(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 617 451**

(51) Int. Cl.:

C07D 471/04 (2006.01)
A61K 31/4745 (2006.01)
A61K 39/00 (2006.01)
A61P 31/12 (2006.01)
A61P 37/00 (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **16.08.2011** **PCT/US2011/047901**

(87) Fecha y número de publicación internacional: **23.02.2012** **WO2012024284**

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **16.08.2011** **E 11818656 (8)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **25.01.2017** **EP 2606047**

(54) Título: **Composiciones lipidadas de compuestos modificadores de la respuesta inmunitaria, formulaciones, y métodos**

(30) Prioridad:

17.08.2010 US 374512 P

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
19.06.2017

(73) Titular/es:

3M INNOVATIVE PROPERTIES COMPANY (100.0%)
3M Center, Post Office Box 33427
Saint Paul, MN 55133-3427, US

(72) Inventor/es:

WIGHTMAN, PAUL D.

(74) Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

ES 2 617 451 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

Composiciones lipidadas de compuestos modificadores de la respuesta inmunitaria, formulaciones, y métodos

Antecedentes

En años recientes se ha hecho un esfuerzo, con éxito significativo, para descubrir nuevos compuestos farmacéuticos que actúan estimulando ciertos aspectos claves del sistema inmunitario, así como suprimiendo otros ciertos aspectos (véanse, por ejemplo, las patentes U.S. n°s 6.039.969 (Tomai et al.) y 6.200.592 (Tomai et al.). Estos compuestos, denominados aquí como modificadores de la respuesta inmunitaria (IRMs), parecen actuar a través de mecanismos del sistema inmunitario básicos conocidos como receptores tipo Toll (TLRs) para inducir la biosíntesis de citocinas seleccionadas, la inducción de moléculas coestimuladoras, y una mayor capacidad para presentar antígenos.

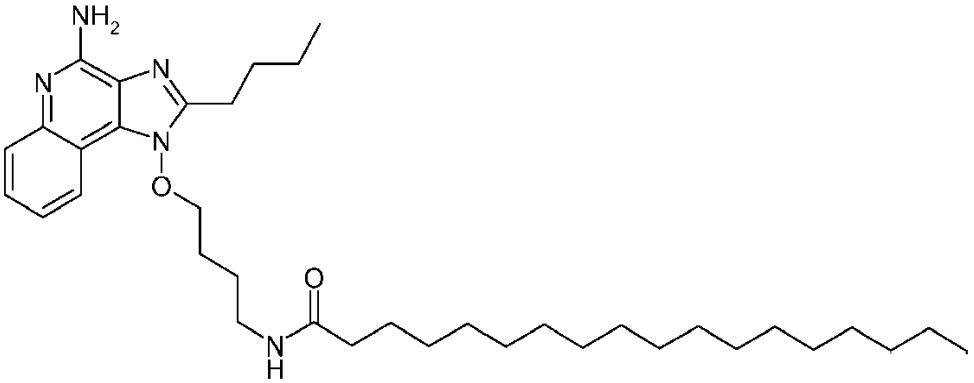
Muchos IRMs pueden ser útiles para tratar una amplia variedad de enfermedades y afecciones. Por ejemplo, ciertos IRMs pueden ser útiles para tratar enfermedades víricas (por ejemplo, virus del papiloma humano, hepatitis, herpes), neoplasias (por ejemplo, carcinoma de células basales, carcinoma de células escamosas, queratosis actínica, melanoma), enfermedades mediadas por T_H2 (por ejemplo, asma, rinitis alérgica, dermatitis atópica), y enfermedades autoinmunitarias. Ciertos IRMs también pueden ser útiles, por ejemplo, como adyuvantes de vacunas.

Muchos IRMs conocidos son derivados de imidazoquinolinaminas (véase, por ejemplo, la patente U.S. nº 4.689.338 (Gerster)), pero igualmente se conocen otras clases de compuestos (véanse, por ejemplo, las patentes U.S. n°s 5.446.153 (Lindstrom et al.); 6.194.425 (Gerster et al.); y 6.110.929 (Gerster et al.); y las Publicaciones Internacionales Números WO2005/079195 (Hays et al.), WO2004/032829, WO2005/018555, WO2006/028962 y WO2012/167081.

A la vista del gran potencial terapéutico para los IRMs en el tratamiento de una amplia variedad de enfermedades y afecciones, y a pesar del importante trabajo que ya se ha realizado, todavía son necesarios nuevos compuestos que puedan modular eficazmente la respuesta inmunitaria, mediante inducción de la biosíntesis de citocinas u otros mecanismos.

Sumario

La presente invención proporciona, en un aspecto, un nuevo compuesto útil para inducir la biosíntesis de citocinas. El compuesto (es decir, N-(4-{[4-amino-2-butil-1*H*-imidazo[4,5-*c*]quinolin-1-il]oxi}butil)octadecanamida) tiene la siguiente fórmula (I):



I.

También se pueden usar sales farmacéuticamente aceptables del compuesto.

El compuesto de Fórmula I tiene propiedades inesperadamente beneficiosas en términos de actividad biológica. Es particularmente deseable para la incorporación en formulaciones a base de liposomas. Parece que tales formulaciones son sorprendentemente eficaces estimulando la respuesta inmunitaria localizada con una inducción de TNF sistémico reducida.

La capacidad para inducir la biosíntesis de citocinas en animales hace al compuesto de Fórmula I útil para tratar una variedad de afecciones tales como enfermedades víricas y tumores que son sensibles a tales cambios en la respuesta inmunitaria. En consecuencia, la presente invención proporciona además el compuesto de Fórmula I para uso en la inducción de la biosíntesis de citocinas en un animal, para tratar una infección vírica y/o para tratar una enfermedad neoplásica en un animal, al administrar una cantidad eficaz de un compuesto de Fórmula I al animal. La presente invención proporciona además el compuesto de Fórmula I para uso en la vacunación de un animal, que comprende administrar una cantidad eficaz de un compuesto de Fórmula I al animal como un adyuvante de vacuna.

La invención proporciona además composiciones farmacéuticas que comprenden un vehículo farmacéuticamente aceptable y una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de Fórmula I. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende además un antígeno (por ejemplo, una vacuna). En algunas realizaciones de la composición farmacéutica, el compuesto de Fórmula I se incorpora en una formulación homogéneamente dispersa. En algunas realizaciones de la composición farmacéutica, el compuesto de Fórmula I se incorpora en una formulación emulsionada. En algunas realizaciones de la composición farmacéutica, el compuesto de Fórmula I se incorpora en una formulación de aceite en agua (por ejemplo formulaciones que comprenden aceite de soja, TWEEN 80, SPAN 85, y PBS). En algunas realizaciones de la composición farmacéutica, el compuesto de Fórmula I se incorpora en una formulación a base de liposomas.

Usado como un adyuvante de vacuna para una vacuna antigénica, el compuesto de Fórmula I incrementa la respuesta de los anticuerpos a la vacuna. Puede disminuir la cantidad de vacuna antigénica requerida para lograr una respuesta de los anticuerpos deseada/terapéuticamente eficaz. Por ejemplo, puede reducir la cantidad de antígeno de la vacuna necesaria en 2 veces, 10 veces, 15 veces, 25 veces, 50 veces, o tanto como 100 veces o más.

Como se ilustra en parte mediante los ejemplos no limitantes expuestos aquí, el compuesto de Fórmula I es útil para una amplia variedad de fines, incluyendo, pero no sin limitarse a, como un adyuvante de vacuna para vacunas de la gripe. Por ejemplo, cuando se usa como un adyuvante de vacuna, el compuesto de Fórmula I, en combinación con un antígeno de la vacuna contra la gripe, proporciona protección frente a infección por la gripe H1N1 (así como la gripe A, B, y la gripe porcina). En particular, cuando se usa como un adyuvante de vacuna, el compuesto de Fórmula I, en combinación con antígenos de hemaglutinina, proporciona protección para la infección por la gripe H1N1.

El compuesto de Fórmula I induce producción de citocinas principalmente en el sitio de administración (o en un sito local de aplicación), y puede hacer esto sin inducción sistémica sustancial de citocinas, lo que puede ser importante para reducir los efectos secundarios. Por ejemplo, el compuesto de Fórmula I puede inducir la producción de TNF principalmente en el sitio de administración (o en un sitio local de aplicación) sin inducir niveles sistémicos de TNF por encima del nivel de fondo (es decir, el nivel medido sistémicamente antes de la administración del compuesto de Fórmula I). En algunas aplicaciones se puede usar la inyección subcutánea del compuesto de Fórmula I para inducir producción de citocinas (tal como producción de TNF) en los ganglios linfáticos drenadores locales, pero no en los ganglios linfáticos periféricos. Por ejemplo, la inyección subcutánea del compuesto de Fórmula I puede inducir producción de citocinas (tal como producción de TNF) en los ganglios linfáticos drenadores locales a niveles de al menos 2 veces, 3 veces, 5 veces, 10 veces, o tanto como 100 veces mayor o más que en los ganglios linfáticos periféricos.

