, en una lata de aluminio) cerrada con una válvula (por ejemplo, con una válvula medidora), y adaptada en un accionador provisto con una boquilla.

Los ungüentos, cremas y geles, por ejemplo, se pueden formular con una base acuosa u oleosa, con la adición de agentes espesantes y/o gelificantes y/o disolventes adecuados. Estas bases, por consiguiente, por ejemplo, pueden incluir agua y/o un aceite, tal como parafina líquida, o un aceite vegetal, tal como aceite de arachis o aceite de ricino, o un disolvente, tal como polietilenglicol. Los agentes espesantes y los agentes gelificantes que se pueden utilizar de acuerdo con la naturaleza de la base incluyen parafina blanda, estearato de aluminio, alcohol cetosteárico, polietilenglicoles, grasa de lana, cera de abejas, carboxi-polimetileno y derivados de celulosa, y/o monoestearato de glicerilo, y/o emulsionantes de agentes no iónicos.

Las lociones se pueden formular con una base acuosa u oleosa, y en general también contendrán uno o más agentes emulsionantes, agentes estabilizantes, agentes dispersantes, agentes de suspensión, o agentes espesantes.

Los polvos para aplicación externa se pueden formar con la ayuda de cualquier base de polvo adecuada, por ejemplo, talco, lactosa o almidón. Las gotas se pueden formular con una base acuosa o no acuosa, las cuales también comprenden uno o más agentes dispersantes, agentes solubilizantes, agentes de suspensión, o conservadores.

La 6-amino-2-[[[1S]-1-metil-butil]-oxi]-9-[5-(1-piperidinil)-pentil]-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona, en la forma de una sal de maleato, por ejemplo, se pueden formular para suministro transdérmico mediante su composición en parches o en otros dispositivos (por ejemplo, dispositivos de gas presurizado) que suministren el componente activo dentro de la piel.

Para administración bucal, las composiciones pueden tomar la forma de comprimidos o grageas formuladas de la manera convencional.

La 6-amino-2-[[[1S]-1-metil-butil]-oxi]-9-[5-(1-piperidinil)-pentil]-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona, en la forma de una sal de maleato, también se puede formular como supositorios, por ejemplo, que contengan bases para supositorios convencionales, tales como manteca de cacao u otros glicéricos.

La 6-amino-2-[[[1S]-1-metil-butil]-oxi]-9-[5-(1-piperidinil)-pentil]-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona, en la forma de una sal de maleato, también se puede formular para su administración parenteral mediante inyección de bolo o mediante infusión continua, y se puede presentar en una forma de dosis unitaria, por ejemplo, como ampollitas, frascos, infusiones de pequeño volumen, o jeringas previamente llenadas, o en recipientes de múltiples dosis con un conservador añadido. Las composiciones pueden tomar formas tales como soluciones, suspensiones, o emulsiones en vehículos acuosos o no acuosos, y pueden contener agentes de formulación, tales como antioxidantes, reguladores, agentes antimicrobianos y/o agentes de ajuste de tonicidad. De una manera alternativa, el ingrediente activo puede estar en una forma de polvo para reconstituirse con un vehículo adecuado, por ejemplo, agua estéril sin pirógeno, antes de usarse. La presentación sólida seca se puede preparar llenando asépticamente con un polvo estéril los recipientes estériles individuales, o llenando asépticamente con una solución estéril cada recipiente, y secando por congelación.

La 6-amino-2-[[[1S]-1-metil-butil]-oxi]-9-[5-(1-piperidinil)-pentil]-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona, en la forma de una sal de maleato, también se puede formular con vacunas como adyuvantes para modular su actividad. Estas composiciones pueden contener anticuerpos o fragmentos de anticuerpos, o un componente antigénico, incluyendo, pero no limitándose a, proteína, ADN, bacterias y/o virus vivos o muertos, o partículas tipo virus, junto con uno o más componentes con actividad adyuvante, incluyendo, pero no limitándose a, sales de aluminio, y emulsiones de aceite y agua, proteínas de choque por calor, preparaciones de lípido A y sus derivados, glicolípidos, otros agonistas de los receptores tipo Toll (TLRs), tales como CpG ADN o agentes similares, citoquinas, tales como GM-CSF o IL-12 o agentes similares.

La 6-amino-2-[[[1S]-1-metil-butil]-oxi]-9-[5-(1-piperidinil)-pentil]-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona, en la forma de una sal de maleato, se puede emplear sola o en combinación con otros agentes terapéuticos. La 6-amino-2-[[[1S]-1-metil-butil]-oxi]-9-[5-(1-piperidinil)-pentil]-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona, en la forma de una sal de maleato, y los otros agentes farmacéuticamente activos, se pueden administrar juntos o por separado y, cuando se administran por separado, la administración se puede presentar de una manera simultánea o en secuencia, en cualquier orden. Las cantidades de la 6-amino-2-[[[1S]-1-metil-butil]-oxi]-9-[5-(1-piperidinil)-pentil]-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona, en la forma de una sal de maleato, y los otros agentes farmacéuticamente activos, y los tiempos relativos de administración, se seleccionarán con el objeto de lograr el efecto terapéutico combinado deseado. La administración de una combinación de la 6-amino-2-[[[1S]-1-metil-butil]-oxi]-9-[5-(1-piperidinil)-pentil]-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona, en la forma de una sal de maleato, con otros agentes de tratamiento, puede ser mediante la administración concomitante en una composición farmacéutica

unitaria que incluya ambos compuestos, o en composiciones farmacéuticas separadas, cada una incluyendo uno de los compuestos. De una manera alternativa, la combinación se puede administrar por separado de una manera en secuencia, en donde un agente de tratamiento se administra primero, y el otro en segundo lugar, o viceversa. La administración en secuencia puede ser cercana en el tiempo o remota en el tiempo.

5 La 6-amino-2-[[[(1S)-1-metil-butil]-oxi]-9-[5-(1-piperidinil)-pentil]-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona, en la forma de una sal de maleato, se puede utilizar en combinación con uno o más agentes útiles en la prevención o en el tratamiento de infecciones virales. Los ejemplos de estos agentes incluyen, sin limitación; inhibidores de polimerasa, tales como aquéllos que se dan a conocer en el documento WO 2004/037818-A1, así como los que se dan a conocer en los documentos WO 2004/037818 y WO 2006/045613; JTK-003, JTK-019, NM-283, HCV-796, R-803, R1728, R1626, así como los que se dan a conocer en los documentos WO 2006/018725, WO 2004/074270, WO 2003/095441, en documento US2005/0176701, en los documentos WO 2006/020082, WO 2005/080388, WO 2004/064925, WO 2004/065367, WO 2003/007945, WO 02/04425, WO 2005/014543, WO 2003/000254, el documento EP 1065213, en los documentos WO 01/47883, WO 2002/057287, WO 2002/057245, y agentes similares; inhibidores de réplica, tales como aciclovir, famciclovir, ganciclovir, cidofovir, lamivudina, y agentes similares; inhibidores de proteasa, tales como los inhibidores de proteasa de VIH: saquinavir, ritonavir, indinavir, nelfinavir, amprenavir, fosamprenavir, brexanavir, atazanavir, tipranavir, palinavir, lasinavir, y los inhibidores de proteasa del virus de hepatitis C: BILN2061, VX-950, SCH503034; y agentes similares; inhibidores de transcriptasa inversa de nucleósidos y de nucleótidos, tales como zidovudina, didanosina, zalcitabina, abacavir, estavudina, adefovir, adefovir-dipivoxil, fozivudina, todoxil, emtricitabina, alovedina, amdoxovir, elvicitabina, y agentes similares; inhibidores de transcriptasa inversa no de nucleósidos (incluyendo un agente que tenga actividad antioxidante, tal como immunocal, oltipraz, etc.), tales como nevirapina, delavirdina, efavirenz, lovirida, immunocal, oltipraz, capravirina, TMC-278, TMC-125, etravirina, y agentes similares; inhibidores de entrada, tales como enfuvirtida (T-20), T-1249, PRO-542, PRO-140, TNX-355, BMS-806, 5-Hélice, y agentes similares; inhibidores de integrasa, tales como L-870,180, y agentes similares; inhibidores de formación de capullo, tales como PA-344 y PA-457, y agentes similares; inhibidores de los receptores de quimiocina, tales como vicriviroc (Sch-C), Sch-D, TAK779, maraviroc ( UK-427,857), TAK449, así como los que se dan a conocer en los documentos WO 02/74769, WO 2004/054974, WO 2004/055012, WO 2004/055010, WO 2004/055016, WO 2004/055011, y WO 2004/054581, y agentes similares; inhibidores de neuraminidasa, tales como CS-8958, zanamivir, oseltamivir, peramivir, y agentes similares; bloqueadores de canales de iones, tales como amantadina o rimantadina, y agentes similares; y ARN de interferencia y oligonucleótidos anti-sentido, tales como ISIS-14803, y agentes similares; agentes antivirales de un mecanismo de acción indeterminado, por ejemplo, aquéllos que se dan a conocer en los documentos WO 2005/105761, WO 2003/085375, WO 2006/122011; ribavirina, y agentes similares. La 6-amino-2-[[[(1S)-1-metil-butil]-oxi]-9-[5-(1-piperidinil)-pentil]-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona, en la forma de una sal de maleato, también se puede utilizar en combinación con uno o más agentes diferentes que puedan ser útiles en la prevención o en el tratamiento de infecciones virales, por ejemplo, terapias inmunitarias (por ejemplo, interferón u otras citoquinas/quimiocinas, moduladores de receptores de citoquina/ quimiocina, agonistas o antagonistas de citoquina, y agentes similares); y vacunas terapéuticas, agentes anti-fibróticos, agentes anti-inflamatorios, tales como corticosteroides o NSAIDS (agentes anti-inflamatorios no esteroideos), y agentes similares.

40 La 6-amino-2-[[[(1S)-1-metil-butil]-oxi]-9-[5-(1-piperidinil)-pentil]-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona, en la forma de una sal de maleato, se puede utilizar en combinación con uno o más agentes diferentes que puedan ser útiles en la prevención o en el tratamiento de enfermedad alérgica, enfermedad inflamatoria, enfermedad autoinmune, por ejemplo; inmunoterapia de antígenos, anti-histaminas, esteroides, fármacos anti-inflamatorios no esteroideos (NSAIDS), broncodilatadores (por ejemplo, agonistas-beta-2, agonistas adrenérgicos, agentes anticolinérgicos, teofilina), metotrexato, moduladores de leucotrienos, y agentes similares; terapia de anticuerpos monoclonales, tal como anti-IgE, anti-TNF, anti-IL-5, anti-IL-6, anti-IL-12, anti-IL-1, y agentes similares; terapias de receptores, por ejemplo, etanercept, y agentes similares; inmunoterapias no específicas del antígeno (por ejemplo, interferón u otras citoquinas/quimiocinas, moduladores de los receptores de citoquina/quimiocina, agonistas o antagonistas de citoquina, agonistas de los receptores tipo Toll (TLRs), y agentes similares).

50 La 6-amino-2-[[[(1S)-1-metil-butil]-oxi]-9-[5-(1-piperidinil)-pentil]-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona, en la forma de una sal de maleato, se puede utilizar en combinación con uno o más agentes diferentes que puedan ser útiles en la prevención o en el tratamiento de cáncer, por ejemplo, productos quimioterapéuticos, tales como agentes alquilantes, inhibidores de topoisomerasa, antimetabolitos, agentes anti-mitóticos, inhibidores de cinasa, y agentes similares; terapia de anticuerpos monoclonales, tal como trastuzumab, gemtuzumab, y otros agentes similares; y terapia de hormonas, tal como tamoxifeno, goserelina, y agentes similares.

