

(19)



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS
ESPAÑA



(11) Número de publicación: **2 631 977**

(51) Int. Cl.:

A61K 31/4745 (2006.01)

A61K 31/7004 (2006.01)

A61K 31/717 (2006.01)

(12)

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

(86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **15.12.2010 PCT/US2010/060621**

(87) Fecha y número de publicación internacional: **14.07.2011 WO11084549**

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **15.12.2010 E 10799189 (5)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **19.04.2017 EP 2512478**

(54) Título: **Suspensión homogénea de compuestos inmunopotenciadores y usos de la misma**

(30) Prioridad:

15.12.2009 US 286754 P

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
07.09.2017

(73) Titular/es:

**GLAXOSMITHKLINE BIOLOGICALS SA (100.0%)
Rue de l'Institut 89
1330 Rixensart, BE**

(72) Inventor/es:

**SKIBINSKI, DAVID;
JAIN, SIDDHARTHA;
SINGH, MANMOHAN y
O'HAGAN, DEREK**

(74) Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 631 977 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

Suspensión homogénea de compuestos inmunopotenciadores y usos de la misma

Referencia cruzada a las solicitudes relacionadas

Esta solicitud reivindica el beneficio de la Solicitud Provisional U.S. n.º 61/286.754, presentada el 15 de diciembre de 5 2009

Antecedentes de la Invención

Las vacunas recientemente desarrolladas de patógenos atenuados o proteínas de subunidades, en tanto que ofrecen ventajas significativas con respecto a las vacunas tradicionales de patógenos enteros en términos de seguridad y costo de producción, tienen en general inmunogenicidad limitada en comparación a los patógenos enteros. Como resultado, estas vacunas requieren típicamente adyuvantes con capacidad inmunoestimuladora 10 significativa para alcanzar su potencial completo en la prevención de enfermedades.

Se han hecho esfuerzos para identificar nuevos moduladores inmunitarios para el uso como adyuvantes para vacunas e immunoterapias. En particular, sería altamente deseable una formulación de adyuvante que produce 15 potentes respuestas inmunitarias humorales y mediadas por células a una amplia variedad de antígenos en humanos y animales domésticos, pero carece de los efectos secundarios de los adyuvantes convencionales y otros inmunomoduladores, inmunomoduladores. Esta necesidad se puede cumplir por inmunopotenciadores de molécula pequeña ("SMIP", por sus siglas en inglés) debido a que la plataforma de molécula pequeña proporciona diversos compuestos para la manipulación selectiva de la respuesta inmunitaria, necesaria para incrementar los inmunomoduladores de índice terapéutico.

20 Los receptores tipo Toll (TLR, por sus siglas en inglés) son un grupo de receptores de reconocimiento de patrones que se unen a patrones moleculares asociados a patógenos (PAMPS, por sus siglas en inglés) de bacterias, hongos, protozoarios y virus, y actúan como una primera línea de defensa contra patógenos invasores. Los TLR son esenciales para inducir la expresión de genes comprendidos en respuestas inflamatorias, y los TLR y el sistema inmunitario innato son un paso crítico en el desarrollo de inmunidad adquirida específica al antígeno.

25 La inmunidad adaptable (humoral o mediada por células) se asocia con el mecanismo de señales de TLR de la inmunidad innata. La inmunidad innata es una respuesta celular inmunitaria protectora que funciona rápidamente para combatir agresiones ambientales que incluyen, pero no se limitan a, agentes bacterianos o virales. La inmunidad adaptable es una respuesta más lenta, que comprende la diferenciación y activación de linfocitos T sin tratamiento previo en tipos de células auxiliares T 1 (Th1) o auxiliares T 2 (Th2). Las células Th1 promueven 30 principalmente la inmunidad celular, en tanto que las células Th2 promueven principalmente la inmunidad humoral.

Todos los TLR parecen funcionar como ya sea un homodímero o un heterodímero en el reconocimiento de un determinante molecular específico o un conjunto de determinantes moleculares específicos presentes en organismos patógenos que incluyen lipopolisacáridos de superficie de células bacterianas, lipoporteínas, flagelina bacteriana, ADN tanto de bacterias como de virus y ARN viral. La respuesta celular a la activación de TLR comprende la 35 activación de uno o más factores de transcripción, conduciendo a la producción y secreción de citocinas y moléculas co-estimuladoras tal como interferones, TNF-, interleucinas, MIP-1 y MCP-1 que contribuyen a la aniquilación y depuración de la invasión patógena.