Además del compuesto de Fórmula I, se cree que el compuesto N-(4-{[4-amino-2-butil-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-1-il]oxi}butil)hexadecanamida se puede sintetizar usando una ruta sintética similar, y también se puede usar para los mismos usos, composiciones farmacéuticas, y formulaciones que el compuesto de Fórmula Uno expuesto aquí.

El término “comprende”, y variaciones del mismo, no tiene un significado limitante cuando estos términos aparecen en la descripción y reivindicaciones.

Como se usan aquí, “un”, “una”, “el/la”, “al menos un”, y “uno o más”, se usan de forma intercambiable.

También aquí, la cita de intervalos numéricos mediante extremos incluye todos los números incorporados en ese intervalo (por ejemplo, 1 a 5 incluye 1, 1,5, 2, 2,75, 3, 3,80, 4, 5, etc.).

“Mejorar” se refiere a una reducción en el grado, gravedad, frecuencia, y/o probabilidad de un síntoma o signo clínico característico de una afección particular.

“Antígeno” se refiere a cualquiera sustancia que puede ser unida por un anticuerpo de manera que es inmunoespecífica hasta cierto grado.

“Inducir”, y sus variaciones, se refiere a cualquier incremento medible en la actividad celular. Por ejemplo, la inducción de una respuesta inmunitaria puede incluir, por ejemplo, un incremento en la producción de una citocina, activación, proliferación, o maduración de una población de células inmunitarias, y/u otro indicador de una función inmunitaria incrementada.

“Liposoma” o “a base de liposomas”, como se usa aquí, se refiere generalmente a una partícula que se autoensambla compuesta de moléculas anfipáticas tales como, pero sin limitarse a, lípido, similar a lípido, o sustancias poliméricas. También pueden incluir lipopéptidos y glicolípidos.

“Síntoma” se refiere a cualquier signo subjetivo de enfermedad o de una afección del paciente.

“Terapéutica”, y sus variaciones, se refiere a un tratamiento que mejora uno o más síntomas o signos clínicos existentes asociados con una afección.

"Tratar", o sus variaciones, se refiere a reducir, limitar la progresión, mejorar, prevenir, o resolver, en cualquier grado, los síntomas o signos relacionados con una afección.

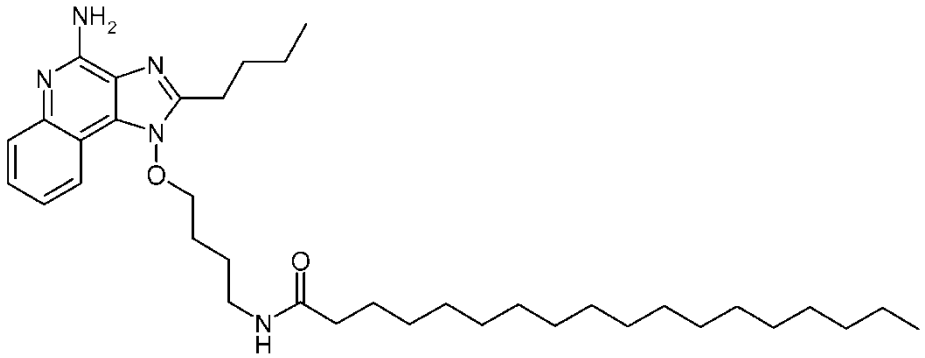
El compuesto N-(4-{[4-amino-2-butil-1*H*-imidazo[4,5-*c*]quinolin-1-il]oxi}butil)octadecanamida descrito aquí puede estar en cualquiera de sus formas farmacéuticamente aceptables, incluyendo sólida, semisólida, solvato (por ejemplo, hidrato), total o parcialmente disuelto (por ejemplo, en una composición farmacéutica), o disperso en un vehículo farmacéuticamente aceptable. También se entenderá que también se puede usar cualquier forma salina farmacéuticamente aceptable del compuesto de Fórmula I (N-(4-{[4-amino-2-butil-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-1-il]oxi}butil)octadecanamida).

El sumario anterior de la presente invención no está destinado a describir cada realización descrita o cada implementación de la presente invención. La descripción que sigue ejemplifica más particularmente realizaciones ilustrativas. En varios lugares a lo largo de la descripción, se proporciona una guía a través de listas de ejemplos, ejemplos los cuales se pueden usar en diversas combinaciones. En cada caso, la lista citada sirve solamente como un grupo representativo, y no se debería interpretar como una lista exclusiva.

Descripción detallada

Ejemplo 1

N-(4-{[4-amino-2-butil-1*H*-imidazo[4,5-c]quinolin-1-il]oxi}butil)octadecanamida



Parte A

Una disolución de anhídrido valérico (6,03 g) e hidrocloruro de piridina (0,198 g) en piridina (8,28 g) se añadió a una disolución de 3-amino-4-cloroquinolina (2,94 g) en piridina (5,0 g), y la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 16 horas, seguido de calentamiento a 60ºC durante 3 horas. La reacción se concentró a presión reducida, y se añadió carbonato de sodio (15 ml de una disolución acuosa al 10%). La reacción se agitó durante 30 minutos, y después se filtró. El sólido resultante se lavó con agua (60 ml) y se secó a vacío durante 4 horas para proporcionar 4,59 g de N-(4-cloroquinolin-3-il)valeramida bruta como copos de color marrón. El producto bruto se recristalizó en heptano (10 ml), y el producto recuperado se purificó adicionalmente mediante extracción soxhlet usando heptano a reflujo durante 16 horas. El matraz de recolección procedente del aparato de extracción soxhlet se enfrío en un congelador durante 2 horas. El sólido resultante se recogió mediante filtración y se secó a vacío para producir 2,00 g de N-(4-cloroquinolin-3-il)valeramida como un sólido blanco.

Parte B

Una disolución de 4-amino-1-butanol (7,68 g) y piridina (7,00 g) en diclorometano (100 ml) se enfrió en un baño de hielo, y se añadió lentamente una disolución de cloroformiato de bencilo (14,37 g) en diclorometano (100 ml) con agitación durante un período de treinta minutos. El baño de hielo se retiró, y la reacción se agitó durante 16 horas adicionales. Se añadió ácido clorhídrico (1,2 M, 200 ml), y las fases se separaron. La fase orgánica se secó ($MgSO_4$), se filtró y se concentró a presión reducida. El residuo resultante se recristalizó en tolueno y se secó a vacío para proporcionar 5,15 g de (4-hidroxibutil)carbamato de bencilo.

Una disolución de N-hidroxiftalimida de bencilo (3,36 g), (4-hidroxibutil)carbamato de bencilo (4,18 g) y trifenilfosfina (7,41 g) en diclorometano (100 ml) se enfrió en un baño de hielo, y se añadieron lentamente con agitación aproximadamente dos tercios de una disolución de azodicarboxilato de diisopropilo (DIAD, 5,68 g) en diclorometano (50 ml). La temperatura interna de la reacción se monitorizó, y la adición de la disolución de DIAD se detuvo cuando ya no se pudo detectar más la exotermia. El baño de hielo se retiró, y la reacción se dejo se calentar hasta la temperatura ambiente. La reacción se concentró a presión reducida, y el residuo resultante se disolvió en etanol (puro, 100 ml). Se añadió hidrazina (1,98 g, 35% en agua), y la reacción se agitó durante 6 horas. La reacción se enfrió en el congelador, y el sólido resultante se eliminó mediante filtración. El sólido se lavó con etanol (50 ml). El filtrado combinado se concentró a presión reducida, y se añadió éter dietílico (100 ml). Las impurezas insolubles se eliminaron mediante filtración, y se añadió HCl 2,0 M en éter (10 ml) a la disolución. Se formó un precipitado

inmediatamente. El producto bruto se añadió a tolueno (100 ml) y se calentó a la temperatura de reflujo durante una hora. Tras enfriar hasta la temperatura ambiente, el producto sólido se recuperó mediante filtración, se lavo con tolueno, y se secó a vacío para producir 3,76 g de (4-aminooxibutil)carbamato de bencilo.