55 Las composiciones farmacéuticas de acuerdo con la invención también se pueden utilizar solas o en combinación con cuando menos otro agente terapéutico en otras áreas terapéuticas, por ejemplo, en una enfermedad gastrointestinal. Las composiciones de acuerdo con la invención también se pueden utilizar en combinación con terapia de reemplazo de genes.

La invención incluye, en un aspecto adicional, una combinación que comprende la 6-amino-2-[[[(1S)-1-metil-butil]-oxi]-9-[5-(1-piperidinil)-pentil]-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona, en la forma de una sal de maleato, junto con cuando menos otro agente terapéuticamente activo.

5 Las combinaciones referidas anteriormente se pueden presentar de una manera conveniente para utilizarse en la forma de una composición farmacéutica y, por consiguiente, las composiciones farmacéuticas que comprenden una combinación como se define anteriormente, junto con cuando menos un diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable para las mismas, representan un aspecto adicional de la invención.

10 Una cantidad terapéuticamente efectiva de una sal de maleato de la 6-amino-2-[[[(1S)-1-metil-butil]-oxi]-9-[5-(1-piperidinil)-pentil]-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona dependerá de un número de factores, por ejemplo, la especie, la edad y el peso del receptor, la condición precisa que requiera tratamiento y su gravedad, la naturaleza de la composición, y la vía de administración, son todos factores que se deben considerar. La cantidad terapéuticamente efectiva por último estará a la discreción del médico que atienda. Independientemente de lo anterior, una cantidad efectiva de una sal de maleato de la 6-amino-2-[[[(1S)-1-metil-butil]-oxi]-9-[5-(1-piperidinil)-pentil]-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona para el tratamiento de los seres humanos que padezcan de una discapacidad, en términos generales, deberá estar en el intervalo de 0,0001 a 100 miligramos/kilogramo de peso corporal del receptor al día. Más usualmente, la cantidad efectiva deberá estar en el intervalo de 0,001 a 10 miligramos/kilogramo de peso corporal al día. Por consiguiente, para un adulto de 70 kilogramos, un ejemplo de una cantidad real al día sería usualmente de 7 a 700 miligramos. Para las vías de administración intranasal e inhalada, la dosis típica para un adulto de 70 kilogramos deberá estar en el intervalo de 1 microgramo a 1 miligramo al día. Esta cantidad se puede dar en una sola dosis al día o en un número (tal como dos, tres, cuatro, cinco, o más) de sub-dosis al día, de tal manera que la dosis diaria total sea la misma. Las dosificaciones similares deben ser apropiadas para el tratamiento de otras condiciones referidas en la presente.

25 La 6-amino-2-[[[(1S)-1-metil-butil]-oxi]-9-[5-(1-piperidinil)-pentil]-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona, en la forma de una sal de maleato, también se puede administrar a cualquier frecuencia apropiada, por ejemplo, de 1 a 7 veces por semana. El régimen de dosificación preciso, desde luego, dependerá de factores tales como la indicación terapéutica, la edad y condición del paciente, y la vía de administración particular seleccionada.

30 Las composiciones farmacéuticas se pueden presentar en formas de dosis unitaria que contengan una cantidad previamente determinada del ingrediente activo por dosis unitaria. Esta unidad puede contener, como un ejemplo no limitante, de 0,5 miligramos a 1 gramo de una sal de maleato de la 6-amino-2-[[[(1S)-1-metil-butil]-oxi]-9-[5-(1-piperidinil)-pentil]-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona, dependiendo de la condición que se esté tratando, de la vía de administración, y de la edad, peso, y condición del paciente. Las composiciones de dosificación unitaria preferidas son aquéllas que contengan una dosis o sub-dosis diaria, como se menciona anteriormente en la presente, o una fracción apropiada de la misma, de un ingrediente activo. Estas composiciones farmacéuticas se pueden preparar mediante cualquiera de los métodos bien conocidos en la técnica de la farmacia.

35 Por consiguiente, además se proporciona una composición farmacéutica, la cual comprende la 6-amino-2-[[[(1S)-1-metil-butil]-oxi]-9-[5-(1-piperidinil)-pentil]-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona, en la forma de una sal de maleato, y uno o más diluyentes o vehículos farmacéuticamente aceptables. Opcionalmente, la composición farmacéutica puede comprender además cuando menos otro agente terapéuticamente activo.

40 También se proporciona un proceso para la preparación de esta composición farmacéutica, el cual comprende mezclar la 6-amino-2-[[[(1S)-1-metil-butil]-oxi]-9-[5-(1-piperidinil)-pentil]-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona, en la forma de una sal de maleato, con uno o más diluyentes o vehículos farmacéuticamente aceptables.

45 También se proporciona un proceso para la preparación de una sal de maleato de la 6-amino-2-[[[(1S)-1-metil-butil]-oxi]-9-[5-(1-piperidinil)-pentil]-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona, el cual comprende hacer reaccionar la 6-amino-2-[[[(1S)-1-metil-butil]-oxi]-9-[5-(1-piperidinil)-pentil]-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona con una fuente de anión de maleato (por ejemplo, ácido maleico, por ejemplo, en un disolvente adecuado), para producir la 6-amino-2-[[[(1S)-1-metil-butil]-oxi]-9-[5-(1-piperidinil)-pentil]-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona, en la forma de una sal de maleato. En un aspecto, el proceso produce una proporción de 1:1 del anión de maleato: 6-amino-2-[[[(1S)-1-metil-butil]-oxi]-9-[5-(1-piperidinil)-pentil]-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona.

La 6-amino-2-[[[(1S)-1-metil-butil]-oxi]-9-[5-(1-piperidinil)-pentil]-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona, en la forma de una sal de maleato, se puede preparar mediante la metodología descrita posteriormente en la presente.

### **Abreviaturas**

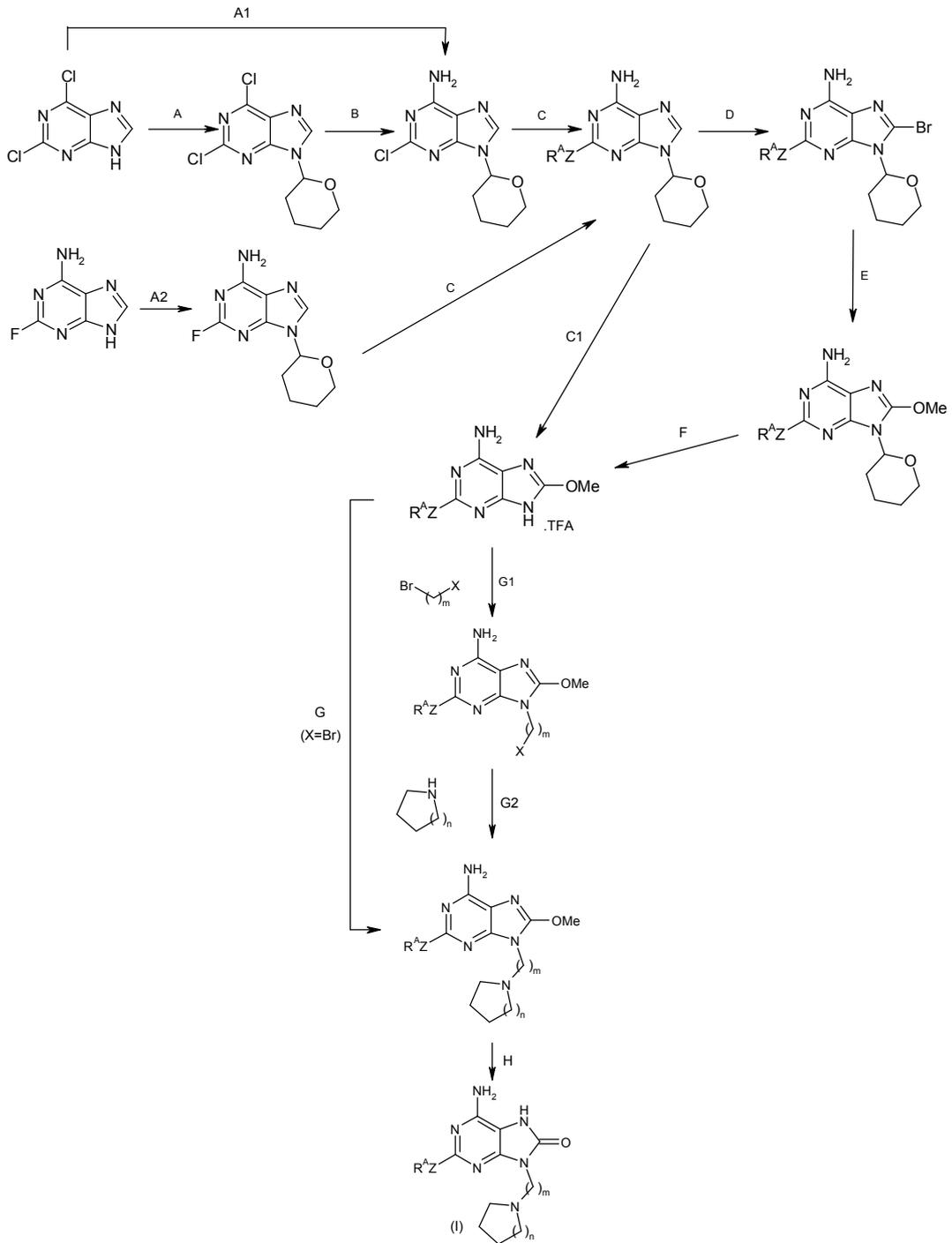
50 La siguiente lista proporciona las definiciones de ciertas abreviaturas como se utilizan en la presente. Se apreciará que la lista no es exhaustiva, pero el significado de las abreviaturas que no sean definidas a continuación en la presente, será fácilmente evidente para los expertos en este campo.

	DMF	N,N'-dimetil-formamida.
	DMSO	Sulfóxido de dimetilo.
	HPLC	Cromatografía de líquidos de alto rendimiento.
5	MDAP HPLC	HPLC en fase inversa sobre una columna C <sub>18</sub> utilizando un gradiente de dos disolventes, y el análisis de las fracciones mediante espectroscopía de masas con electroaspersión.
	SPE	Extracción en fase sólida.
	min	minutos.
	Desprendido	eliminación del disolvente a presión reducida.
	TFA	Ácido trifluoro-acético.
10	rt	Temperatura ambiente.
	vol	Volúmenes.
	BSA	N,O-bis-(trimetil-silil)-acetamida.
	CPME	Ciclopentil-metil-éter.
	TBME	Terc-butil-metil-éter.
15	MeTHF	2-metil-tetrahidrofurano.
	NMP	N-metil-pirrolidinona.
	DCM	Diclorometano.

El proceso sintético para la elaboración de la 6-amino-2-[[[(1S)-1-metil-butil]-oxi]-9-[5-(1-piperidinil)-pentil]-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona, y de las sales de maleato de la misma, se resume en el esquema 1,

20

Esquema 1



en el que  $\text{R}^{\text{A}}\text{Z} = \text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$ ,  $n = 2$ ,  $m = 5$ , y  $\text{X} = \text{Cl}$ .