40 Los trece TLR (nombrados TLR1 a TLR13) se han identificado en humanos y ratones, conjuntamente, y se han encontrado en otras especies de mamífero formas equivalentes de muchos de estos. En particular, los papeles de TLR7 y TLR8 son detectar la presencia de ARN "extraño" de hebra individual dentro de una célula, como un medio para responder a la invasión viral. Tanto TLR7 como TLR8 son proteínas conservadas de una manera estructuralmente alta que reconocen ARN de hebra individual con alto contenido de guanosina o uridina (ARNss) de virus tal como el virus de inmunodeficiencia humana, virus de estomatitis vesicular y virus de influenza.

45 El documento WO 2009/111337 desvela una serie de compuestos que se unen a los receptores tipo Toll (TLR), que incluyen TLR7 y TLR8. Se encuentra que los compuestos son útiles como inmunopotenciadores, pero contiene un núcleo hidrófobo y tienen baja solubilidad.

Por lo tanto, es un objeto de esta invención proporcionar suspensiones homogéneas de SMIP que son capaces de simular o modular una respuesta inmunitaria en un sujeto en necesidad de lo mismo.

Sumario de la Invención

50 La presente invención se refiere en general a suspensiones homogéneas de inmunopotenciadores de molécula pequeña (SMIP; es decir, compuestos de la Fórmula I o Fórmula II) que son capaces de estimular o modular una respuesta inmunitaria en un sujeto en necesidad de lo mismo. Las suspensiones homogéneas se pueden usar en combinaciones con varios antígenos o adyuvantes para inmunoterapia.

Un planteamiento de ejemplo es usar homogenización de alta presión conjuntamente con un agente tensioactivo y un agente mejorador de la viscosidad para crear una suspensión homogénea estable de SMIP que contiene partículas en el intervalo de tamaño de μm . Las suspensiones resultantes son particularmente adecuadas para la co-distribución de SMIP con vacunas basadas en emulsión de aceite en agua y alumbre.

5 En un aspecto, la invención proporciona una suspensión homogénea que comprende (a) un compuesto de Benzoaftiridina de la Fórmula I o Fórmula II, sal farmacéuticamente aceptable, solvato farmacéuticamente aceptable, derivado de N-óxido, derivado protegido, isómero individual o mezcla de isómeros del mismo; (b) un agente tensioactivo, y (c) un agente de suspensión, en el que el agente de suspensión es estable durante al menos 10 aproximadamente 4 semanas a 4 °C. En ciertas modalidades, la suspensión homogénea comprende de aproximadamente 0,5 mg/ml a aproximadamente 50 mg/ml de compuesto de Benzoaftiridina.

En ciertas modalidades, el compuesto de Benzoaftiridina es: 2-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenil)propan-2-ol; 2-(4-metoxi-2-metilfenetil)-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina; 4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilbenzoato de etilo; 2-(4-(dimetilamino)fenetil)-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina; 2-(4-metoxifenetil)-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina; o 2-(2-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)etoxi)etanol.

15 En una modalidad preferida, la suspensión homogénea comprende (a) 2-(2,4-dimetilfenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-5-amina, o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo, (b) un agente tensioactivo, y (c) un agente de suspensión, en el que la suspensión es estable durante al menos aproximadamente cuatro semanas a 4 °C.

20 En otra modalidad preferida, la suspensión homogénea comprende (a) 2-(4-metoxi-2-metilfenetil)-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina, o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato farmacéuticamente aceptable de la misma, (b) un agente tensioactivo, y (c) un agente de suspensión, en el que la suspensión es estable durante al menos aproximadamente cuatro semanas a 4 °C.

25 En otra modalidad preferida, la suspensión homogénea comprende (a) 2-(2-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)etoxi)etanol, o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo, (b) un agente tensioactivo, y (c) un agente de suspensión, en el que la suspensión es estable durante al menos aproximadamente cuatro semanas a 4 °C.