Parte C

Se combinaron N-(4-cloroquinolin-3-il)valeramida (1,97 g), (4-aminooxibutil)carbamato de bencilo (2,99 g), trietilamina (0,89 g) y 2-propanol (40,69 g), y se calentaron a 80ºC durante 3,5 horas. La reacción se enfrió hasta la temperatura ambiente, se filtró, y el filtrado se concentró a presión reducida. Se añadió diclorometano (20 ml) al sólido resultante, y la mezcla se agitó durante veinte minutos. El sólido sin disolver se eliminó mediante filtración, y el filtrado se lavó con dos porciones de 10 ml de agua que se había hecho ligeramente ácida mediante adición de 20 gotas de ácido clorhídrico (1,2 M). La fracción orgánica se secó y se concentró a presión reducida. El sólido bruto se recristalizó en tetrahidrofurano para proporcionar 2,56 g de 4-{[2-butil-1*H*-imidazo[4,5-*c*]quinolin-1-il]oxi}butilcarbamato de bencilo.

Parte D

Se disolvió hidrocloruro de 4-{[2-butil-1*H*-imidazo[4,5-*c*]quinolin-1-il]oxi}butilcarbamato de bencilo (10,05 g) en diclorometano (80 ml), y se extrajo con una disolución de carbonato de sodio (2,02 g) en 30 ml de H_2O. La capa orgánica se enfrió en un baño de hielo, y se añadió lentamente una disolución de ácido m-cloroperbenzoico (5,93 g, 1,24 eq.) disuelto en diclorometano (30 ml). Tras 6 h, se añadió hidróxido de amonio (10 ml de una disolución acuosa al 28-30%) a la reacción. Se añadió lentamente una disolución de cloruro de bencenosulfonilo (6,96 g) disuelto en 10 ml de diclorometano, con agitación vigorosa. El baño de enfriamiento se retiró, y la reacción se agitó durante 12 horas adicionales. La reacción se diluyó con agua (100 ml), y las fracciones orgánica y acuosa se separaron. La fracción acuosa se extrajo con diclorometano (30 ml). Las fracciones orgánicas combinadas se lavaron con dos porciones de 90 ml de carbonato sódico al 5%.

La disolución diclorometánica se transfirió a un aparato de destilación, y se añadió 1-pentanol (50 ml). Esto se calentó hasta 40ºC, y el diclorometano se eliminó a presión reducida. Entonces se añadió ácido clorhídrico concentrado (50 ml), y la reacción se agito y se calentó hasta 80º. Después de 11 horas, la disolución se enfrió hasta la temperatura ambiente y se diluyó con agua (100 ml). La fracción acuosa se separó del 1-pentanol, y el 1-pentanol se extrajo con agua (25 ml). Las fracciones acuosas se combinaron. Se añadió 1-pentanol (50 ml) a la fracción acuosa combinada, y ésta se enfrió en un baño de hielo. Con agitación vigorosa, se añadió carbonato sódico sólido para llevar el pH a 9-10. La mezcla se transfirió a un embudo de separación, y las fracciones se separaron. La fracción acuosa se extrajo con dos porciones de 25 ml de 1-pentanol. Las fracciones de 1-pentanol combinadas se secaron sobre sulfato de sodio y se filtraron para proporcionar 1-(4-aminobutoxi)-2-butil-1*H*-imidazo[4,5-*c*]quinolin-4-amina disuelta en 1-pentanol.

La sal de maleato de 1-(4-aminobutoxi)-2-butil-1*H*-imidazo[4,5-*c*]quinolin-4-amina se preparó disolviendo ácido maleico (4,83 g) en 1-pentanol (50 ml), y añadiéndolo con agitación a la disolución de 1-(4-aminobutoxi)-2-butil-1*H*-imidazo[4,5-*c*]quinolin-4-amina en 1-pentanol. El precipitado resultante se recogió mediante filtración y se secó para producir 7,69 g de sal de bis-maleato de 1-(4-aminobutoxi)-2-butil-1*H*-imidazo[4,5-*c*]quinolin-4-amina. RMN ^{1}H (DMSO-d6): δ 0,96 (t, 3H), 1,44 (m, 2H), 1,7-1,95 (m, 4H), 2,02 (m, 2H), 2,8-3,1 (m, 4H), δ 4,43 (t, 2H), 6,07 (s, 4H), 7,57 (t, 1H), 7,73 (t, 1H), 7,80 (d, 1H), 8,16 (d, 1H). Se observan picos anchos para los protones de amonio a aproximadamente δ 7,8 y δ 8,7.

Como una alternativa, se preparó la sal de fumarato de 1-(4-aminobutoxi)-2-butil-1*H*-imidazo[4,5-*c*]quinolin-4-amina mediante el siguiente procedimiento. 1-(4-aminobutoxi)-2-butil-1*H*-imidazo[4,5-*c*]quinolin-4-amina (6,53 g) se disolvió en 2-propanol (75 ml), y se añadió carbón decolorante. La reacción se calentó a reflujo, se filtró mientras estaba caliente, y se enfrió hasta la temperatura ambiente. Se añadió una disolución de ácido fumárico (2,5 g) en 2-propanol, y la reacción se calentó a temperatura de reflujo durante 5 minutos. Al enfriar hasta la temperatura ambiente, se formó un precipitado. La filtración, seguido del secado del producto a vacío, produjo 6,6 g de fumarato de 1-(4-aminobutoxi)-2-butil-1*H*-imidazo[4,5-*c*]quinolin-4-amina. RMN ^{1}H (DMSO-d6): δ 0,95 (t, 3H), 1,42 (m, 2H), 1,70-1,92 (m, 4H), 1,92-2,10 (m, 2H), 2,85-3,05 (m, 4H), 4,34 (t, 3H), δ 6,46 (s, 2H), 7,30 (t, 1H), 7,47 (t, 1H), 7,60 (d, 1H), 8,02 (d, 1H). Aparece un pico de amonio ancho a δ 6,77.

Parte E

El fumarato de 1-(4-aminobutoxi)-2-butil-1*H*-imidazo[4,5-*c*]quinolin-4-amina (1,30 g) se disolvió en diclorometano (25 ml), y la disolución se lavó con 3 porciones de 15 ml de carbonato de sodio saturado. La fracción orgánica se lavó entonces con 15 ml de cloruro sódico saturado y se secó sobre $MgSO_4$. La disolución se filtró, el disolvente se eliminó a presión reducida, y el producto se secó a vacío para dar 0,79 g de 1-(4-aminobutoxi)-2-butil-1*H*-imidazo[4,5-*c*]quinolin-4-amina como la base libre.

La 1-(4-aminobutoxi)-2-butil-1*H*-imidazo[4,5-*c*]quinolin-4-amina se disolvió en diclorometano (20 ml) y metanol (5 ml). Se añadió ácido esteárico (0,71 g), y la reacción se agitó para disolver el ácido esteárico. Se añadió 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida HCl (EDC, 0,45 g), y la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 16 horas.

Se añadió una porción adicional de EDC (0,23 g), y la reacción se agitó durante 24 horas adicionales. Se añadieron porciones finales de ácido esteárico (0,22 g) y EDC (0,37 g) para llevar la reacción hasta completarla, y la reacción se agitó a temperatura ambiente durante otras 24 horas. La reacción se concentró a presión reducida, y el residuo resultante se purificó mediante cromatografía en columna ultrarrápida usando un sistema de cromatografía Biotage (columna de SiGel Si40+ M2358-1, elución isocrática con 85:15 diclorometano/metanol). El producto semipuro se purificó mediante cromatografía en columna ultrarrápida dos veces más usando una elución isocrática de 90:10 diclorometano/metanol, seguido de una elución isocrática de 95:5 diclorometano/metanol. Las fracciones que contienen el producto se concentraron para producir 1,12 g de N-(4-{[4-amino-2-butil-1*H*-imidazo[4,5-*c*]quinolin-1-il]oxi}butil)octadecanamida como un sólido ceroso blanquecino.

RMN ^{1}H ($CDCl_3$): δ 0,89 (t, 3H), 1,01(t, 3H), 1,14-1,42 (m, 28H), 1,50 (m, 2H), 1,65 (m, 2H), 1,74-1,94 (m, 4H), 2,02 (m, 2H), 2,20 (t, 2H), 2,95 (t, 2H), 3,40 (q, 2H), 4,33 (t, 2H), 5,59 (t, 1H), 6,10 (s ancho, 2H), 7,39 (m, 1H), δ 7,57 (m, 1H), 7,83 (d, 1H), 8,07 (m, 1H).