Las condiciones de reacción típicas para cada una de las etapas sintéticas del Esquema 1 se proporcionan en seguida:

- A: Dihidropirano/ácido para-toluen-sulfónico, por ejemplo, a 50°C durante 3 a 6 horas.
- A1: Dihidropirano/ácido para-toluen-sulfónico, por ejemplo, a 50°C durante 1 hora, entonces amoníaco/isopropanol, por ejemplo, a 60°C durante 4 horas, entonces se agrega agua y se enfría a temperatura ambiente durante 12 a 18 horas.
- 5 A2: BSA en acetonitrilo, reflujo, se enfría hasta 0°C, entonces tetrahidro-pirano / acetato en acetonitrilo, se calienta hasta 10°C, entonces carbonato ácido de sodio acuoso.
- B: Amoníaco/isopropanol, por ejemplo, a 50°C durante 5 horas, entonces a temperatura ambiente durante 12 a 18 horas, entonces a 50°C durante 9 horas.
- 10 C: Para Z = O, R<sup>A</sup> = alquilo de 1 a 6 átomos de carbono: R<sup>A</sup>ONa/butanol/dimetoxi-etano, por ejemplo, de 93°C a 110°C durante 12 a 18 horas.
- C1: N-bromo-succinimida en Diclorometano, por ejemplo, de 0°C a 5°C durante 30 minutos, entonces a temperatura ambiente durante 0,5 a 1 hora, entonces, por ejemplo, metóxido de sodio/ metanol bajo nitrógeno/60-70°C/12-18 horas, entonces ácido trifluoro-acético/metanol, por ejemplo, a temperatura ambiente durante 18 a 65 horas.
- 15 D: N-bromo-succinimida en Diclorometano, por ejemplo, de 0°C a 5°C durante 30 minutos, entonces a temperatura ambiente durante 36 a 48 horas, o N-bromo-succinimida en cloroformo a <5°C durante 4 a 6 horas.
- E: Metóxido de sodio/metanol, por ejemplo, reflujo durante 4 a 6 horas.
- F: Tetrahidrofurano(THF)/metanol, por ejemplo, a temperatura ambiente durante 18 a 65 horas, o ácido trifluoro-acético/metanol, por ejemplo, a temperatura ambiente durante 70 a 74 horas.
- 20 G: Carbonato de potasio/N,N'-dimetil-formamida (DMF), entonces a 50°C durante 1 a 1,5 horas, entonces se agrega el (VI), se agita durante 40 minutos, entonces se agrega el (IV)/trietil-amina, entonces a temperatura ambiente durante 18 horas.
- G1: Carbonato de potasio/N,N'-dimetil-formamida (DMF), entonces a 50°C bajo nitrógeno durante 30 minutos, entonces a temperatura ambiente, se agrega el (VI), se agita durante 20 horas.
- 25 G2: Solución en N,N'-dimetil-formamida (DMF) con N,N'-di-isopropil-etil-amina, entonces a 50°C durante 48 horas, entonces se agrega más del (IV), a 50°C durante 48 horas.
- H: Cloruro de hidrógeno/metanol, entonces a temperatura ambiente durante 18 horas.
- Los compuestos de las fórmulas (IV), (VI), (XIA), (XII), (XIII), (XIV), y (XV), son cualquiera de los que se conocen en la literatura o están comercialmente disponibles, por ejemplo, en Sigma-Aldrich, UK, o se pueden preparar por analogía a los procedimientos conocidos, por ejemplo, aquéllos que se dan a conocer en los textos de referencia convencionales de la metodología sintética, tales como J. March, *Advanced Organic Chemistry*, 6<sup>a</sup> Edición (2007), WileyBlackwell, o *Comprehensive Organic Synthesis* (Trost B.M. y Fleming I., (Editores), Pergamon Press, 1991), cada uno incorporado a la presente como referencia en lo que se refiere a estos procedimientos.
- 30 La 6-amino-2-[[{(1S)-1-metil-butil]-oxi]-9-[5-(1-piperidinil)-pentil]-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona, en la forma de una sal de maleato, también se puede preparar más generalmente mediante la reacción de la 6-amino-2-[[{(1S)-1-metil-butil]-oxi]-9-[5-(1-piperidinil)-pentil]-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona con una fuente del anión de maleato en un disolvente adecuado, por ejemplo, alcohol isopropílico. Una fuente adecuada del anión de maleato es el ácido maleico o las sales del ácido maleico.
- 35 Los ejemplos de otros grupos protectores que se pueden emplear en las rutas sintéticas descritas en la presente, y los medios para su remoción, se pueden encontrar en T. W. Greene 'Protective Groups in Organic Synthesis', 4a. Edición, J. Wiley and Sons, 2006, incorporado a la presente como referencia en lo que se refiere a estos procedimientos.
- 40 Para cualquiera de las reacciones o procesos descritos anteriormente en la presente, se pueden emplear los métodos convencionales de calentamiento y enfriamiento, por ejemplo, baños de aceite de temperatura regulada o bloques calientes de temperatura regulada, y baños de hielo/sal o baños de hielo/acetona, respectivamente. Se pueden emplear los métodos convencionales de aislamiento, por ejemplo, extracción a partir de, o en, disolventes acuosos o no acuosos.
- 45 Se pueden emplear los métodos convencionales de secado de disolventes orgánicos, soluciones, o extractos, tales como agitación con sulfato de magnesio anhidro o con sulfato de sodio anhidro, o pasar a través de una frita hidrofóbica. Se pueden emplear los métodos convencionales de purificación, por ejemplo, cristalización y cromatografía, por ejemplo, cromatografía en sílice o cromatografía en fase inversa, como se requieran. La cristalización se puede llevar a cabo

utilizando disolventes convencionales, tales como acetato de etilo, metanol, etanol, o butanol, o mezclas acuosas de los mismos. Se apreciará que el tiempo específico de las temperaturas de reacción típicamente se puede determinar mediante las técnicas de monitoreo de reacción, por ejemplo, cromatografía de capa delgada y LC-MS.

- 5 Cuando sea apropiado, se pueden preparar las formas isoméricas individuales de la 6-amino-2-[[[1S]-1-metil-butil]-oxi]-9-[5-(1-piperidinil)-pentil]-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona como los isómeros individuales empleando los procedimientos convencionales, tales como la cristalización fraccionaria de los derivados diaestereoisoméricos o cromatografía de líquidos de alto rendimiento quiral (HPLC quiral).

La estereoquímica absoluta de los compuestos se puede determinar empleando los métodos convencionales, tales como cristalografía de rayos-X.

10 Detalles Experimentales Generales

Los compuestos se nombraron utilizando el software de nombramiento químico ACD/Name PRO 6,02 de Advanced Chemistry Developments Inc., Toronto, Ontario, M5H2L3, Canadá.

Los detalles experimentales de los sistemas de LCMS B-D, como son referidos en la presente, son como sigue:

Sistema B

- 15 Columna: Columna Sunfire C<sub>18</sub> de 30 milímetros x 4,6 milímetros de diámetro interno (ID), 3,5 micrómetros.

Caudal: 3 mililitros/minuto.

Temperatura: 30°C.

Intervalo de detección UV: 210 a 350 nanómetros.

- 20 Espectro de masas: Registrado en un espectrómetro de masas utilizando ionización por electroaspersión en modo positivo y negativo con exploración alternada.

Disolventes: A: solución al 0,1 por ciento en volumen/volumen de ácido fórmico en agua.

B: solución al 0,1 por ciento en volumen/volumen de ácido fórmico en acetonitrilo.

Gradiente:	Tiempo (min.)	A%	B%
	0	97	3
25	0,1	97	3
	4,2	0	100
	4,8	0	100
	4,9	97	3
	5,0	97	3

30 Sistema C

Columna: Acquity UPLC BEH C<sub>18</sub>, 50 milímetros x 2,1 milímetros de diámetro interno (ID), 1,7 micrómetros.

Caudal: 1 mililitro/minuto.

Temperatura: 40°C.

Intervalo de detección UV: 210 a 350 nanómetros.

- 35 Espectro de masas: Registrado en un espectrómetro de masas utilizando ionización por electroaspersión en modo positivo y negativo con exploración alternada.

Disolventes: A: bicarbonato de amonio 10 mM en agua ajustado a un pH de 10 con una solución de amoníaco.

B: acetonitrilo.

## ES 2 525 826 T3

Gradiente:	Tiempo (min.)	A%	B%
	0	99	1
	1,5	3	97
	1,9	3	97
5	2,0	0	100

### Sistema D

Columna: Columna XBridge C<sub>18</sub>, 50 milímetros x 4,6 milímetros de diámetro interno (ID), 3,5 micrómetros.

Caudal: 3 mililitros/minuto.

Temperatura: 30°C.

10 Intervalo de detección UV: 210 a 350 nanómetros.

Espectro de masas: Registrado en un espectrómetro de masas utilizando ionización por electroaspersión en modo positivo y negativo con exploración alternada.

Disolventes: A: bicarbonato de amonio 10 mM en agua ajustado a un pH de 10 con una solución de amoníaco.

B: acetonitrilo.

15 Gradiente:	Tiempo (min.)	A%	B%
	0	99	1
	0,1	99	1
	4,0	3	97
	5,0	3	97

20 La purificación cromatográfica se llevó a cabo típicamente utilizando cartuchos de gel de sílice previamente empacados. El Flashmaster II es un sistema de cromatografía por evaporación instantánea automatizado de múltiples usuarios, disponible en Argonaut Technologies Ltd, el cual utiliza cartuchos de extracción en fase sólida (SPE) en fase normal, desechables (de 2 gramos a 100 gramos). Proporciona una mezcla cuaternaria del disolvente en línea para hacer posible que se ejecuten los métodos en gradiente. Las muestras se ponen en fila utilizando el software de acceso abierto multi-funcional, el cual maneja disolventes, velocidades de flujo, perfil de gradiente, y condiciones de recolección. El sistema está equipado con un detector de longitud de onda UV variable Knauer y dos recolectores de fracciones Gilson FC204, que hacen posible el corte de picos, la recolección, y el rastreo automatizados.

25 La remoción del disolvente utilizando una corriente de nitrógeno se llevó a cabo a 30-40°C en un sistema GreenHouse Blowdown, disponible en Radleys Discovery Technologies Saffron Walden, Essex, CB11 3AZ, Reino Unido.

30 Los espectros de RMN de <sup>1</sup>H se registraron ya sea en CDCl<sub>3</sub> o en DMSO-d<sub>6</sub>, en cualquiera de los espectrómetros Bruker DPX 400 o Bruker Avance DRX o Varian Unity 400, todos funcionando a 400 MHz. El estándar interno utilizado fue cualquiera de tetrametil-silano o el disolvente protonado residual a 7,25 ppm para CDCl<sub>3</sub> o a 2,50 ppm para DMSO-d<sub>6</sub>.

35 La HPLC de auto-preparación dirigida a la masa se emprendió bajo las condiciones que se dan a continuación. La detección UV fue una señal promediada a partir de la longitud de onda de 210 nanómetros a 350 nanómetros, y los espectros de masas se registraron en un espectrómetro de masas utilizando ionización por electroaspersión en modo positivo y negativo de exploración alternada.

### Método A

El Método A se condujo en una columna XBridge C<sub>18</sub> (típicamente de 150 milímetros x 19 milímetros de diámetro interno (ID), diámetro de empaque de 5 micrómetros) a temperatura ambiente. Los disolventes empleados fueron:

40 A = bicarbonato de amonio acuoso 10 mM ajustado a un pH de 10 con una solución de amoníaco.

B = acetonitrilo.

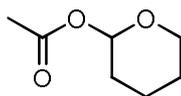
## Intermedios

Intermedio 1: 2,6-dicloro-9-(tetrahidro-2H-piran-2-il)-9H-purina

5 A la 2,6-dicloro-purina (25,0 gramos) (comercialmente disponible en, por ejemplo, Aldrich), se le agregó acetato de etilo (260 mililitros), seguido por ácido p-toluen-sulfónico (0,253 gramos). La mezcla se calentó a 50°C, y entonces se agregó 3,4-dihidro-2H-pirano (16,8 gramos) (comercialmente disponible en, por ejemplo, Aldrich). La mezcla de reacción entonces se calentó a 50°C durante 4 horas. La mezcla de reacción se evaporó al vacío, para dar el compuesto del título como un sólido amarillo (36,9 gramos).

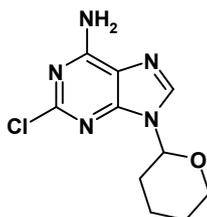
RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ): 8,35 (1H, s), 5,77 (1H, dd), de 4,20 (1H, m), 3,79 (1H, m), 2,20-1,65 (6H, m).