30 Los agentes tensioactivos de ejemplo incluyen, por ejemplo, Tween-80. En ciertas modalidades, la suspensión homogénea comprende de aproximadamente 0,1 % a aproximadamente 10 % de agente tensioactivo. El agente de suspensión de ejemplo incluye, por ejemplo, agentes mejoradores de viscosidad tal como carboximetilcelulosa. En ciertas modalidades, la suspensión homogénea comprende de aproximadamente 0,1 % a aproximadamente 10 % de agente de suspensión.

35 En ciertas modalidades, al menos aproximadamente 50 % de las partículas de suspensión de la suspensión homogénea tiene un diámetro de aproximadamente 10 μm o menos. En ciertas modalidades, al menos aproximadamente 50 % de las partículas de suspensión de la suspensión homogénea tienen un diámetro de aproximadamente 2 μm o menos.

40 La suspensión homogénea de la invención se puede usar para potenciar una respuesta inmunitaria y se puede co-distribuir con un antígeno, composición inmunogénica o vacuna para mejorar la efectividad de la respuesta inmunitaria inducida. También se puede usar un adyuvante (por ejemplo, alumbre o adyuvantes de aceite en agua) en combinación con la suspensión homogénea de la invención.

También se proporcionan en el presente documento composiciones inmunogénicas que comprenden (1) un antígeno y (2) la suspensión homogénea de la invención.

45 En ciertas modalidades, la composición inmunogénica comprende además un adyuvante. Los adyuvantes de ejemplo incluyen, por ejemplo, un adyuvante que contiene aluminio (por ejemplo, hidróxido de aluminio, oxihidróxido de aluminio, o hidroxifosfato de aluminio), una emulsión de aceite en agua (por ejemplo, MF59), un liposoma (por ejemplo, una vesícula de membrana exterior), un oligonucleótido (por ejemplo, un oligonucleótido que comprende un motivo CpG no metilado).

50 En ciertas modalidades, la composición inmunogénica comprende un antígeno que es un antígeno bacteriano (por ejemplo, un antígeno de *Neisseria meningitidis*), un antígeno viral (por ejemplo, un antígeno del virus sincitial respiratorio (RSV, por sus siglas en inglés) o virus de Ébola). En ciertas modalidades, la composición inmunogénica comprende (1) un antígeno viral (por ejemplo, un antígeno de virus de Ébola) y (2) 2-(4-metoxi-2-metilfenetil)-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina o 2-(2-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)etoxi)etanol.

55 También, se proporcionan en el presente documento procedimientos para usar la suspensión homogénea de la invención para potenciar una respuesta inmunitaria en un sujeto en necesidad de la misma, y procedimientos para producir la suspensión homogénea de la invención.

La invención también se refiere a un procedimiento para producir una suspensión homogénea que comprende un compuesto de la Fórmula I o la Fórmula II, un agente tensioactivo y un agente de suspensión. El procedimiento comprende mezclar el compuesto de la Fórmula I o Fórmula II, un agente tensioactivo y un agente de suspensión, y homogenizar la mezcla bajo alta presión, tal como 103,42-137,90 MPa (15.000-20.000 psi), para producir una suspensión homogénea que tiene de manera preferente un D50 de aproximadamente 10 µm o menos, de manera más preferente, aproximadamente 2 µm o menos, y, de manera opcional, un D90 de aproximadamente 10 µm o menos.

En la presente también se proporcionan procedimientos para usar la composición inmunogénica de la invención para generar una respuesta inmunitaria en un sujeto en necesidad de la misma.

10 La invención también se refiere a una suspensión homogénea como se describe en el presente documento para el uso en terapia, y al uso de una suspensión homogénea para la elaboración de un medicamento para potenciar o inducir una respuesta inmunitaria.

La invención se define en las reivindicaciones.

Breve Descripción de las Figuras

15 La Figura 1A muestra los perfiles electroforéticos (por SDS-PAGE) de tres antígenos MenB, solos o después de adicionar dosis diferentes a las formulaciones de Alumbre/3MenB. Clave: SN = antígeno no adsorbido (representativo de 20 % de dosis de 10 µg); T = antígeno no adsorbido (representativo de 200 % de dosis de 20 µg); P = recuperación de antígeno adsorbido (representativo de 10 % de dosis de 10 µg). La Figura 1B es una tabla que muestra el porcentaje de la adsorción de antígeno sobre Alumbre.