Ejemplo 2

La actividad como adyuvante de vacuna de N-(4-{[4-amino-2-butil-1*H*-imidazo[4,5-*c*]quinolin-1-il]oxi}butil)octadecanamida (Comp. del Ejemplo 1) se evaluó en ratones inmunizados con hemaglutinina 1 (HA) recombinante. La respuesta del anticuerpo específico del antígeno IgG2a se midió usando cinco preparaciones diferentes (1. HA sola (control); 2. HA + resiquimod (preparación comparadora); 3. HA + Comp. del Ejemplo 1 formulado en dioleoilfosfatidilcolina (DOPC) (formulación liposómica); 3. HA + Comp. del Ejemplo 1; 5. HA + DOPC (control).

El comp. del Ejemplo 1 y resiquimod se prepararon individualmente como suspensiones acuosas en disolución salina amortiguada con fosfato (PBS). El Comp. del Ejemplo 1, formulado en la formulación liposómica en DOPC, se preparó según lo siguiente. Se preparó una disolución madre del Comp. del Ejemplo 1 en cloroformo a una concentración de 10 mg/ml. También se preparó una disolución madre de dioleoilfosfatidilcolina (DOPC) en cloroformo a una concentración de 10 mg/ml. Alícuotas de cada disolución madre se combinaron para proporcionar una disolución que contiene DOPC y el Comp. del Ejemplo 1 a una relación másica de 10:1, respectivamente. La disolución se sopló hasta sequedad, y se resuspendió en PBS estéril mediante sonicación con sonda.

Grupos de 5 ratones cada uno se inmunizaron subcutáneamente con 10 μg del antígeno HA en PBS, solo o en combinación con 1 mg/kg de los compuestos citados en la Tabla 1. Los animales del control de DOPC recibieron la misma cantidad de DOPC que la preparada con el Comp. del Ejemplo 1. Los ratones se revacunaron con las mismas combinaciones 2 semanas y 4 semanas tras la inmunización inicial. A las 7 semanas después de la inmunización, los ratones se sangraron y se determinaron los títulos de IgG2a específico de HA. Esta determinación se realizó mediante dilución en serie de las muestras de suero mediante ELISA de suero estándar en placas de microtitulación recubiertas con HA. El dato de IgG2a se presenta como la dilución de suero que logra el punto final (2X la línea base), y es la media geométrica para los 5 ratones por grupo.

Tabla 1

Grupo de inmunización in vivo	IgG2a específico de HA, punto final de la dilución de suero
HA	3,30E+03
HA + Resiquimod	1,00E+05
HA + Comp. del Ejemplo 1 / DOPC	3,30E+06
HA + Comp. del Ejemplo 1	1,42E+04
HA + DOPC	5,00E+03

Ejemplo 3

Las respuestas de interferón-gamma (IFNgamma) dependientes del antígeno se determinaron en cultivos de esplenocitos establecidos de los mismos animales para los que se determinaron las respuestas del anticuerpo IgG2a en el Ejemplo 2. Los bazos de los animales se retiraron, se combinaron para formar dos conjuntos para cada grupo de 5 animales, se trocearon para crear suspensiones monocelulares, y se colocaron en cultivo en placas de microtitulación de 96 pocillos. Cada conjunto generó tres pocillos para una exposición a PBS de control, y tres pocillos para una exposición a 10 mg de HA. Los cultivos se incubaron entonces a 37ºC durante 72 horas. Entonces se retiró el medio, y el interferón-gamma generado se midió (pg/ml) mediante un ensayo ELISA (Tabla 2). El dato de IFNgamma se da como el valor de la media geométrica para cada conjunto usando medidas triplicadas.

Tabla 2

Grupo de inmunización in vivo	Exposición in vitro de esplenocitos aislados, (IFNgamma, pg/ml)	
	Exposición a PBS de control	Exposición a antígeno HA
HA	4,32	157,87
HA + Resiquimod	3,84	91,88
HA + Comp. del Ejemplo 1 / DOPC	5,84	1808,19
HA + Comp. del Ejemplo 1	4,82	293,51
HA + DOPC	1,7	231,97

Ejemplo 4

Se evaluó en ratones el efecto de N-(4-{[4-amino-2-butil-1*H*-imidazo[4,5-*c*]quinolin-1-il]oxi}butil)octadecanamida (Comp. del Ejemplo 1) para inducir la formación de factor de necrosis tumoral (TNF) sistémico in vivo. La inducción de TNF sistémico se midió usando cuatro preparaciones diferentes (1. PBS (control); 2. resiquimod (preparación comparadora); 3. resiquimod formulado en dioleoilfosfatidilcolina (DOPC) (preparación comparadora); 4. Comp. del Ejemplo 1 formulado en dioleoilfosfatidilcolina (DOPC) (liposomas).

El compuesto del Ejemplo 1 formulado en liposomas de dioleoilfosfatidilcolina (DOPC) se preparó como se describió en el Ejemplo 2. Resiquimod formulado en DOPC se preparó de manera análoga al Comp. del Ejemplo 1 en DOPC. La preparación de resiquimod se obtuvo como una suspensión acuosa en PBS.

A los ratones se les inyectaron subcutáneamente preparaciones que contienen 1 mg/kg de cada compuesto de ensayo (es decir, resiquimod o Comp. del Ejemplo 1). A una hora y a tres horas después de la dosis, los ratones se sangraron y se midió el TNF sistémico en el suero (pg/ml) mediante ensayo ELISA. Los resultados se presentan como la media geométrica obtenida para cada grupo de cinco animales. Los datos en la Tabla 3 muestran que la inyección subcutánea de resiquimod en diversas formulaciones induce una respuesta de TNF sistémico, mientras que N-(4-{[4-amino-2-butil-1*H*-imidazo[4,5-*c*]quinolin-1-il]oxi}butil)octadecanamida (Comp. del Ejemplo 1) no induce una respuesta de TNF sistémico. Esto puede ser importante a la hora de proporcionar una potenciación del sistema inmunitario localizado sin efectos secundarios del TNF sistémico.

Tabla 3

Tratamiento	Concentración de TNF (pg/ml) en tiempos tras el tratamiento	
	1 hora	3 horas
PBS	<5	<5
Resiquimod	1140,41	<5
Resiquimod / DOPC	647,67	<5
Comp. del Ejemplo 1 / DOPC	<5	<5

Ejemplo 5

Grupos de 5 ratones cada uno se inmunizaron subcutáneamente con 10 μg de antígeno HA, solo o con cantidades crecientes de N-(4-{[4-amino-2-butil-1*H*-imidazo[4,5-*c*]quinolin-1-il]oxi}butil)octadecanamida (Comp. del Ejemplo 1)/DOPC como se cita en la Tabla 4. Los ratones se revacunaron con las mismas combinaciones 2 semanas y 4 semanas tras la inmunización inicial. A las 7 semanas después de la inmunización, los ratones se sangraron, y se determinaron los títulos de IgG2a específico de HA. Esta determinación se realizó mediante dilución en serie de las muestras de suero mediante ELISA de suero estándar en placas de microtitulación recubiertas con HA. El dato de IgG2a es la dilución de suero que logra el punto final (2X línea base), y es la media geométrica para los 5 ratones por grupo.

Tabla 4

Grupo de inmunización in vivo	IgG2a específico de HA, punto final de la dilución de suero
Disolución salina amortiguada con fosfato (PBS)	<50
HA	5,0E+03
HA + Comp. del Ejemplo 1 (1,0 MPK)/ DOPC	2,5E+05
HA + Comp. del Ejemplo 1 (0,3 MPK) / DOPC	1,3E+06
HA + Comp. del Ejemplo 1 (0,1 MPK) / DOPC	1,1E+06
HA + Comp. del Ejemplo 1 (0,03 MPK) / DOPC	5,0E+05
HA + Comp. del Ejemplo 1 (0,01 MPK)/ DOPC	2,5E+05

Ejemplo 6

Las respuestas de interferón-gamma (IFNgamma) dependientes del antígeno se determinaron en cultivos de esplenocitos establecidos de los mismos animales para los que se determinaron las respuestas del anticuerpo IgG2a en el Ejemplo 5. Los bazos de los animales se retiraron, se combinaron para formar dos conjuntos para cada grupo de 5 animales, se trocearon para crear suspensiones monocelulares, y se colocaron en cultivo en placas de microtitulación de 96 pocillos. Cada conjunto generó tres pocillos para una exposición a PBS de control, y tres pocillos para una exposición a 10 mg de HA. Los cultivos se incubaron entonces a 37ºC durante 72 horas. Entonces se retiró el medio, y el interferón-gamma generado se midió (pg/ml) mediante un ensayo ELISA (Tabla 5). El dato de IFNgamma se da como el valor de la media geométrica para cada conjunto usando medidas triplicadas.