## 10 Intermedio 1A



15 Se disolvieron ácido acético (1,2 litros, 1 equivalente) y p-toluen-sulfonato de piridinio (530 gramos, 0,1 equivalentes), en diclorometano (6 litros). La solución se enfrió a 0°C. Se cargó con precaución una solución de dihidro-pirano (2,52 litros, 1,35 equivalentes) en diclorometano (2,5 litros) durante cuando menos 15 minutos, manteniendo la temperatura debajo de 5°C. Una vez que se completó la adición, la solución se calentó a 20°C, y se agitó durante la noche. Se cargó agua (5,0 litros) y la bifase resultante se agitó vigorosamente antes de remover la capa acuosa. La fase orgánica se lavó entonces con una solución saturada de bicarbonato de sodio (5,0 litros), y se secó sobre sulfato de magnesio. Las fases orgánicas secas se concentraron sobre el evaporador giratorio, reduciendo la presión hasta 20 mbar a 50°C para asegurar la remoción del diclorometano y del exceso de dihidro-pirano. El producto se proporcionó como un líquido incoloro a ligeramente amarillo (2,61 kilogramos, 95 por ciento del rendimiento teórico).

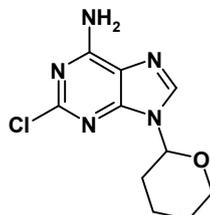
20

Intermedio 2: 2-cloro-9-(tetrahidro-2H-piran-2-il)-9H-purin-6-amina

25 La 2,6-dicloro-9-(tetrahidro-2H-piran-2-il)-9H-purina (36,9 gramos) (por ejemplo, como se preparó para el Intermedio 1) se calentó con amoníaco 2M en isopropanol (250 mililitros) a 50°C durante 5 horas. Después de reposar a temperatura ambiente durante la noche, se agregó una cantidad adicional de amoníaco 2M en isopropanol (100 mililitros) para romper la torta resultante, y la mezcla de reacción se calentó durante 9 horas adicionales, hasta que la reacción estuvo completa. A la mezcla de reacción se le agregó agua (70 mililitros), y el sólido amarillo se filtró. El sólido se lavó con alcohol isopropílico:agua (5:1 (volumen/volumen), 60 mililitros), y entonces se secó al aire bajo succión, para dar una primera cosecha. El filtrado se volvió a filtrar después de reposar durante la noche para aislar el precipitado, y ambos sólidos se secaron al vacío. La primera cosecha fue pura, mostrando el material de la segunda cosecha una impureza muy menor (no se ve la señal amplia aislada de 3,5 ppm en la primera cosecha), pero fue de otra manera idéntica. Primera cosecha sólida (28,4 gramos), segunda cosecha sólida (3,42 gramos).

30

RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ): 8,01 (1H, s), 5,98 (2H, amplia s), 5,70 (1H, dd), de 4,16 (1H, m), 3,78 (1H, m), 2,15-1,60 (6H, m traslapados).

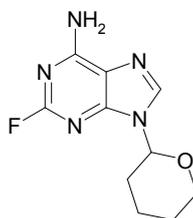
Intermedio 2 (método alternativo): 2-cloro-9-(tetrahidro-2H-piran-2-il)-9H-purin-6-amina

5 A una solución de la 2,6-dicloro-purina (25g) (comercialmente disponible en, por ejemplo, Aldrich) en acetato de etilo seco (200 mililitros), se le agregó monohidrato de ácido p-toluen-sulfónico (235 miligramos) (comercialmente disponible en, por ejemplo, Aldrich). La reacción se calentó a 50°C, y se agregó el 3,4-dihidro-2H-pirano (18,1 mililitros) (comercialmente disponible en, por ejemplo, Aldrich), de una vez. La reacción se dejó agitando a 50°C durante 1 hora, y el disolvente se removió a presión reducida. Esto proporcionó un sólido amarillo. Una suspensión de este sólido (aproximadamente 36 gramos) en amoníaco 2,0 M en isopropanol (460 mililitros), se calentó bajo nitrógeno a 60°C durante 4 horas con un condensador conectado. La reacción se vertió en agua (50 mililitros), y se dejó enfriar durante la noche. El precipitado se filtró y se secó sobre un evaporador giratorio (60°C) durante 30 minutos, para proporcionar el compuesto del título como un sólido grisáceo, 31 gramos (93 por ciento, 2 etapas).

EM calculada para (C<sub>10</sub>H<sub>12</sub>ClN<sub>5</sub>O)<sup>+</sup> = 254, 256,

EM encontrada (electroaspersión): (M)<sup>+</sup> = 254, 256 (3:1).

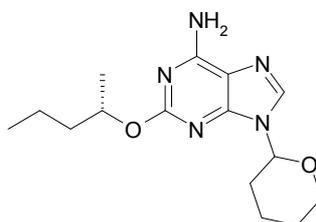
15 RMN de <sup>1</sup>H ((CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>SO): δ 8,43 (1H, s), 7,82 (2H, s), 5,55 (1H, dd), de 4,00 (1H, m), 3,69 (1H, m), 2,21 (1H, m), de 1,95 (2H, m), de 1,74 (1H, m), de 1,56 (2H, m).

Intermedio 3: 2-fluoro-9-(tetrahidro-2H-piran-2-il)-9H-purin-6-amina

20 La N,O-bis-(trimetil-silil)-acetamida (975 mililitros, 3,988 moles) se agregó a una suspensión agitada de la 2-fluoro-1H-purin-6-amina (200 gramos, 1,306 milimoles) (comercialmente disponible en, por ejemplo, AlliedSignal) en acetonitrilo anhidro (4 litros) en un reactor de laboratorio controlado de 10 litros, y la mezcla resultante se calentó a reflujo y se mantuvo a esa temperatura durante 2 horas. Entonces se volvió a programar el circulador, y la mezcla de reacción se enfrió hasta 0°C. Entonces se agregó lentamente una solución de acetato de tetrahidro-pirano (la preparación se describe en Tetrahedron Letters, 2006, 47(27), 4741, y también se describe en el Intermedio 1A) (282 gramos, 1,959 moles) en acetonitrilo anhidro (500 mililitros), por medio de un embudo de goteo, seguido por la adición por goteo de trifluoro-metan-sulfonato de trimetil-sililo (283 mililitros, 1,567 moles) por medio de un embudo de goteo. No se observó una exoterma significativa. La temperatura del circulador se volvió a ajustar hasta 10°C, y se mantuvo la agitación durante 1 hora adicional. La mezcla entonces se apagó mediante la adición de carbonato de sodio 1M (4 litros). Se observó un precipitado sólido, y se verificó el pH para quedar básico. Se agregó agua adicional a la suspensión (1 litros), y al reposar, las capas se separaron, conteniendo la capa acuosa una cantidad significativa de materiales inorgánicos sólidos. Se separó la mayor parte del sólido acuoso e inorgánico. La capa orgánica todavía contenía una cantidad significativa de sólidos, y se enfrió a 0°C con agitación para alentar una precipitación adicional. El sólido se recolectó mediante filtración, y el cojín se lavó muy bien con agua; entonces se secó al vacío a 40°C durante la noche, para dar el compuesto del título como un sólido color crema (152,8 gramos).

CLEM (Sistema D): t<sub>RET</sub> = 1,71 minutos; MH<sup>+</sup> = 238,

Intermedio 4: 2-[[1(S)-1-metil-butil]-oxi]-9-(tetrahidro-2H-piran-2-il)-9H-purin-6-amina



#### Método A

Se agregó terbutóxido de sodio (48,5 gramos, 505 milimoles) en porciones al (S)-2-pentanol (185 mililitros) (comercialmente disponible en, por ejemplo, Julich Chiral Solutions), y se agitó a temperatura ambiente hasta quedar homogéneo (Nota: la reacción es exotérmica). Se agregó la 2-cloro-9-(tetrahydro-2H-piran-2-il)-9H-purin-6-amina (32 gramos, 126 milimoles) (por ejemplo, como se preparó para el Intermedio 2), y la mezcla de reacción se calentó a 70°C durante 72 horas. La reacción se enfrió a temperatura ambiente, y se dividió entre acetato de etilo (500 mililitros) y agua (500 mililitros). La fase orgánica se lavó con una solución saturada de cloruro de sodio (100 mililitros), se secó (MgSO<sub>4</sub>), se filtró, y se evaporó. El residuo se trituró con éter y el material sólido se filtró. El precipitado se volvió a lavar con éter, y los filtrados combinados y se evaporaron. El material crudo (aproximadamente 30 gramos) se disolvió en sulfóxido de dimetilo (DMSO):metanol (1:1), y se purificó mediante cromatografía sobre una columna en fase inversa (C<sub>18</sub>) (330 gramos) utilizando un gradiente del 25 al 65 por ciento de acetonitrilo (+ ácido trifluoro-acético al 0,1 por ciento)-agua (+ ácido trifluoro-acético al 0,1 por ciento) sobre 8 volúmenes de la columna; las fracciones se neutralizaron inmediatamente con una solución acuosa saturada de carbonato de sodio. Las fracciones apropiadas se combinaron y se dividieron entre Diclorometano y carbonato ácido de sodio acuoso saturado. La fase orgánica se secó pasándola a través de una frita hidrofóbica, se filtró, y se evaporó, para dar el compuesto del título como una espuma color crema pálido (14,97 gramos).

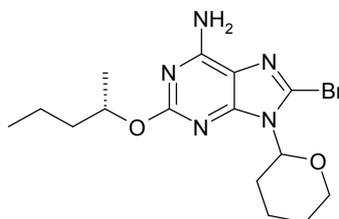
CLEM (Sistema B):  $t_{RET} = 2,21$  minutos; MH<sup>+</sup> 306

#### Método B

Se agregó terbutóxido de sodio (206 gramos, 2,144 moles) al (S)-2-pentanol (720 mililitros, 6,58 moles) (comercialmente disponible en, por ejemplo, Julich Chiral Solutions) en un matraz de fondo redondo de 2 litros. La mezcla se agitó a 50°C hasta que se disolvió todo el terbutóxido de sodio. Entonces se agregó la 2-fluoro-9-(tetrahydro-2H-piran-2-il)-9H-purin-6-amina (por ejemplo, como se preparó para el Intermedio 3) (130 gramos, 548 milimoles) en porciones durante 5 minutos. Después de 3 horas, el análisis de LCMS indicó el consumo completo del material de partida, y la mezcla se vertió en hielo/agua (3 litros), y entonces se extrajo con metil-terc-butil-éter. Esto dio como resultado la formación de una emulsión, y la mezcla se filtró a través de Celite, y la fase orgánica se separó. La capa acuosa entonces se trató con NaCl sólido, y entonces se volvió a extraer con metil-terc-butil-éter. Los extractos orgánicos se combinaron y se lavaron con salmuera, se secaron sobre sulfato de magnesio, se filtraron, y entonces se evaporaron, para proporcionar el compuesto del título como una goma color café pálido (158,59 gramos).

CLEM (Sistema D):  $t_{RET} = 2,65$  minutos; MH<sup>+</sup> 306,

Intermedio 5: 8-bromo-2-[(1S)-1-metil-butil]-oxi]-9-(tetrahydro-2H-piran-2-il)-9H-purin-6-amina



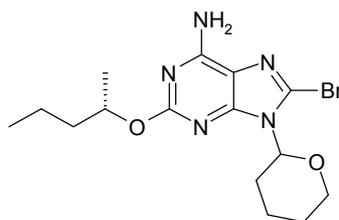
Se agregó N-bromo-succinimida (12,16 gramos, 68,3 milimoles) en porciones durante 5 minutos a una solución agitada de la 2-[(1S)-1-metil-butil]-oxi]-9-(tetrahydro-2H-piran-2-il)-9H-purin-6-amina (14,9 gramos, 48,8 milimoles) (por ejemplo, como se preparó para el Intermedio 4) en cloroformo (80 mililitros) a <5°C bajo una atmósfera de nitrógeno. La mezcla de reacción se agitó a <5°C durante 5 horas, luego se lavó con una solución saturada de carbonato ácido de sodio (80 mililitros), y entonces con agua (80 mililitros). La espuma se disolvió en Diclorometano (50 mililitros), y se lavó con agua (50 mililitros), y entonces con salmuera (50 mililitros). Las fases acuosas combinadas se lavaron con Diclorometano (50

mililitros). Las capas orgánicas combinadas se secaron a través de una frita hidrofóbica, y el disolvente se removió al vacío, para proporcionar el compuesto del título como una espuma color naranja (18,5 gramos).