20 La Figura 2 muestra que la suspensión homogénea del Ejemplo 47 no tiene impacto en la adsorción del antígeno PK1-3526 de *E. coli* patógeno extra-intestinal (ExPEC). Clave: 1. Marcador Sea Blue Plus MW; 2. pK1-3526 control 2ug (100 %); 3. pK1-3526 control 1ug (50 %); 4. pK1-3526 control 0,4ug (20 %); 5. Alumbre / pK1-3526 SN (20 %); 6. Alumbre / pK1-3526 + Ejemplo 47 SN (20 %); 7. Alumbre / pK1-3526 SN TCA (240 %); 8. Alumbre / pK1-3526 + Ejemplo 47 SN TCA (240 %); 9. -; 10. pK1-3526 TCA control 2,4ug (240 %); 11. Alumbre / pK1-3526 Sedimento Desorción (50 %); 12. Alumbre / pK1-3526 + Ejemplo 47 Sedimento Desorción (50 %). Los valores de % indican proporciones de la formulación de dosis individual.

25 La Figura 3A muestra los niveles en suero del Ejemplo 47 (suspensión no homogénea/DMSO contra suspensión homogénea) en ratones después de inyección intramuscular a 4mpk (miligramo por kilogramo) en los vehículos indicados con 3MenB/Alumbre. La Figura 3B muestra los niveles en músculo del sitio de inyección del Ejemplo 47 (suspensión no homogénea/DMSO contra suspensión homogénea) en ratones 24 horas después de la inyección intramuscular a 4mpk en los vehículos indicados con 3MenB/Alumbre. La Figura 3C muestra el nivel en nódulo linfático inguinal del Ejemplo 47 (suspensión homogénea) en ratones 24 horas después de la inyección intramuscular a 4mpk en los vehículos indicados con 3MenB/Alumbre.

30 La Figura 4 muestra que los perfiles de liberación de citocinas de la suspensión no homogénea/DMSO más 3MenB/Alumbre y la suspensión homogénea del Ejemplo 47 más 3MenB/Alumbre fueron similares. Las liberaciones de citocinas fueron mínimas en comparación al adyuvante R848 después de la exposición de suspensiones homogéneas o Ejemplo 47 formulado en DMSO.

35 La Figura 5A muestra los títulos de anticuerpos bactericidas en suero (SBA, por sus siglas en inglés) para Alumbre/3MenB formulado con dosis específicas de la suspensión homogénea del Ejemplo 47 que varía de 2 a 100 microgramos por ratón. La Figura 5B muestra los títulos de SBA para MF59/3MenB formulado con dosis específicas de la suspensión homogénea del Ejemplo 47 que varía de 2 a 100 microgramos por ratón.

40 La Figura 6 muestra la capacidad de la suspensión del Ejemplo 47 (cuando se formula con la vacuna de Alumbre/3MenB) para producir un título de SBA para sueros mezclados contra un panel de 16 cepas de *N. meningitidis* (todo lo cual tiene típicamente bajos títulos con formulaciones de Alumbre/3MenB). La gráfica representa el porcentaje de cobertura contra estas 16 cepas. El corte se refiere a los títulos más bajos considerados que muestran actividad bactericida.

45 Las Figuras 7A-7C muestran el resultado de la evaluación de las relaciones de IgG1/IgG2a en el modelo de ratón MenB *in vivo*. La Figura 7A muestra los títulos de IgG1, IgG2a, IgG2b y IgG3 para GNA2132-GNA1030. La Figura 7B muestra los títulos de IgG1, IgG2a, IgG2b y IgG3 para GNA2091-GNA1870. La Figura 7C muestra los títulos de IgG1, IgG2a, IgG2b y IgG3 para NadA.

50 La Figura 8 muestra los resultados del ensayo de SBA usando la suspensión no homogénea del Ejemplo 47 (preparada en DMSO). Los ratones se inmunizaron dos veces mediante i.m. con MF59/3MenB + la cantidad indicada del Ejemplo 47. La gráfica se basa en 3 estudios independientes de SBA y representa el título promedio ± desviación estándar a las dos semanas después de la segunda inyección. Los ensayos de SBA se realizaron con el procedimiento normal de CFU con la cepa NZ98 MenB.