Tabla 5

Grupo de inmunización in vivo	Exposición in vitro de esplenocitos aislados, (IFNgamma, pg/ml)	
	Exposición a PBS de control	Exposición a antígeno HA
Disolución salina amortiguada con fosfato (PBS)	199,50	224,37
HA	189,74	236,64
HA + Comp. del Ejemplo 1 (1,0 MPK)/ DOPC	194,80	278,87
HA + Comp. del Ejemplo 1 (0,3 MPK) / DOPC	184,23	861,42
HA + Comp. del Ejemplo 1 (0,1 MPK) / DOPC	189,74	805,00
HA + Comp. del Ejemplo 1 (0,03 MPK) / DOPC	179,44	1219,23
HA + Comp. del Ejemplo 1 (0,01 MPK)/ DOPC	204,82	1167,97

Ejemplo 7

Se determinó la capacidad de N-(4-{[4-amino-2-butil-1*H*-imidazo[4,5-*c*]quinolin-1-il]oxi}butil)octadecanamida (Comp. del Ejemplo 1) para inducir la producción del factor de necrosis tumoral (TNF) en células mononucleares de sangre periférica humana (PBMC). Las células mononucleares de sangre periférica humana se prepararon a partir de voluntarios humanos y se colocaron en cultivo en placas de microtitulación de 96 pocillos. El Comp. del Ejemplo 1 se añadió a los pocillos a las siguientes concentraciones: 30, 10, 3,3, 1,1, 0,37, 0,13, 0,043, y 0,014 μM. Las células se incubaron entonces toda la noche a 37ºC. Se eliminó el medio, y se midió la concentración de TNF (ng/ml) mediante ensayo ELISA (Tabla 6).

Tabla 6

Concentración de Comp. del Ejemplo 1, μM	TNF ng/ml
0,014	0,13
0,043	0,17
0,13	0,35
0,37	2,51
1,1	7,07
3,3	28,73
10	31,46
30	29,47

Ejemplo 8

La actividad protectora antiviral de N-(4-{[4-amino-2-butil-1*H*-imidazo[4,5-*c*]quinolin-1-il]oxi}butil)octadecanamida (Comp. del Ejemplo 1) se evaluó en ratones macho Balb/c (Charles River, Wilmington, MA) infectados intranasalmente con H1N1 A/Puerto Rico/8/34 adaptado a ratones (obtenido de la American Type Culture Collection, Manassas, VA). Cuatro semanas antes de la infección, grupos de 10 ratones cada uno se inmunizaron con 1. PBS; 2. 10 μg de HA; o 3. 10 μg de HA + 0,1 mg/kg de Comp. del Ejemplo 1 en liposomas de DOPC, respectivamente. Dos semanas antes de la infección, los mismos grupos se reinmunizaron con sus dosis inmunizantes correspondientes. La supervivencia de los ratones se monitorizó durante 11 días tras la infección intranasal, y el dato se presenta en la Tabla 7 como porcentaje de supervivencia en cada día. Un ratón del grupo 1, y dos ratones del grupo 2, no lograron infectarse, según se determina a partir de la falta de pérdida de peso en los primeros 3 días de infección. Por lo tanto, hacia el día 5, el grupo 1 comprendía 9 ratones, el grupo 2 comprendía 8 ratones, y los grupos 3 y 4 comprendían 10 ratones, cada uno.

Tabla 7

	Grupo de inmunización (porcentaje de supervivencia)		
Día	PBS	HA	HA + Comp. del Ejemplo 1
1	100	100	100
2	100	100	100
3	100	100	100
4	100	100	100
5	100	100	100
6	100	100	100
7	77,8	100	100
8	66,7	75,0	100
9	44,4	75,0	100
10	11,1	50,0	100
11	0	50,0	100

Ejemplo 9

La actividad de activación inmunitaria de N-(4-{[4-amino-2-butil-1*H*-imidazo[4,5-*c*]quinolin-1-il]oxi}butil)octadecanamida (Comp. del Ejemplo 1) se evaluó en un modelo de inmunización antitumoral profiláctica de ratón. Grupos de ratones macho C57/B1 (Charles River, Wilmington, MA) se inmunizaron y se reinmunizaron dos veces a intervalos de dos semanas con 1) PBS; 2) 20 μg de ovalbúmina; o 3) 20 μg de ovalbúmina + 1,0 mg/kg de Comp. del Ejemplo 1. Una semana después de la reinmunización final, cada ratón se inyectó intradérmicamente con células tumorales de melanoma 4E5 B16Ova. Los ratones se sacrificaron 11 días tras la inyección del tumor, los tumores se midieron en sus diámetros mayor y menor, y se determinaron los productos de las dos mediciones. Se determinó el tamaño tumoral medio en mm^2 +/-desviación estándar (s.d.) para cada grupo. Los resultados se presentan en la Tabla 8.

Tabla 8

Material de inmunización	Número de ratones	Tamaño medio del tumor (s.d.)
PBS	7	10,21 (4,34)
Ovoalbúmina	8	10,18 (8,95)
Ovoalbúmina + Comp. del Ejemplo 1	8	0,99 (0,81)

Ejemplo 10

La actividad reductora de la dosis de N-(4-{[4-amino-2-butil-1*H*-imidazo[4,5-*c*]quinolin-1-il]oxi}butil)octadecanamida (Comp. del Ejemplo 1) se evaluó en ratones inmunizados con cantidades variables de HA con y sin Comp. del Ejemplo 1. Grupos de cinco ratones macho Balb/c (Charles River, Wilmington, MA) se inmunizaron con 1 μg, 5 μg, o 15 μg de HA con o sin 0,1 mg/kg de Comp. del Ejemplo 1. Los ratones se reinmunizaron entonces con las mismas preparaciones a 2 semanas y a 4 semanas tras la inmunización. Tres semanas después de la reinmunización final, los ratones se sangraron y se determinaron los títulos de IgG1 e de IgG2a específicos de HA mediante dilución en serie de las muestras de suero usando un ensayo ELISA de suero estándar en placas de microtitulación recubiertas con HA. El dato de IgG1 y de IgG2a se presenta en la Tabla 9 como la dilución de suero que se logró en el punto final (2X línea base), y es la media geométrica para 5 ratones por grupo. La adición de 0,1 mg/kg de Comp. del Ejemplo 1 a HA potenció enormemente la respuesta de anticuerpo frente a este antígeno.

Tabla 9

Grupo de inmunización	Punto final de IgG1	Punto final de IgG2a
HA 1 μg	2,5 E4	3,3 E2
HA 5 μg	6,7 E4	1,0 E3
HA 15 μg	6,7 E4	2,5 E3
HA 1 μg + Comp. del Ejemplo 1	1,7 E7	3,3 E6
HA 5 μg + Comp. del Ejemplo 1	1,4 E7	2,5 E7
HA 15 μg + Comp. del Ejemplo 1	1,1 E7	1,0 E8

Ejemplo 11

La actividad *in vivo* local de N-(4-{[4-amino-2-butil-1*H*-imidazo[4,5-*c*]quinolin-1-il]oxi}butil)octadecanamida (Comp. del Ejemplo 1) se evaluó en grupos de cuatro ratones macho Balb/c (Charles River) y se comparó con la actividad de resiquimod (un compuesto comparador). Se inyectaron subcutáneamente disoluciones del Comp. del Ejemplo 1 o de resiquimod en cuatro grupos separados de ratones para la evaluación en los puntos de tiempo de 1 hora, 3 horas, 6 horas, y 18 horas después de la dosis. La dosis final para cualquiera de los compuestos fue 1,0 mg/kg. En cada punto de tiempo, los ratones se sangraron, se sacrificaron, y se retiraron los ganglios linfáticos drenadores axiales y branquiales y se colocaron en fluido de conservación de ARN (reactivo RNAlater obtenido de Ambion Corporation, Austin, TX). Las muestras de suero se analizaron mediante ELISA para determinar la concentración de proteína TNF (pg/ml) como una medida de la presencia sistémica de esta citocina. Los ganglios linfáticos drenadores se procesaron para determinar la medida de la expresión génica de ARNm de TNF mediante PCR cuantitativa (termociclador 7900HT obtenido de Applied Biosystems, Carlsbad; CA). El dato dado a conocer (Tabla 10) es la media +/ desviación estándar (s.d.) para cada grupo. El nivel “no detectado” para la concentración de TNF del suero fue menor que 10 pg/ml. La inducción de la expresión génica de ARNm de TNF en los ganglios linfáticos

drenadores, sin detección de la proteína TNF en el suero tras la inyección del Comp. del Ejemplo 1, demuestra que los efectos de inducción de citocina del Comp. del Ejemplo 1 son principalmente locales.