CLEM (Sistema D):  $t_{RET} = 3,06$  minutos;  $MH^+ 384/386$ ,

Intermedio 5 (método alternativo): 8-bromo-2-[(1S)-1-metil-butil]-oxi-9-(tetrahydro-2H-piran-2-il)-9H-purin-6-amina

5

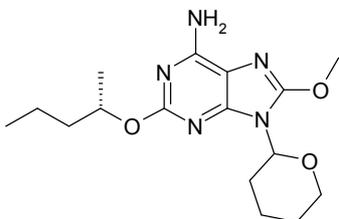


La 2-[(1S)-1-metil-butil]-oxi-9-(tetrahydro-2H-piran-2-il)-9H-purin-6-amina (1050 gramos) se disolvió en Diclorometano (10,5 litros), para dar una solución color amarillo/naranja, la cual se enfrió a 0°C. Se cargó N-bromo-succinimida (922 gramos, 1,5 equivalentes) en 3 porciones iguales con 20 minutos de separación, y la mezcla de reacción resultante se agitó a 0-5°C durante 4 horas. La reacción entonces se apagó mediante la adición de una solución de 500 gramos de pentahidrato de tiosulfato de sodio en 5,0 litros de agua. La bifase resultante se mezcló completamente a 20°C, y entonces las fases se separaron. Los orgánicos se lavaron nuevamente con una solución de 500 gramos de pentahidrato de tiosulfato de sodio en 5,0 litros de agua, entonces 500 gramos de di-fosfato de potasio en 5,0 litros de agua, y finalmente con 5,0 litros de agua. La fase orgánica se secó sobre sulfato de magnesio (822 gramos), y se evaporó sobre un evaporador giratorio hasta que la espumación se hizo prohibitiva. Entonces se intercambió el disolvente de la mezcla con metanol mediante la adición y remoción repetida del metanol hasta que se removió suficiente Diclorometano (como se confirmó mediante RMN). El producto se proporcionó como una goma color rojo/café que contenía disolvente introducido (1,28 kilogramos corregidos para el disolvente, 96 por ciento del rendimiento teórico).

10

15

Intermedio 6: 2-[(1S)-1-metil-butil]-oxi-8-(metiloxi)-9-(tetrahydro-2H-piran-2-il)-9H-purin-6-amina



20

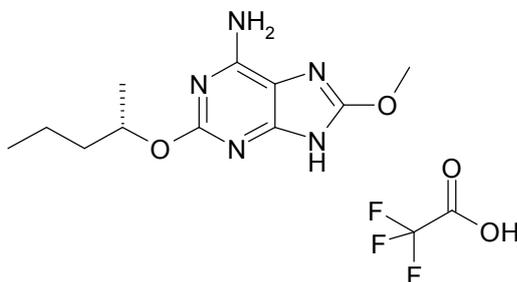
La 8-bromo-2-[(1S)-1-metil-butil]-oxi-9-(tetrahydro-2H-piran-2-il)-9H-purin-6-amina (por ejemplo, como se preparó para el Intermedio 5) (7,1 gramos, 18,48 milimoles) se disolvió en metanol anhidro (70 mililitros), y se agregó por goteo una solución de metóxido de sodio (25 por ciento) en metanol (8 mililitros), bajo una atmósfera de nitrógeno. La solución se calentó a reflujo a 90°C durante 4 horas bajo una atmósfera de nitrógeno. Se agregó metóxido de sodio en metanol adicional (solución al 25 por ciento, 3 mililitros), y la reacción se agitó a 60°C durante 16 horas adicionales. Se agregó una porción adicional de metóxido de sodio en metanol (solución al 25 por ciento, 5 mililitros), y la reacción se agitó a 90°C durante 7 horas adicionales. El disolvente se removió sobre el evaporador giratorio, y el producto crudo se dividió entre acetato de etilo (75 mililitros) y una solución saturada de cloruro de amonio (75 mililitros). La capa orgánica se lavó con salmuera (75 mililitros). El disolvente se removió sobre el evaporador giratorio, para proporcionar el compuesto del título como una espuma color naranja pálido (6 gramos).

25

30

CLEM (Sistema C):  $t_{RET} = 1,14$  minutos;  $MH^+ 336, 337$ ,

Intermedio 7: 2-[(1S)-1-metil-butil]-oxi-8-(metiloxi)-9H-purin-6-amina, sal de trifluoro-acetato



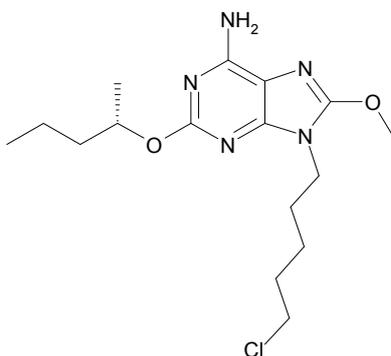
5 La 2-((1S)-1-metil-butil-oxi)-8-(metiloxi)-9H-purin-6-amina (6 gramos, de 17,89 milimoles) (por ejemplo, como se preparó para el Intermedio 6) se disolvió en metanol (50 mililitros). Se agregó por goteo ácido trifluoro-acético (20,67 mililitros, 268 milimoles), y la mezcla se agitó a 20°C durante 72 horas bajo una atmósfera de nitrógeno. El disolvente se removió al vacío, y el sólido resultante se lavó con acetato de etilo y se filtró. El filtrado se desprendió, y el residuo se lavó con acetato de etilo. Los residuos sólidos combinados se secaron en el homo al vacío durante 2 horas, para dar el compuesto del título como un sólido grisáceo (5,3 gramos).

CLEM (Sistema C):  $t_{RET} = 0,76$  minutos;  $MH^+$  252, 253,

Intermedio 7 (método alternativo): 2-((1S)-1-metil-butil-oxi)-8-(metiloxi)-9H-purin-6-amina, sal de trifluoro-acetato

10 La 8-bromo-2-((1S)-1-metil-butil-oxi)-9-(tetrahidro-2H-piran-2-il)-9H-purin-6-amina (1,26 kilogramos, corregido para el disolvente residual) se disolvió en metil-tetrahidrofurano anhidro (MeTHF) (11,4 litros), y se agregó metóxido de sodio al 25 por ciento en metanol (2,65 litros, 3,5 equivalentes). La mezcla de reacción resultante se calentó a 65°C +/- 5°C durante 3 horas. La reacción completa se enfrió a temperatura ambiente, y se lavó con una solución acuosa de cloruro de amonio al 20 por ciento en peso/volumen (6,3 litros, 2 veces), y salmuera (6,3 litros). La fase orgánica se secó con  
15  $MgSO_4$  (1,8 kilogramos), y se filtró, lavando a través con MeTHF (6,3 litros). Las fases orgánicas combinadas se evaporaron hasta obtener 6,3 litros mediante destilación al vacío. Se agregaron metanol (2,5 litros) y ácido trifluoro-acético (1,26 litros, 5 equivalentes), y la mezcla se calentó a 60°C durante 1,5 horas. Se agregó ciclopentil-metil-éter (CPME) (6,3 litros), y la mezcla se redujo hasta 6,3 litros mediante destilación al vacío. Se agregó nuevamente  
20 ciclopentil-metil-éter (CPME) (6,3 litros), y la reacción se concentró adicionalmente hasta obtener 6,3 litros, cuando se precipitaron los sólidos. La pasta acuosa se enfrió a 10°C, y entonces se añejó durante 30 minutos. El producto se filtró y se lavó con terc-butil-metil-éter (3,8 litros, 2 veces), y se secó al vacío a 40°C, para proporcionar un sólido blanco (886 gramos, 74 por ciento del rendimiento teórico).

Intermedio 8: 9-(5-cloro-pentil)-2-((1S)-1-metil-butil-oxi)-8-(metiloxi)-9H-purin-6-amina



25

30 La 2-((1S)-1-metil-butil-oxi)-8-(metiloxi)-9H-purin-6-amina, sal de trifluoro-acetato (600 miligramos, 1,642 milimoles) (por ejemplo, como se preparó para el Intermedio 7), y carbonato de potasio (567 miligramos, de 4,11 milimoles) se agitaron a 60°C en N,N'-dimetil-formamida (DMF) (10 mililitros) durante 1 hora bajo nitrógeno. La reacción se enfrió a temperatura ambiente cuando se agregaron 1-bromo-5-cloro-pentano (comercialmente disponible, por ejemplo, en Aldrich) (0,216 mililitros, 1,642 milimoles) y trietil-amina (0,343 mililitros, 2,464 milimoles), y la mezcla se agitó a 20°C bajo nitrógeno

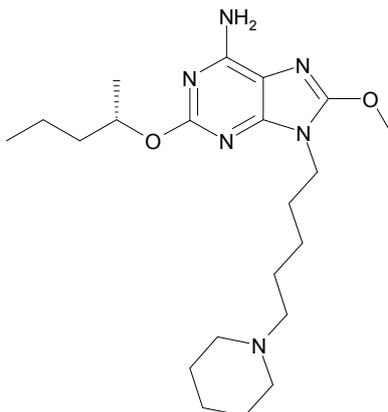
5 durante 16 horas. La mezcla entonces se diluyó con agua (10 mililitros), y salmuera (10 mililitros), y se extrajo con Diclorometano (10 mililitros, 2 veces). Los extractos orgánicos combinados se evaporaron, y el residuo se disolvió en Diclorometano, y se purificó mediante cromatografía en columna utilizando la Flashmaster II (cartucho de 70 gramos de amino-propilo) con un gradiente del 0 al 100 por ciento de acetato de etilo en ciclohexano durante 40 minutos. Las fracciones apropiadas se combinaron y se evaporaron al vacío, para dar el compuesto del título como una goma amarilla (430 miligramos).

CLEM (Sistema D):  $t_{RET} = 4,15$  minutos;  $MH^+ = 356, 358$ ,

Intermedio 8 (método alternativo como la sal de ácido sulfúrico): 9-(5-cloro-pentil)-2-[(1S)-1-metil-butil]-oxi]-8-(metiloxi)-9H-purin-6-amina, sal de ácido sulfúrico

10 Se agregó hidróxido de sodio (2M, 2,52 litros, 2,3 equivalentes) a una solución de la 2-[(1S)-1-metil-butil]-oxi]-8-(metiloxi)-9H-purin-6-amina, sal de trifluoro-acetato (800 gramos, 1,0 equivalentes) en NMP (3,08 litros). Se agregó 1-bromo-5-cloro-pentano (432 mililitros, 1,5 equivalentes). La mezcla de reacción se calentó a 50°C durante 6 horas. La mezcla de reacción se enfrió a 20-25°C. Se agregó acetato de etilo (8,0 litros), seguido por agua (1,6 litros). Después de agitar durante 10 minutos, las fases se separaron, y la fase orgánica se lavó entonces con agua (1,6 litros). La fase de acetato de etilo se diluyó adicionalmente con acetato de etilo (4,0 litros), y se calentó a 50°C. Se agregó por goteo ácido sulfúrico (117 mililitros, 1 equivalente). La mezcla de reacción se enfrió a 10°C durante 1,5 horas y se añejó durante media hora. El producto se aisló mediante filtración como un sólido blanco, se lavó sobre el filtro con acetato de etilo (2,4 litros), y se secó a presión reducida a 40°C (570 gramos, 57 por ciento del rendimiento teórico).