La Figura 9A es una gráfica que resume los resultados de un estudio que demostró la capacidad de la suspensión del Ejemplo 47 para producir una respuesta inmunitaria contra el antígeno RSV F. Las lecturas representan el anticuerpo anti-F total (kappa) y el anticuerpo neutralizante (PRNT60). La Figura 9B muestra que en otro estudio, la suspensión del Ejemplo 47 mejoró el anticuerpo específico de F, el cambio de clase a IgG2a, y el anticuerpo neutralizante.

5

Descripción Detallada de la Invención

1. Términos generales

En un aspecto, esta invención se refiere a una suspensión homogénea de inmunopotenciadores de molécula pequeña (SMIP). Las suspensiones homogéneas se pueden usar para potenciar una respuesta inmunitaria.

10 Como se describe en el presente documento, los inventores han evaluado la eficiencia de suspensiones homogéneas de un SMIP de ejemplo, 2-(2,4-dimetilfenetil)benzo[f][1,7] naftiridin-5-amina. Estos estudios demostraron que las suspensiones homogéneas de SMIP son más efectivas que las suspensiones no homogéneas (en DMSO) al potenciar respuestas inmunitarias.

15 Un planteamiento de ejemplo para producir las suspensiones homogéneas es usar homogeneización de alta presión conjuntamente con un agente tensioactivo y un agente mejorador de la viscosidad para crear una suspensión homogénea estable de SMIP que contiene partículas en el intervalo de tamaño de 100 nm a 10 μm . Las suspensiones resultantes son particularmente adecuadas para la co-distribución de SMIP con vacunas basadas en emulsión de aceite en agua y alumbre. Una suspensión homogénea tiene una distribución definida de tamaños, permitiendo mejor uniformidad de las dosis. Adicionalmente, el tamaño resultante de partícula incrementa la biodisponibilidad del SMIP para inmunizar células después de la administración. Las suspensiones también tienen el potencial de ser estables con el paso del tiempo como se mide por distribución de tamaño. Finalmente, una suspensión homogénea de SMIP proporciona efecto inmunoestimulador a bajas dosis (por ejemplo 10 ug/dosis o menos) en comparación a una suspensión no homogénea a la misma dosis.

20 En una modalidad preferida, la suspensión homogénea comprende (a) 2-(2,4-dimetilfenetil)benzo[f] [1,7]naftiridin-5-amina, o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato farmacéuticamente aceptable de la misma, (b) un agente tensioactivo, y (c) un agente de suspensión, en el que la suspensión es estable durante al menos aproximadamente cuatro semanas a 4 °C.

25 En otra modalidad preferida, la suspensión homogénea comprende (a) 2-(4-metoxi-2-metilfenetil)-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina, o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato farmacéuticamente aceptable de la misma, (b) un agente tensioactivo, y (c) un agente de suspensión, en el que la suspensión es estable durante al menos aproximadamente cuatro semanas a 4 °C.

30 En otra modalidad preferida, la suspensión homogénea comprende (a) 2-(2-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f] [1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)etoxi)etanol, o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo, (b) un agente tensioactivo, y (c) un agente de suspensión, en el que la suspensión es estable durante al menos aproximadamente cuatro semanas a 4 °C.

35 La suspensión homogénea de la invención se puede usar para potenciar una respuesta inmunitaria y se puede co-distribuir con un antígeno, composición inmunogénica o vacuna para mejorar la efectividad de la respuesta inmunitaria inducida.

40 En la presente también se proporcionan procedimientos para usar la suspensión homogénea de la invención para potenciar una respuesta inmunitaria en un sujeto en necesidad de lo mismo, y procedimientos para producir la suspensión homogénea de la invención.

2. Definiciones

Como se usa en el presente documento, las formas singulares "una", "un" y "el", "la" incluyen referencias plurales a menos que el contenido dicte claramente lo contrario.