Tabla 10

	TNF del suero [pg/ml (s.d.)]		Expresión génica de ARNm de TNF en ganglios linfáticos [número de veces de incremento frente a control sin tratamiento (s.d.)]	
Tiempo (horas)	Comp. del Ejemplo 1	Resiquimod	Comp. del Ejemplo 1	Resiquimod
1	No detectado	4082 (873)	0,65 (0,04)	14,19 (3,83)
3	No detectado	107 (35)	1,62 (1,23)	4,82 (0,70)
6	No detectado	18 (4)	7,23 (2,07)	1,39 (0,27)
18	No detectado	No detectado	1,5 (0,28)	0,90 (0,23)

La presente invención proporciona así el compuesto de Fórmula I, así como composiciones y formulaciones farmacéuticas del mismo. En algunas realizaciones, el compuesto de Fórmula I se incorpora en una formulación a base de liposomas. También se puede incorporar un antígeno mezclado con o administrado separadamente, pero en combinación, con tal formulación. Por ejemplo, un antígeno se puede formular dentro de la luz de la partícula de liposoma que se autoensambla. Tales liposomas incluirían materiales compuestos de tales sustancias en proporciones muy adecuadas para producir partículas estables de tamaños y diámetros deseados. Los tamaños pueden ser del intervalo submicrométrico para imitar a patógenos víricos, y hasta del tamaño micrométrico para imitar a antígenos bacterianos. Estos tamaños se pueden controlar mediante la composición y el procedimiento de formación de las partículas.

En algunas realizaciones, el compuesto de Fórmula I (por ejemplo, en una composición farmacéutica descrita aquí) se administra a una región tisular localizada, tal como en una masa tumoral. En algunas de estas realizaciones, el compuesto de Fórmula I se administra a tejido localizado, tal como una masa tumoral, en una formulación liposómica. También se puede incluir una vacuna contra el cáncer.

Una “región tisular localizada” será generalmente una porción relativamente pequeña del cuerpo, por ejemplo menor que 10 por ciento en volumen, y a menudo menor que 1 por ciento en volumen. Por ejemplo, dependiendo del tamaño de, por ejemplo, un tumor sólido u órgano canceroso, la región tisular localizada será típicamente del orden de no más de alrededor de 500 centímetros cúbicos (cm^3), a menudo menor que alrededor de 100 cm^3, y en muchos casos 10 cm^3 o menos. Para algunas aplicaciones, la región tisular localizada será 1 cm^3 o menos (por ejemplo, para pequeños nódulos tumorales, lesiones víricas, o sitios de vacunación). Sin embargo, en ciertos casos, la región tisular localizada puede ser una región particularmente grande, de hasta varios litros, por ejemplo, para tratar cáncer metastatizado en toda la cavidad peritoneal. La región tisular localizada puede ser, por ejemplo, un cáncer, una lesión infectada vírica, u órgano, o sitio de vacunación. Por ejemplo, puede ser un tumor sólido, tejido linfático, sistema reticuloendotelial, médula ósea, tejido mucosal, etc. La región tisular localizada puede ser, por ejemplo, un tumor de cáncer de mama, tumor de cáncer de estómago, tumor de cáncer de pulmón, tumor de cáncer de cabeza o cuello, tumor de cáncer colorrectal, tumor de carcinoma de células renales, tumor de cáncer pancreático, tumor de carcinoma de células basales, tumor de cáncer cervical, tumor de cáncer de melanoma, tumor de cáncer prostático, tumor de cáncer ovárico, o tumor de cáncer de vejiga. El suministro del compuesto de Fórmula I a una región tisular localizada se puede hacer junto con técnicas de guía por imágenes, usando, por ejemplo, ultrasonidos, MRI, y rayos X en tiempo real (fluoroscopía).

En algunas realizaciones de las composiciones farmacéuticas descritas aquí, la composición farmacéutica comprende además un antígeno en una cantidad eficaz para generar una respuesta inmunitaria contra el antígeno. En algunas realizaciones, el antígeno es una vacuna. Las vacunas incluyen cualquier material administrado para provocar una respuesta inmunitaria humoral y/o mediada por células, tal como inmunógenos víricos y bacterianos vivos o atenuados e inmunógenos víricos, derivados de tumores, protozoarios, derivados de organismos, fúngicos, y bacterianos inactivados, toxoides, toxinas, polisacáridos, proteínas, glicoproteínas, péptidos, vacunas celulares (por ejemplo, que usan células dendríticas), vacunas de ADN, proteínas recombinantes, glicoproteínas, y péptidos. Las vacunas ejemplares incluyen vacunas para el cáncer, BCG, cólera, peste, tifus, hepatitis A, B, y C, gripe A y B, parainfluenza, polio, rabia, sarampión, paperas, rubéola, fiebre amarilla, tétano, difteria, hemophilus influenza b, tuberculosis, vacunas meningocócicas y pneumocócicas, adenovirus, VIH, varicela, citomegalovirus, dengue, leucemia felina, peste aviar, HSV-1 y HSV-2, peste porcina, encefalitis japonesa, virus sincitial respiratorio, rotavirus, virus del papiloma, síndrome respiratorio agudo severo (SARS), carbunco, y fiebre amarilla. Véanse también, por ejemplo, las vacunas descritas en la Publicación Internacional nº WO 02/24225 (Thomsen et al.).

Los antígenos se pueden cosuministrar con un compuesto de Fórmula I, por ejemplo en mezcla en una composición farmacéutica según la presente invención. Tales composiciones farmacéuticas pueden incluir el compuesto de Fórmula I en liposomas. Esto puede permitir que el compuesto de Fórmula I alcance, por ejemplo, a las células presentadoras de antígeno al mismo tiempo o aproximadamente al mismo tiempo que el antígeno. En otras realizaciones, el compuesto de Fórmula I y el antígeno se pueden administrar por separado al mismo tiempo o aproximadamente al mismo tiempo. El cosuministro de un adyuvante de vacuna (por ejemplo, un compuesto de IRM tal como un compuesto de Fórmula I) y un antígeno a una célula inmunitaria puede incrementar la respuesta inmunitaria frente al antígeno, y mejorar la memoria inmunológica específica del antígeno. El suministro óptimo se puede producir, por ejemplo, cuando el adyuvante y el antígeno se procesan al mismo tiempo en una célula presentadora de antígeno.

Además de los métodos de suministro mencionados específicamente antes, un compuesto de Fórmula I (por ejemplo, en una composición farmacéutica descrita aquí) se puede administrar de cualquier otra manera adecuada (por ejemplo, no parenteralmente o parenteralmente). Como se usa aquí, no parenteralmente se refiere a la administración a través del tubo digestivo, incluyendo mediante ingestión oral. Parenteralmente se refiere a la administración distinta de a través del tubo digestivo, que incluiría la administración nasal (por ejemplo, transmucosalmente mediante inhalación), tópica, oftálmica, y bucal, pero en la práctica habitualmente se refiere a inyección (por ejemplo, intravenosa, intramuscular, subcutánea, intratumoral, o transdérmica) usando, por ejemplo, inyección de aguja convencional, inyección que usa una matriz de microagujas, o cualquier otro método conocido de inyección.

El compuesto de Fórmula I se puede proporcionar en cualquier composición farmacéutica adecuada para la administración a un sujeto, y puede estar presente en la composición farmacéutica en cualquier forma adecuada (por ejemplo, una disolución, una suspensión, una emulsión, o cualquier forma de mezcla). La composición farmacéutica se puede formular con cualquier excipiente, portador, o vehículo farmacéuticamente aceptable. En algunas realizaciones, el vehículo farmacéuticamente aceptable comprende agua (por ejemplo, disolución salina amortiguada con fosfato o con citrato). En algunas realizaciones, el vehículo farmacéuticamente aceptable comprende un aceite (por ejemplo, aceite de maíz, de sésamo, de escualeno, de algodón, de soja, o de cáñamo). La composición farmacéutica puede incluir además uno o más aditivos, incluyendo potenciadores de la penetración de la piel, colorantes, fragancias, saborizantes, hidratantes, espesantes, agentes de suspensión, tensioactivos y agentes de dispersión.

Además de los antígenos específicamente descritos anteriormente, las composiciones farmacéuticas de la presente descripción pueden incluir otros agentes activos adicionales, por ejemplo en mezcla o administrados separadamente. Tales agentes adicionales pueden incluir un agente quimioterapéutico, un agente citotóxico, un anticuerpo, un agente antivírico, una citocina, un agonista del receptor del factor de necrosis tumoral (TNFR), o un modificador de la respuesta inmunitaria adicional. Los agonistas del TNFR que se pueden suministrar junto con el compuesto de Fórmula I incluyen agonistas del receptor de CD40, tales como los descritos en la solicitud de publicación de patente U.S. 2004/0141950 (Noelle et al.), en trámite junto con la presente. Otros ingredientes activos para uso en combinación con una preparación de IRM de la presente invención incluyen aquellos descritos en, por ejemplo, la Publicación de Patente U.S. nº 2003/0139364 (Krieg et al.).