Intermedio 9: 2-[(1S)-1-metil-butil]-oxi]-8-(metiloxi)-9-[5-(1-piperidinil)-pentil]-9H-purin-6-amina

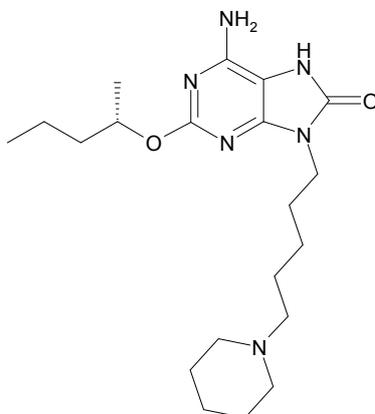


20 La 9-(5-cloro-pentil)-2-[(1S)-1-metil-butil]-oxi]-8-(metiloxi)-9H-purin-6-amina (por ejemplo, como se preparó para el Intermedio 8) (80 miligramos, 0,225 milimoles), trietil-amina (0,031 mililitros, 0,225 milimoles), y piperidina (0,045 mililitros, 0,45 milimoles), se suspendieron en N,N'-dimetil-formamida (DMF) (3 mililitros), y la mezcla se calentó a 70°C durante 18 horas. El disolvente se removió y el residuo se dividió entre Diclorometano (4 mililitros), y bicarbonato de sodio saturado (4 mililitros). La fase acuosa se volvió a extraer con Diclorometano adicional, y los extractos orgánicos combinados se concentraron, y el residuo se disolvió en 1:1 de metanol:sulfóxido de dimetilo (DMSO) (1 mililitro), y se purificó mediante MDAP (Método A). Las fracciones que contenían al producto se combinaron y se evaporaron bajo una corriente de nitrógeno, para dar el compuesto del título (47,2 miligramos).

CLEM (Sistema D):  $t_{RET} = 3,11$  minutos;  $MH^+ = 405$ ,

### 30 Ejemplos

**Ejemplo de Referencia 1: 6-amino-2-[(1S)-1-metil-butil]-oxi]-9-[5-(1-piperidinil)-pentil]-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona**



Una solución de cloruro de hidrógeno en dioxano (4M, 0,71 mililitros) se agregó a una solución de la 2-[[[(1S)-1-metil-butil]-oxi]-8-(metiloxi)-9-[5-(1-piperidinil)-pentil]-9H-purin-6-amina (por ejemplo, como se preparó para el Intermedio 9) (0,046 gramos, 0,126 milimoles) en metanol (3 mililitros). La mezcla resultante se dejó reposar durante la noche a temperatura ambiente, y entonces se ventiló bajo nitrógeno. El residuo se disolvió en metanol, y se cargó sobre un cartucho SPE de 2 gramos de amino-propilo (previamente acondicionado con metanol), se eluyó con metanol, y la solución resultante se ventiló bajo nitrógeno, para dar el compuesto del título como un sólido amarillo (40,97 miligramos).

CLEM (Sistema D): tRET = 2,70 minutos; MH+ = 391,

Una muestra preparada de una manera similar (1,7 gramos) se recrystalizó a partir de acetato de etilo (aproximadamente 50 mililitros). Los cristales se recolectaron, se lavaron con acetato de etilo helado (15 mililitros), y se secaron al vacío a 50°C durante 3 horas, para dar el compuesto del título como un sólido cristalino color crema (1,33 gramos).

Establecimiento de punto de fusión (DSC): 207,4°C (véase la Figura 2).

XRPD: (véase la Figura 1 y la Tabla 1).

**Ejemplo de Referencia 1: (método alternativo): 6-amino-2-[[[(1S)-1-metil-butil]-oxi]-9-[5-(1-piperidinil)-pentil]-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona**

La 9-(5-cloro-pentil)-2-[[[(1S)-1-metil-butil]-oxi]-8-(metiloxi)-9H-purin-6-amina, sal de ácido sulfúrico (254 gramos, 1,0 equivalentes) se disolvió en sulfóxido de dimetilo (1,27 litros), y piperidina (280 mililitros, 5 equivalentes). La mezcla de reacción se calentó a 70 ± 3°C durante 15,5 horas. La mezcla de reacción se enfrió a 20 ± 3°C. Se agregó tolueno (2,5 litros), seguido por agua (1,25 litros). Después de agitar durante 10 minutos, las fases se separaron y la fase de tolueno superior se lavó con agua (0,5 litros). Se agregó una solución de ácido clorhídrico (2,24 moles) en agua (1,5 litros). La mezcla se agitó durante 10 minutos, y entonces se dejó separarse con la fase inferior (acuosa) retenida. La solución acuosa se calentó a 50 ± 3°C durante 17 horas, y entonces se enfrió a 20 ± 3°C. Se agregó por goteo hidróxido de sodio acuoso (2M, aproximadamente 840 mililitros), hasta que la solución tuvo un pH de 10 a 11. La suspensión resultante se enfrió a 10 ± 3°C, y se añejó durante 30 minutos adicionales. Entonces se filtró. La torta se lavó con agua (7,6 litros), y el producto se secó a presión reducida a 60°C con una purga de nitrógeno hasta obtener un peso constante (207 gramos, 95 por ciento).

Polimorfismo

La difracción en polvo de rayos-X (XRPD), y la calorimetría de exploración diferencial (DSC) se llevaron a cabo sobre la 6-amino-2-[[[(1S)-1-metil-butil]-oxi]-9-[5-(1-piperidinil)-pentil]-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona de acuerdo con los siguientes métodos.

XRPD

Los datos de difracción en polvo de rayos-X (XRPD) se adquirieron en un difractor de polvo PANalytical X'Pert Pro, equipado con un detector X'Celerator. Las condiciones de la adquisición fueron: radiación: Cu K $\alpha$ , tensión del generador: 40 kV, corriente del generador: 45 mA, ángulo de inicio: 2,0° 2 $\theta$ , ángulo de final: 40,0° 2 $\theta$ , tamaño de paso: 0,0167° 2 $\theta$ . El tiempo por paso fue de 31,750 segundos. La muestra se preparó montando unos cuantos miligramos de la muestra en una placa de oblea de Si (fondo de cero), dando como resultado una capa delgada de polvo.

Las posiciones de picos característicos y los espacios-d calculados se resumen en la Tabla 1, Éstos se calcularon a partir de los datos brutos utilizando el software Highscore. El error experimental en las posiciones de picos es de aproximadamente  $\pm 0,1^\circ 2\theta$ . Las intensidades de picos relativas variarán debido a la orientación preferida.

Tabla 1

Posiciones de Picos de XRPD Característicos para la Forma 1 en Estado Sólido de la 6-amino-2-[[1S)-1-metil-butil]-oxi]-9-[5-(1-piperidinil)-pentil]-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona	
Forma 1	
$2\theta / ^\circ$	espacios-d / Å
5,0	17,6
10,0	8,8
12,7	7,0
13,5	6,5
13,8	6,4
16,6	5,3
18,9	4,7
20,0	4,4
22,2	4,0
23,3	3,8
24,2	3,7
26,1	3,4

5

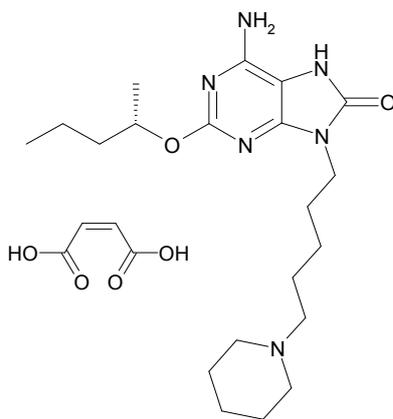
En la Figura 1 se muestra un difractograma de difracción en polvo de rayos-X (XRPD) representativo de la 6-amino-2-[[1S)-1-metil-butil]-oxi]-9-[5-(1-piperidinilo)-pentil]-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona.

DSC

El termograma de calorimetría de exploración diferencial (DSC) se obtuvo utilizando un calorímetro TA Instruments. La muestra se pesó en una bandeja de aluminio, se colocó encima una tapa de la bandeja y se apretó suavemente sin sellar la bandeja. El experimento se condujo utilizando una velocidad de calentamiento de  $10^{\circ}\text{C min}^{-1}$ .

5 En la Figura 2 se muestra un termograma de calorimetría de exploración diferencial (DSC) representativo de la 6-amino-2-[[[1S]-1-metil-butil]-oxi]-9-[5-(1-piperidinilo)-pentil]-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona.

**Ejemplo 2: 6-amino-2-[[[1S]-1-metil-butil]-oxi]-9-[5-(1-piperidinil)-pentil]-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona, sal de maleato**



#### 10 Preparación 1

La 6-amino-2-[[[1S]-1-metil-butil]-oxi]-9-[5-(1-piperidinil)-pentil]-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona (por ejemplo, como se preparó para el Ejemplo de Referencia 1) (0,384 gramos, 0,98 milimoles) se disolvió en alcohol isopropílico (4,6 mililitros, 12 volúmenes), y se calentó a  $40^{\circ}\text{C}$ . Se agregó ácido maleico (0,114 gramos, 0,98 milimoles). Se obtuvo una solución transparente. Durante el enfriamiento hasta la temperatura ambiente, tuvo lugar la precipitación. La pasta acuosa se filtró, lavando con alcohol isopropílico (5 mililitros), y se secó a presión reducida a  $40^{\circ}\text{C}$  hasta obtener un peso constante. La 6-amino-2-[[[1S]-1-metil-butil]-oxi]-9-[5-(1-piperidinilo)-pentil]-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona, sal de maleato (0,305 gramos, 61 por ciento) se obtuvo como un sólido blanco.

20 RMN de  $^1\text{H}$  confirma una proporción de 1:1 del ácido maleico : 6-amino-2-[[[1S]-1-metil-butil]-oxi]-9-[5-(1-piperidinilo)-pentil]-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona. RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta$  ppm, 9,85 (1H, s,  $(\text{CH}_2)_3\text{NHCO}$ ), 8,85 (1H, br s,  $\text{NH}^+$ ), 6,39 (2H, s,  $\text{NH}_2$ ), 6,02 (2H, s,  $\text{HO}_2\text{C}(\text{CH})_2$ ), 5,00 (1H, m,  $J = 6,2$  Hz,  $\text{CH}_3\text{CH}$ ), 3,68 (2H, t,  $J = 6,8$ , Hz  $\text{NCH}_2$ ), 3,40 (2H, m,  $\text{NCH}_2$ ), 2,98 (2H, m,  $J = 8,1$  Hz  $\text{NCH}_2$ ), 2,82 (2H, br s,  $\text{NCH}_2$ ), 1,85-1,24 (16H, m,  $8 \times \text{CH}_2$ ), 1,21 (3H, d,  $J = 6,1$  Hz,  $\text{CHCH}_3$ ), 0,89 (3H, t,  $J = 7,3$  Hz,  $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 2,5 (disolvente ( $\text{DMSO}$ )).

#### Preparación 2

25 Una solución de la 6-amino-2-[[[1S]-1-metil-butil]-oxi]-9-[5-(1-piperidinilo)-pentil]-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona (por ejemplo, como se preparó para el Ejemplo de Referencia 1) (1,46 gramos, 3,74 mili-moles) en alcohol isopropílico (14,6 mililitros, 10 volúmenes) se clarificó (filtrando a temperatura ambiente a través de un cartucho BondElut), y entonces se calentó a aproximadamente  $50^{\circ}\text{C}$ . Se agregó una solución de ácido maleico (0,434 gramos, 3,74 milimoles) en alcohol isopropílico (2,9 mililitros, 2 volúmenes). La solución resultante entonces se sembró y se enfrió a  $45^{\circ}\text{C}$ . Se agregó una siembra adicional. La pasta acuosa resultante se enfrió hasta la temperatura ambiente, y se mantuvo así durante la noche (aproximadamente 16 horas), entonces se enfrió en un baño de hielo/agua durante 30 minutos. La pasta acuosa se filtró, lavando con alcohol isopropílico (4,5 mililitros, 3 volúmenes, y luego 3 mililitros, 2 volúmenes). El producto se secó a presión reducida a  $40^{\circ}\text{C}$  hasta obtener un peso constante, para dar la 6-amino-2-[[[1S]-1-metil-butil]-oxi]-9-[5-(1-piperidinilo)-pentil]-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona, sal de maleato (1,305 gramos, 69 por ciento).