45 El término "aproximadamente", como se usa en el presente documento, se refiere a +/- 10 % de un valor.

El término "alquenilo", como se usa en el presente documento, se refiere a un hidrocarburo de cadena recta o ramificada parcialmente insaturado que tiene al menos un doble enlace carbono-carbono. Los átomos orientados alrededor del doble enlace están ya sea en la conformación cis (Z) o trans (E). Un grupo alquenilo puede estar opcionalmente sustituido. Como se usa en el presente documento, las expresiones "alquenilo C₂-C₃", "alquenilo C₂-C₄", "alquenilo C₂-C₅", "alquenilo C₂-C₆", "alquenilo C₂-C₇", y "alquenilo C₂-C₈" se refiere a un grupo alquenilo que tiene al menos 2, y a lo mucho 3, 4, 5, 6, 7 u 8 átomos de carbono, respectivamente. Si no se especifica de otro modo, un grupo alquenilo es en general un alquenilo C₂-C₆. Los ejemplos no limitantes de alquenilo, como se usa en el presente documento, incluyen etenilo, propenilo, butenilo, pentenilo, hexenilo, heptenilo, octenilo, nonenilo, decenilo y similares.

- El término "alquenileno", como se usa en el presente documento, se refiere a un radical de hidrocarburo divalente de cadena recta o ramificada parcialmente insaturado obtenido a partir de un grupo alquenilo. Un grupo alquenileno puede estar opcionalmente sustituido. Como se usa en el presente documento, las expresiones "alquenileno C₂-C₃", "alquenileno C₂-C₄", "alquenileno C₂-C₅", "alquenileno C₂-C₆", "alquenileno C₂-C₇" y "alquenileno C₂-C₈" se refiere a 5 un grupo alquenileno que contiene al menos 2, y a lo mucho 3, 4, 5, 6, 7 u 8 átomos de carbono respectivamente. Si no se especifica de otro modo, un grupo alquenileno en general es un alquenileno C₁-C₆. Los ejemplos no limitantes de grupos alquenileno como se usa en el presente documento incluyen, etenileno, propenileno, butenileno, pentenileno, hexenileno, heptenileno, octenileno, nonenileno, decenileno y similares.
- El término "alquilo", como se usa en el presente documento, se refiere a un hidrocarburo de cadena recta o ramificada, saturado. Un grupo alquilo puede estar opcionalmente sustituido. Como se usa en el presente documento, las expresiones "alquilo C₁-C₃", "alquilo C₁-C₄", "alquilo C₁-C₅", "alquilo C₁-C₆", "alquilo C₁-C₇" y "alquilo C₁-C₈" se refieren a 10 un grupo alquilo que contiene al menos 1, y a lo mucho 3, 4, 5, 6, 7 u 8 átomos de carbono, respectivamente. Si no se especifica de otro modo, un grupo alquilo en general es un alquilo C₁-C₆. Los ejemplos no limitantes de grupos alquilo como se usa en el presente documento incluyen metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, n-butilo, isobutilo, sec-butilo, t-butilo, n-pentilo, isopentilo, hexilo, heptilo, octilo, nonilo, decilo y similares.
- El término "alquileno", como se usa en el presente documento, se refiere a un radical de hidrocarburo divalente de cadena recta o ramificada saturado obtenido a partir de un grupo alquilo. Un grupo alquileno puede estar 15 opcionalmente sustituido. Como se usa en el presente documento, los términos "alquileno C₁-C₃", "alquileno C₁-C₄", "alquileno C₁-C₅", "alquileno C₁-C₆", "alquileno C₁-C₇" y "alquileno C₁-C₈" se refieren a un grupo alquileno que 20 contiene al menos 1, y a lo mucho 3, 4, 5, 6, 7 u 8 átomos de carbono respectivamente. Si no se especifica de otro modo, un grupo alquileno en general es un C₁-C₆ alquileno. Los ejemplos no limitantes de grupos alquileno como se usa en el presente documento incluyen, metileno, etileno, n-propileno, isopropileno, n-butileno, isobutileno, sec-butileno, t-butileno, n-pentileno, isopentileno, hexileno y similares.