En algunas realizaciones, una composición farmacéutica según la presente invención puede ser una formulación de dosificación tópica convencional (por ejemplo, una crema, un ungüento, una formulación de aerosol, una pulverización no de aerosol, un gel, o una loción). Los tipos de formulaciones adecuados se describen, por ejemplo, en la patente U.S. nº 5.238.944 (Wick et al.); patente U.S. nº 5.939.090 (Beaurline et al.); patente U.S. nº 6.245.776 (Skwierczynski et al.); patente europea nº EP 0394026 (Schultz); y en la Publicación de Patente U.S. nº 2003/0199538 (Skwierczynski et al.).

Se ha mostrado que el compuesto de Fórmula I induce la producción de TNF-α como se describe anteriormente. La capacidad para inducir la producción de TNF indica que el compuesto de Fórmula I es útil como un modificador de la respuesta inmunitaria que puede modular la respuesta inmunitaria de muchas maneras diferentes, haciéndolo útil en el tratamiento de una variedad de trastornos. Otras citocinas cuya producción se puede inducir mediante la administración del compuesto de Fórmula I incluyen generalmente interferones de tipo I (por ejemplo, INF-α), IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, MIP-1, MCP-1, y una variedad de otras citocinas. Entre otros efectos, estas y otras citocinas inhiben la producción de virus y el crecimiento de células tumorales, haciendo al compuesto de Fórmula I útil en el tratamiento de enfermedades víricas y enfermedades neoplásicas. En consecuencia, la invención proporciona el compuesto de Fórmula I para uso en la inducción de la biosíntesis de citocinas en un animal, que comprende administrar una cantidad eficaz del compuesto de Fórmula I (por ejemplo, en una composición farmacéutica) al animal. El animal al que se administra el compuesto de Fórmula I para la inducción de la biosíntesis de citocinas puede tener una enfermedad (por ejemplo, una enfermedad vírica o neoplásica), y la administración del compuesto puede proporcionar un tratamiento terapéutico. También, el compuesto de Fórmula I se puede administrar al animal antes de que el animal adquiera la enfermedad, de manera que la administración del compuesto de Fórmula I puede proporcionar un tratamiento profiláctico.

Además de la capacidad para inducir la producción de citocinas, el compuesto de Fórmula I puede afectar a otros aspectos de la respuesta inmunitaria innata. Por ejemplo, se puede estimular la actividad de células asesinas

naturales, un efecto que puede ser debido a la inducción de citocinas. La actividad de IRM del compuesto de Fórmula I también puede incluir activar macrófagos, que a su vez estimulan la secreción de óxido nítrico y la producción de citocinas adicionales. La actividad de IRM del compuesto de Fórmula I también puede incluir la inducción de la producción de citocinas mediante células T, activando células T específicas de un antígeno, y/o activando células dendríticas. Además, la actividad de IRM del compuesto de Fórmula I puede incluir proliferación y diferenciación de linfocitos B. La actividad de IRM del compuesto de Fórmula I también puede afectar a la respuesta inmunitaria adquirida. Por ejemplo, la actividad de IRM puede incluir la inducción de la producción de la citocina cooperadora T tipo I (T_H1), IFN-γ, y/o la inhibición de la producción de las citocinas cooperadoras T tipo 2 (T_H2) IL-4, IL-5 y/o IL-13.

Las afecciones ejemplares que se pueden tratar administrando el compuesto de Fórmula I incluyen:

(a) enfermedades víricas tales como enfermedades que resultan de la infección por un adenovirus, herpesvirus (por ejemplo, HSV-I, HSV-II, CMV, o VZV), un poxvirus (por ejemplo, un ortopoxvirus tal como viruela o vacuna, o molusco contagioso), un picornavirus (por ejemplo, rinovirus o enterovirus), un ortomixovirus (por ejemplo, virus de la gripe), un paramixovirus (por ejemplo, virus de la parainfluenza, virus de las paperas, virus del sarampión, y virus sincitial respiratorio (RSV)), un coronavirus (por ejemplo, SARS), un papovavirus (por ejemplo, virus del papiloma, tales como aquellos que causan condilomas acuminados, verrugas comunes, o verrugas plantares). Un hepadnavirus (por ejemplo, virus de la hepatitis B), un flavivirus (por ejemplo, virus de la hepatitis C o virus del dengue), o un retrovirus (por ejemplo, un lentivirus tal como VIH);

(b) enfermedades bacterianas tales como las enfermedades que resultan de la infección por bacterias de, por ejemplo, el género Escherichia, Enterobacter, Salmonella, Staphilococcus, Shigella, Listeria, Aerobacter, Helicobacter, Klebsiella, Proteus, Pseudomonas, Streptococcus, Chlamydia, Mycoplasma, Pneumococcus, Neisseria, Clostridium, Bacillus, Corynebacterium, Mycobacterium, Campilobacter, Vibrio, Serratia, Providencia, Chromobacterium, Brucella, Yersinia, Haemophilus, o Bordetella;

(c) otras enfermedades infecciosas tales como clamidia, enfermedades fúngicas (por ejemplo, candidiasis, aspergilosis, histoplasmosis, o meningitis criptocócica), o enfermedades parásitas (por ejemplo, malaria, neumonía por Pneumocystis carinii, leishmaniosis, criptosporidiosis, toxoplasmosis, e infección por tripanosomas);

(d) enfermedades neoplásicas tales como neoplasias intraepiteliales, displasia cervical, queratosis actínica, carcinoma de células basales, carcinoma de células escamosas, carcinoma de células renales, sarcoma de Kaposi, melanoma, leucemias (por ejemplo, leucemia mielogenosa, leucemia linfocítica crónica, mieloma múltiple, linfoma no de Hodgkin, linfoma de células T cutáneo, linfoma de células B, y leucemia de células pilosas), cáncer de mama, cáncer de pulmón, cáncer de próstata, cáncer de colon, y otros cánceres;

(e) enfermedades atópicas mediadas por T_H2, tales como dermatitis atópica o eccema, eosinofilia, asma, alergia, rinitis alérgica, y síndrome de Ommen;

(f) ciertas enfermedades autoinmunitarias tales como lupus eritematoso sistémico, trombocitemia esencial, esclerosis múltiple, lupus discoide, y alopecia areata; y

(g) enfermedades asociadas con la reparación de heridas, tales como la inhibición de la formación de queloides y otros tipos de formación de cicatrización (por ejemplo, potenciación de la curación de heridas, incluyendo heridas crónicas).

El mecanismo para la actividad antivírica y antitumoral del compuesto de Fórmula I puede ser debido en parte sustancial a la potenciación del sistema inmunitario mediante inducción de diversas citocinas importantes (por ejemplo, al menos una de factor de necrosis tumoral, interferones, o interleucinas). Se ha mostrado que tales compuestos estimulan una liberación rápida de ciertas citocinas derivadas de monocitos/macrófagos, y también son capaces de estimular células B para que segreguen anticuerpos que desempeñan un papel importante en estas actividades antivíricas y antitumorales de los compuestos de IRM.

Se entenderá que en el tratamiento de las enfermedades mencionadas anteriormente, por ejemplo, el compuesto de Fórmula I se puede usar en combinación con otras terapias, tales como los agentes activos mencionados anteriormente, y otros procedimientos (por ejemplo, quimioablación, ablación por láser, crioterapia, y extirpación quirúrgica).