El análisis mediante difracción en polvo de rayos-X (XRPD) (Figura 3) indicó que esta muestra era cristalina.

#### 35 Datos Biológicos

El compuesto del Ejemplo de Referencia 1 se probó para determinar su actividad biológica in vitro de acuerdo con los siguientes ensayos, o ensayos similares:

Ensayo para la inducción de Interferón- $\alpha$  utilizando células mononucleares de sangre periférica humanas conservadas criogénicamente (PBMC)

5 Preparación del Compuesto

El compuesto del Ejemplo de Referencia 1 se disolvió en sulfóxido de dimetilo (DMSO). Se prepararon diluciones dobles en serie con sulfóxido de dimetilo (DMSO), y se dosificaron 0,25 microlitros en placas de polipropileno Greiner transparentes de 384 pocillos.

Preparación de PBMC

- 10 Se obtuvieron muestras de sangre de hasta 200 mililitros de donadores humanos saludables. Se sobrepuso sangre entera en volúmenes de 25 mililitros sobre gradientes de 15 mililitros de Ficoll en tubos Leucosep, y se centrifugó a 1,000 g durante 20 minutos. Las células de la banda en la interfase de plasma/Histopaque se removieron cuidadosamente, y se lavaron dos veces con suero regulado con fosfato (PBS) (centrifugado a 400 g durante 5 minutos para cosecharse). El aglomerado final se volvió a suspender en un medio de congelación (90 por ciento de suero inactivado por calor, 10 por ciento de sulfóxido de dimetilo (DMSO)) hasta una concentración celular de  $4 \times 10^7$  células/mililitro. Entonces las células  
15 vueltas a suspender se conservaron criogénicamente (se congelaron) utilizando un congelador a velocidad controlada, y se almacenaron a  $-140^{\circ}\text{C}$  durante hasta 4 meses.

Incubación y Ensayo para Interferón- $\alpha$

- 20 Inmediatamente antes al ensayo, los frascos de las células mononucleares de sangre periférica (PBMC) conservadas criogénicamente (congeladas) se descongelaron rápidamente en un baño de agua a  $37^{\circ}\text{C}$ . Se preparó una dilución de 1:10 de las células en azul de tripano, y se contaron. Las células mononucleares de sangre periférica (PBMC) entonces se diluyeron en un medio de crecimiento [RPMI 1640 que contenía suero fetal de becerro al 10 por ciento (Invitrogen), Penicilina+Estreptavidina (Gibco catálogo # 25030-024, 1:50), L-Glutamina 2 mM, y 1,000 unidades/mililitro de IFN- $\gamma$  humano recombinante (Preprotech catálogo # 300-02)] hasta una densidad de  $1 \times 10^6$  células/mililitro, y se  
25 dosificaron 50 microlitros/pocillo en las placas de polipropileno Greiner transparentes de 384 pocillos que contenían 0,25 microlitros de sulfóxido de dimetilo (DMSO), o el compuesto de prueba en 0,25 microlitros de sulfóxido de dimetilo (DMSO). La concentración superior final del compuesto típicamente fue 50  $\mu\text{M}$  o de 5  $\mu\text{M}$  (para obtener el ajuste de la curva para los compuestos altamente activos). Las placas se incubaron durante 24 horas a  $37^{\circ}\text{C}$  en  $\text{CO}_2$  al 5 por ciento.

- 30 Se utilizó un inmunoensayo de múltiples isoformas para cuantificar el IFN- $\alpha$  en los sobrenadantes de las células mononucleares de sangre periférica (PBMC). El anticuerpo policlonal de conejo contra el IFN- $\alpha$  humano (número de catálogo 31101, Stratech Scientific) se diluyó a 1:10,000 en regulador de ensayo (RPMI 1640 que contenía suero fetal de becerro al 10 por ciento, Invitrogen), y se agregaron 20 microlitros a cada pocillo de una placa GAR (recubierta con anticuerpo de cabra anti-conejo) de 384 pocillos de un solo punto pequeño MSD (Meso-Scale Discovery). La placa se incubó durante 1 hora a temperatura ambiente con agitación vigorosa. En seguida de tres lavados con suero regulado  
35 con fosfato (PBS), se agregaron 20 microlitros del sobrenadante celular a cada pocillo de la placa. La placa entonces se incubó durante 1 hora a temperatura ambiente con agitación vigorosa. Un par de anticuerpos monoclonales para IFN- $\alpha$  (números de catálogo 21100 y 21112, Stratech Scientific) se marcaron con sulfo-TAG (MSD), se diluyeron a 1:1,000 en regulador de ensayo, y se agregaron 20 microlitros a cada pocillo de la placa. La placa además se incubó durante 1 hora a temperatura ambiente con agitación vigorosa. En seguida de tres lavados con suero regulado con fosfato (PBS), se  
40 agregaron a cada pocillo 30 microlitros de regulador T dos veces (MSD), y la placa se leyó en un lector de placas MSD Sector 6000,

Los datos se normalizaron hasta los controles de placa internos de Resiquimod 1  $\mu\text{M}$  (n = 16), y sulfóxido de dimetilo (DMSO) (n = 16). Los valores  $\text{pCE}_{50}$  se derivaron mediante el ajuste de curva de 4 parámetros con IRLS en ActivityBase, a partir de la dilución doble en serie de 11-puntos de los compuestos de prueba.

45 Resultados

El Ejemplo de Referencia 1 tuvo una  $\text{pCE}_{50}$  promedio de  $>8,3$

Ensayo para la inducción de Interferón- $\alpha$  y TNF- $\alpha$  utilizando células mononucleares de sangre periférica (PBMC) humanas frescas

Preparación del compuesto

El compuesto del Ejemplo de Referencia 1 se disolvió y se diluyó en serie en sulfóxido de dimetilo (DMSO) para dar 100 veces el intervalo de concentración requerido utilizando un Biomek 2000. Se transfirió 1 microlitro del compuesto de prueba a las placas de cultivo de tejido de 96 pocillos utilizando un Biomek FX. Cada compuesto se ensayó por duplicado para cada donador. Cada placa contenía una serie de dilución del Resiquimod agonista de TLR7/8 como estándar, y la Columna 11 contenía 1 microlitro de Resiquimod 200  $\mu\text{M}$  (dando una concentración final 2  $\mu\text{M}$ , utilizada para definir la respuesta máxima aproximada al Resiquimod).

#### Preparación de células mononucleares de sangre periférica (PBMC)

Se recolectaron muestras de sangre a partir de dos donadores humanos en heparina de sodio (10 Unidades/mililitro). Se sobrepusieron volúmenes de 25 mililitros de sangre entera sobre 15 mililitros de Histopaque en tubos Leucosep, los cuales se centrifugaron a 800 g durante 20 minutos, y se removió cuidadosamente la banda de la interfase de plasma/Histopaque. Las células recolectadas se centrifugaron a 2,500 revoluciones por minuto durante 10 minutos, y el aglomerado se volvió a suspender en 10 mililitros del medio (RPMI 1640 (bajo en endotoxina) complementado con suero fetal de becerro al 10 por ciento en volumen/volumen (FCS, bajo en endotoxina), 100 Unidades/mililitro de penicilina G, 100 microgramos/mililitro de estreptomina, L-glutamina 10 mM, y aminoácidos o esenciales 1 $\times$ ). Se preparó una dilución de 1:20 de las células utilizando azul de tripano, y las células se contaron utilizando a hemocitómetro. Las células mononucleares de sangre periférica (PBMC) se diluyeron para dar una concentración final de  $2 \times 10^6$  por mililitro, y se agregaron 100 microlitros de esta suspensión de células a los pocillos que contenían 1 microlitro del compuesto de prueba diluido.

#### Incubación y Ensayos para Interferón- $\alpha$ y TNF- $\alpha$

Las preparaciones de células se incubaron durante 24 horas (37°C, 95 por ciento de aire, 5 por ciento de CO<sub>2</sub>), después de lo cual, se removió una muestra del sobrenadante utilizando el Biomek FX, y se ensayó tanto para IFN- $\alpha$  como para TNF- $\alpha$  utilizando la plataforma de ensayo de electroquimiluminiscencia MSD (Mesoscale Discovery). El ensayo de IFN- $\alpha$  se llevó a cabo de una manera similar a aquélla descrita anteriormente. El ensayo de TNF- $\alpha$  se llevó a cabo de acuerdo con las instrucciones del kit (Número de Catálogo K111BHB).

La citoquina liberada se expresó como un porcentaje del control de Resiquimod 2  $\mu\text{M}$  (columna 11). Este porcentaje se graficó contra la concentración del compuesto, y se determinó la pCE<sub>50</sub> para la respuesta mediante ajuste de curva no lineal de mínimos cuadrados. Para las respuestas de IFN- $\alpha$  en términos generales, se seleccionó un modelo logístico de 4 parámetros. Para las respuestas de TNF, en donde se obtuvo una clara respuesta máxima (es decir, se observó una planicie bien definida en la respuesta), entonces se utilizó en general un modelo de 4 parámetros. Si la asíntota superior de la curva no estaba bien definida, entonces el ajuste de la curva fue restringido en general a una respuesta máxima del 100 por ciento (es decir, a la respuesta al Resiquimod 2  $\mu\text{M}$ ) o a la respuesta de la concentración más alta probada si ésta fue mayor que la respuesta al Resiquimod. Algunas curvas tenían forma de campana para una o ambas citoquinas, y los datos de citoquina sobre la pendiente descendente de la respuesta en forma de campana (es decir, las concentraciones por encima de aquéllas que daban la respuesta máxima) se excluyeron en general del ajuste, usualmente con la excepción de la concentración inmediatamente por encima de la respuesta pico. Por consiguiente, el ajuste de la curva se concentró sobre la pendiente ascendente de la curva de respuesta a la dosis.

#### Resultados

El Ejemplo de Referencia 1 mostró una pCE<sub>50</sub> promedio para la inducción de IFN- $\alpha$  y TNF- $\alpha$  de  $\geq 9$  y  $\leq 6,5$ , respectivamente.

#### Ensayo de citoquina impulsado por el alérgeno utilizando células mononucleares de sangre periférica (PBMC) humanas frescas de voluntarios atópicos

Se desarrolló un ensayo basado en el co-cultivo de células mononucleares de sangre periférica (PBMC) derivadas de un donador humano atópico, con el alérgeno y los compuestos de prueba. Después de 5 a 6 días de cultivo, se ensayaron los sobrenadantes celulares para un número de citoquinas.

#### Preparación del compuesto

El compuesto del Ejemplo de Referencia 1 se disolvió en sulfóxido de dimetilo (DMSO); entonces se diluyó en serie en un medio de crecimiento (medio RPMI 1640 complementado con 100 Unidades/mililitro de penicilina G, 100 microgramos/mililitro de estreptomina, y L-glutamina 10 mM), para dar 4 veces el intervalo de concentración requerido en la presencia de sulfóxido de dimetilo (DMSO) al 0,04 por ciento. Cada compuesto se ensayó por triplicado en todas las concentraciones.

#### Preparación de PBMC

5 La sangre humana desfibrinada de voluntarios que se sabía que eran alérgicos al pasto Timothy se centrifugó a 2500 revoluciones por minuto durante 15 minutos. Se recolectó la capa superior de suero y se inactivó por calor a 56°C durante 30 minutos (suero autólogo-HI). La capa inferior de las células se volvió a suspender en 50 mililitros de suero regulado con fosfato (PBS) (+Ca +Mg), se sobrepusieron 25 mililitros de sangre diluida sobre 20 mililitros de Linfoprep en tubos de 50 mililitros, y entonces se centrifugaron a 2,500 revoluciones por minuto durante 20 minutos a temperatura ambiente. La banda en la interfase del suero/Linfoprep se removió cuidadosamente. Las células recolectadas se lavaron con suero regulado con fosfato (PBS) y se volvieron a suspender a  $4 \times 10^6$  por mililitro en el medio de crecimiento con suero autólogo-HI. Las células mononucleares de sangre periférica (PBMC) se sembraron a  $0,4 \times 10^6$  células por pocillo en placas de 96 pocillos de fondo plano en la presencia de 10 microgramos/mililitro de antígeno de pasto Timothy (Alk Abello) y los compuestos de prueba en las concentraciones apropiadas, en un volumen total de 200 microlitros.

#### Incubación y ensayos de citoquina

Las placas se incubaron a 37°C en CO<sub>2</sub> al 5 por ciento durante hasta 6 días. El medio celular a partir de cada pocillo se cosechó y se almacenó a -20°C antes del análisis. Las citoquinas y las quimiocinas en los sobrenadantes se detectaron utilizando placas de 10 puntos Meso Scale Discovery para las citoquinas TH1/Th2 humanas.

15 En el ensayo anterior, los datos a partir de los estudios separados con las PBMC de tres donadores alérgicos, mostraron que el Ejemplo de Referencia 1 reduce la producción de las citoquinas Th2 IL-5 e IL-13 de una forma en respuesta a la dosis, observándose una reducción del  $\geq 50$  por ciento con 0,04  $\mu\text{M}$ , comparándose con el control de alérgico.

El Ejemplo de Referencia 1 también se probó para determinar su actividad biológica in vivo en el siguiente modelo:

#### Ensayo para la inducción de Interferón- $\alpha$ en seguida de la dosificación intranasal en el ratón

20 El compuesto del Ejemplo de Referencia 1 se disolvió en Tween 80 al 0,2 por ciento en solución salina, y se administró intranasalmente (5 microlitros en total entre las fosas nasales) a los ratones BALB/c hembras (n = 6) bajo anestesia general. Los animales se sacrificaron 2 horas después de la dosificación, y se tomó una muestra de sangre terminal, y se midieron los niveles de Interferón- $\alpha$  en suero utilizando un ensayo ELISA.

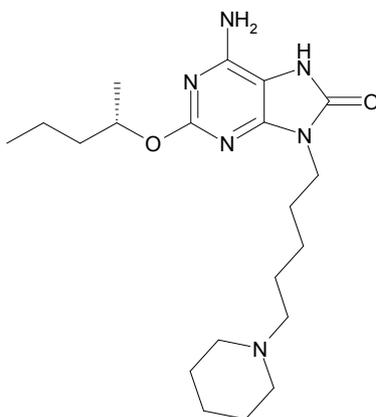
25 En este modelo, el Ejemplo de Referencia 1 mostró niveles promedio de Interferón- $\alpha$  en suero de 21,029 picogramos/mililitro. No se detectó Interferón- $\alpha$  en los controles tratados con vehículo.

#### Prueba de estabilidad

30 La 6-amino-2-[[[1S)-1-metil-butil]-oxi]-9-[5-(1-piperidinil)-pentil]-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona, sal de maleato, no exhibió ninguna degradación significativa bajo las condiciones especificadas en los Lineamientos de Calidad Q1A(R2) (Prueba de Estabilidad de Nuevas Sustancias y Productos de Fármacos), y Q1B (Prueba de Fotoestabilidad de Nuevas Sustancias y Productos de Fármacos) estipulados por la International Conference for Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use (ICH) (Conferencia Internacional para la Armonización de los Requerimientos Técnicos para el Registro de Productos Farmacéuticos para Uso Humano, ICH).

## REVINDICACIONES

1, Un compuesto que es la 6-amino-2-[[[(1S)-1-metilbutil]-oxi]-9-[5-(1-piperidinil)-pentil]-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona:



5 en la forma de una sal de maleato.

2, Un compuesto que es la 6-amino-2-[[[(1S)-1-metilbutil]-oxi]-9-[5-(1-piperidinil)-pentil]-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona, en la forma de una sal de maleato, para su uso en terapia.

3, Un compuesto que es la 6-amino-2-[[[(1S)-1-metilbutil]-oxi]-9-[5-(1-piperidinil)-pentil]-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona, en la forma de una sal de maleato, para su uso en el tratamiento de enfermedades alérgicas y de otras afecciones inflamatorias, enfermedades infecciosas, y cáncer.

4, Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 3, en el que la enfermedad inflamatoria o alérgica es rinitis alérgica.

5, Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 3, en el que la enfermedad inflamatoria o alérgica es asma.

6, Un adyuvante de vacuna, que comprende un compuesto que es 6-amino-2-[[[(1S)-1-metilbutil]-oxi]-9-[5-(1-piperidinil)-pentil]-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona, en la forma de una sal de maleato.

7, Una composición inmunogénica, que comprende un antígeno o una composición de antígeno y un compuesto que es 6-amino-2-[[[(1S)-1-metilbutil]-oxi]-9-[5-(1-piperidinil)-pentil]-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona, en la forma de una sal de maleato.

8, Una composición de vacuna, que comprende un antígeno o una composición de antígeno y un compuesto que es la 6-amino-2-[[[(1S)-1-metilbutil]-oxi]-9-[5-(1-piperidinil)-pentil]-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona, en la forma de una sal de maleato.

9, El uso de un compuesto que es 6-amino-2-[[[(1S)-1-metilbutil]-oxi]-9-[5-(1-piperidinil)-pentil]-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona, en la forma de una sal de maleato, para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de las enfermedades alérgicas y otras afecciones inflamatorias, las enfermedades infecciosas, y cáncer.

10, El uso de un compuesto de acuerdo con la reivindicación 9, en el que la enfermedad inflamatoria o alérgica es rinitis alérgica.

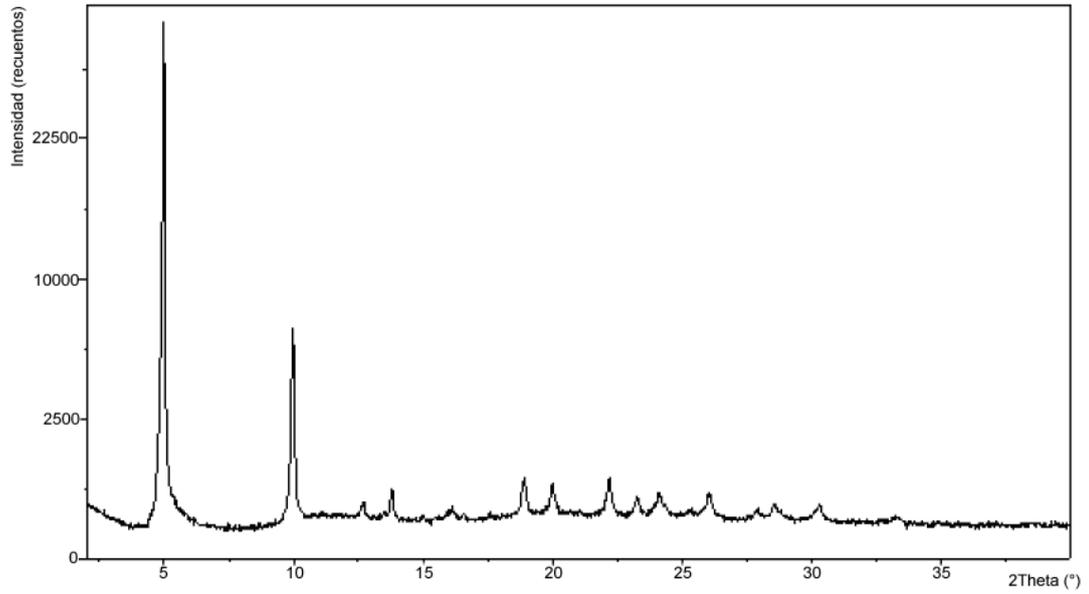
11, El uso de un compuesto de acuerdo con la reivindicación 9, en el que la enfermedad inflamatoria o alérgica es asma.

12, Una composición farmacéutica que comprende un compuesto que es 6-amino-2-[[[(1S)-1-metilbutil]-oxi]-9-[5-(1-piperidinil)-pentil]-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona, en la forma de una sal de maleato, y uno o más diluyentes o vehículos farmacéuticamente aceptables.

13, Una composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 12, que se administra mediante administracional intranasal o inhalada..

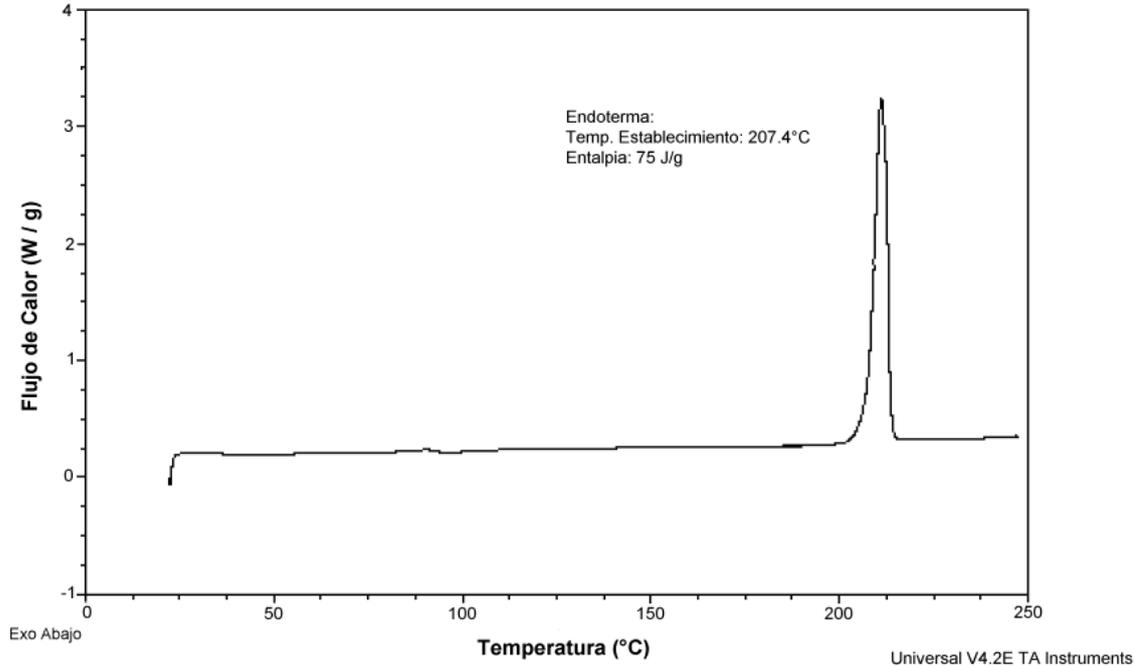
**FIG. 1**

Difractograma de XRPD de la 6-amino-2-[[[(1S)-1-metil-butil]-oxi]-9-[5-(1-piperidinil)-pentil]-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona (Ejemplo de Referencia 1)



**FIG. 2**

Termograma de DSC de la 6-amino-2-[[[(1S)-1-metil-butil]-oxi]-9-[5-(1-piperidinil)-pentil]-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona (Ejemplo de Referencia 1)



**FIG. 3**

Difractograma de XRPD de la 6-amino-2-[[[(1S)-1-metil-butil]-oxi]-9-[5-(1-piperidinil)-pentil]-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona, sal de maleato (Ejemplo 2, preparación 2)