Una cantidad de un compuesto eficaz para inducir la biosíntesis de citocinas es una cantidad suficiente para provocar que uno o más tipos celulares, tales como monocitos, macrófagos, células dendríticas y células B, produzcan una cantidad de una o más citocinas, tales como, por ejemplo, IFN-α, TNF-α, IL-1, IL-6, IL-10 e IL-12, que se incrementa con respecto al nivel de base de tales citocinas. La cantidad precisa variará según factores conocidos en la técnica, pero se espera que sea una dosis de alrededor de 100 nanogramos por kilogramo (ng/kg) a alrededor de 50 miligramos por kilogramo (mg/kg), en algunas realizaciones alrededor de 10 microgramos por kilogramo (μg/kg) a alrededor de 5 mg/kg. La invención también proporciona un método para tratar una infección vírica en un

animal, y un método para tratar una enfermedad neoplásica en un animal, que comprende administrar una cantidad eficaz de un compuesto o composición farmacéutica de la invención al animal. Una cantidad eficaz para tratar o inhibir una infección vírica es una cantidad que provocará una reducción en una o más de las manifestaciones de la infección vírica, tales como lesiones víricas, carga viral, velocidad de producción del virus, y mortalidad, en comparación con los animales del control no tratados. La cantidad precisa que es eficaz para tal tratamiento variará según factores conocidos en la técnica, pero se espera que sea una dosis de alrededor de 100 ng/kg a alrededor de 50 mg/kg, en algunas realizaciones alrededor de 10 μg/kg a alrededor de 5 mg/kg. Una cantidad de un compuesto o composición farmacéutica eficaz para tratar una afección neoplásica es una cantidad que provocará una reducción en el tamaño tumoral o en el número de focos tumorales. Nuevamente, la cantidad precisa variará según factores conocidos en la técnica, pero se espera que sea una dosis de alrededor de 100 ng/kg a 50 mg/kg, en algunas realizaciones alrededor de 10 μg/kg a alrededor de 5 mg/kg. Los métodos de la presente descripción se pueden llevar a cabo en cualquier sujeto adecuado. Los sujetos adecuados incluyen animales tales como seres humanos, primates no humanos, roedores, perros, gatos, caballos, cerdos, ovejas, cabras, o vacas.

La composición de una formulación adecuada para la práctica de la invención, la cantidad precisa de un compuesto de Fórmula I eficaz para los métodos según la presente descripción, y el régimen de dosificación, por ejemplo, variarán según factores conocidos en la técnica, que incluyen la naturaleza del vehículo, el estado del sistema inmunitario del sujeto (por ejemplo, suprimido, comprometido, estimulado), el método de administración del compuesto de Fórmula I, y la especie a la que se esté administrando la formulación. En consecuencia, no es práctico establecer de forma general la composición de una formulación que incluye un compuesto de Fórmula I, una cantidad de un compuesto de Fórmula I que constituye una cantidad eficaz, o un régimen de dosificación que sea eficaz para todas las aplicaciones posibles. Los expertos normales en la técnica, sin embargo, pueden determinar fácilmente las formulaciones, cantidades del compuesto de Fórmula I y régimen de dosificación apropiados sin consideración debida de tales factores.

En algunas realizaciones, los métodos de la presente descripción incluyen administrar un compuesto de Fórmula I a un sujeto en una formulación que tiene, por ejemplo, una concentración del compuesto de alrededor de 0,0001% a alrededor de 20% (excepto que se indique de otro modo, todos los porcentajes proporcionados aquí están en peso/peso con respecto a la formulación total), aunque en algunas realizaciones el compuesto de Fórmula I se puede administrar usando una formulación que proporciona el compuesto en una concentración fuera de este intervalo. En algunas realizaciones, el método incluye administrar a un sujeto una formulación que incluye de alrededor de 0,01% a alrededor de 1% del compuesto de Fórmula I, por ejemplo una formulación que incluye alrededor de 0,1% a alrededor de 0,5% del compuesto de Fórmula I.

En algunas realizaciones, los métodos de la presente descripción incluyen administrar suficiente compuesto para proporcionar una dosis de, por ejemplo, alrededor de 100 ng/kg a alrededor de 50 mg/kg al sujeto, aunque en algunas realizaciones los métodos se pueden llevar a cabo administrando un compuesto en una dosis fuera de este intervalo. En algunas de estas realizaciones, el método incluye administrar suficiente compuesto para proporcionar una dosis de alrededor de 10 μg/kg a alrededor de 5 mg/kg al sujeto, por ejemplo una dosis de alrededor de 100 μg/kg a alrededor de 1 mg/kg. En algunas realizaciones, los métodos de la presente descripción pueden incluir administrar suficiente compuesto para proporcionar una dosis de, por ejemplo, alrededor de 0,01 mg/m^2 a alrededor de 10 mg/m^2. Como alternativa, la dosis se puede calcular usando el peso corporal real obtenido justo antes del comienzo del curso del tratamiento. Para las dosis calculadas de esta manera, el área superficial corporal (m^2) se calcula antes del comienzo del curso del tratamiento usando el método de Dubois: m^2 = (peso $kg^{0,425}$ x altura $cm^{0,725}$) x 0,007184.

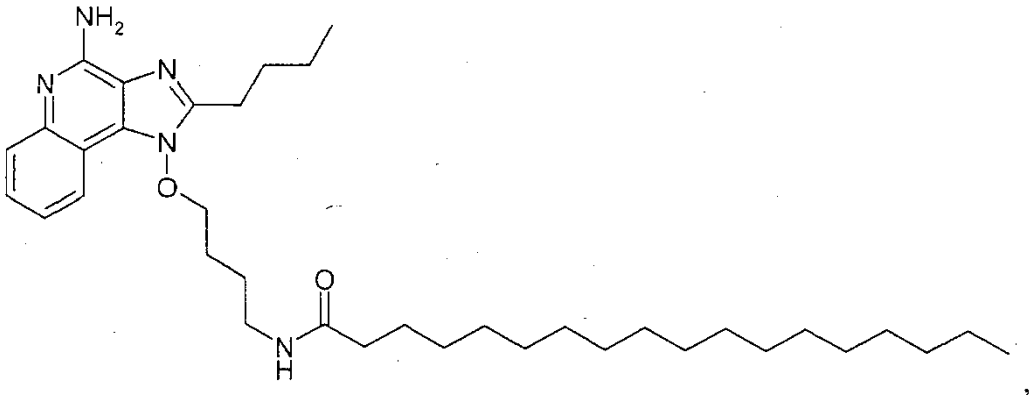
En algunas realizaciones de los métodos descritos aquí, el compuesto de Fórmula I se puede administrar, por ejemplo, desde una única dosis a múltiples dosis por semana, aunque en algunas realizaciones los métodos de la presente invención se pueden llevar a cabo administrando el compuesto de Fórmula I a una frecuencia fuera de este intervalo. En algunas realizaciones, el compuesto de Fórmula I se puede administrar desde alrededor de una vez por mes a alrededor de cinco veces por semana. En algunas realizaciones, el compuesto de Fórmula I se administra una vez por semana.

Puesto que el compuesto de Fórmula I se puede formular para proporcionar niveles sistémicos reducidos del compuesto a la vez que induce niveles elevados de citocinas, se cree que es muy útil para proporcionar una respuesta inmunitaria local potenciada, a la vez que minimiza los efectos secundarios sistémicos indeseables. Esto puede ser ventajoso para muchos usos, tal como la administración directa a un tumor, y/o como un adyuvante de vacuna.

Los objetos y ventajas de esta invención se ilustran mediante los ejemplos anteriores, pero los materiales particulares y sus cantidades citados, así como otras condiciones y detalles, no se deben interpretar que limitan excesivamente esta invención.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula:



que incluye cualquier sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

2. Una composición farmacéutica que comprende un vehículo farmacéuticamente aceptable y el compuesto de la reivindicación 1.

3. Una composición farmacéutica que comprende el compuesto de la reivindicación 1 en una formulación que comprende liposomas.

4. La composición farmacéutica de las reivindicaciones 2 o 3, que comprende además un antígeno.

5. La composición farmacéutica de la reivindicación 4, en la que el compuesto y el antígeno se mezclan en una sola composición.

6. La composición farmacéutica de la reivindicación 4, en la que el compuesto y el antígeno están presentes en componentes separados de la composición para ser administrados en combinación.

7. La composición farmacéutica de una cualquiera de las reivindicaciones 4 a 6, en la que el antígeno es una vacuna contra el cáncer.

8. La composición farmacéutica de una cualquiera de las reivindicaciones 4 a 6, en la que el antígeno es una vacuna antivírica.

9. Uso de un compuesto que tiene la fórmula N-(4-{[4-amino-2-butil-1*H*-imidazo[4,5-*c*]quinolin-1-il]oxi}butil)octadecanamida, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, como un adyuvante de vacuna.

10. El uso de la reivindicación 9, en el que el compuesto se incorpora en una formulación liposómica.

11. Un compuesto que tiene la fórmula N-(4-{[4-amino-2-butil-1*H*-imidazo[4,5-*c*]quinolin-1-il]oxi}butil)octadecanamida, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para uso en el tratamiento de enfermedad neoplásica.

12. El compuesto para uso de la reivindicación 11, en el que el compuesto está en una formulación liposómica.

13. El compuesto para uso de la reivindicación 12, en el que la formulación se administra directamente en una masa tumoral localizada.

14. El compuesto para uso de una cualquiera de las reivindicaciones 11 a 13, en el que se administra adicionalmente un antígeno de tipo vacuna contra el cáncer.