- El término "alquinilo", como se usa en el presente documento, se refiere a un hidrocarburo de cadena recta o 25 ramificada parcialmente insaturado que tiene al menos un triple enlace carbono-carbono. Un grupo alquinilo puede estar opcionalmente sustituido. Como se usa en el presente documento, los términos "alquinilo C₂-C₃", "alquinilo C₂-C₄", "alquinilo C₂-C₅", "alquinilo C₂-C₆", "alquinilo C₂-C₇", y "alquinilo C₂-C₈" se refieren a un grupo alquinilo que 30 contiene al menos 2, y a lo mucho 3, 4, 5, 6, 7 u 8 átomos de carbono, respectivamente. Si no se especifica de otro modo, un grupo alquinilo en general es un alquinilo C₂-C₆. Los ejemplos no limitantes de grupos alquinilo, como se usa en el presente documento, incluyen etinilo, propinilo, butinilo, pentinilo, hexinilo, heptinilo, octinilo, noninilo, decinilo y similares.
- El término "alquinileno", como se usa en el presente documento, se refiere a un radical de hidrocarburo divalente de cadena recta o ramificada parcialmente insaturado obtenido a partir de un grupo alquinileno. Un grupo alquinileno 35 puede estar opcionalmente sustituido. Como se usa en el presente documento, los términos "alquinileno C₂-C₃", "alquinileno C₂-C₄", "alquinileno C₂-C₅", "alquinileno C₂-C₆", "alquinileno C₂-C₇", y "alquinileno C₂-C₈" se refieren a un grupo alquinileno que contiene al menos 2, y a lo mucho 3, 4, 5, 6, 7 u 8 átomos de carbono respectivamente. Si no se especifica de otro modo, un grupo alquinileno en general es un alquinileno C₂-C₆. Los ejemplos no limitantes de grupos alquinileno como se usa en el presente documento incluyen, etinileno, propinileno, butinileno, pentinileno, hexinileno, heptinileno, octinileno, noninileno, decinileno y similares.
- El término "alcoxi", como se usa en el presente documento, se refiere al grupo -OR_a, cuando R_a es un grupo alquilo 40 como se define en el presente documento. Un grupo alcoxi puede estar opcionalmente sustituido. Como se usa en el presente documento, los términos "alcoxi C₁-C₃", "alcoxi C₁-C₄", "alcoxi C₁-C₅", "alcoxi C₁-C₆", "alcoxi C₁-C₇" y "alcoxi C₁-C₈" se refieren a un grupo alcoxi, en el que la porción alquilo contiene al menos 1, y a lo mucho 3, 4, 5, 6, 7 u 8, átomos de carbono. Los ejemplos no limitantes de grupos alcoxi, como se usa en el presente documento, incluyen 45 metoxi, etoxi, n-propoxi, isopropoxi, n-butiloxi, t-butiloxi, pentiloxi, hexiloxi, heptiloxi, octiloxi, noniloxi, deciloxi y similares.
- El término "arilo", como se usa en el presente documento, se refiere a sistemas de anillos monocíclicos, bicíclicos, y 50 tricíclicos que tienen un total de cinco a catorce miembros de anillo, en el que al menos un anillo en el sistema es aromático y en el que cada anillo en el sistema contiene de 3 a 7 miembros de anillo. Un grupo arilo puede estar opcionalmente sustituido. Los ejemplos no limitantes de grupos arilo, como se usa en el presente documento, incluyen fenilo, naftilo, fluorenilo, indenilo, azulenilo, antracenilo y similares.
- El término "arileno", como se usa significa un radical divalente obtenido a partir de un grupo arilo. Un grupo arileno 55 puede estar opcionalmente sustituido.
- El término "ciano", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo -CN.
- El término "cicloalquilo", como se usa en el presente documento, se refiere un montaje de anillo monocíclico, 60 bicíclico fusionado, tricíclico fusionado o policíclico en puente, saturado o parcialmente insaturado. Como se usa en el presente documento, los términos "cicloalquilo C₃-C₅", "cicloalquilo C₃-C₆", "C₃-C₇ cicloalquilo", "C₃-C₈ cicloalquilo", "cicloalquilo C₃-C₉" y "cicloalquilo C₃-C₁₀" se refieren a un grupo cicloalquilo en el que el montaje de anillo

monocíclico, bicíclico fusionado o policíclico en puente, saturado o parcialmente insaturado contiene al menos 3, y a lo mucho 5, 6, 7, 8, 9 o 10, átomos de carbono. Un grupo cicloalquilo puede estar opcionalmente sustituido. Los ejemplos no limitantes de grupos cicloalquilo, como se usa en el presente documento, incluyen ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, cicloheptilo, ciclooctilo, ciclononilo, ciclodecilo, ciclopentenilo, ciclohexenilo, decahidronaftalenilo, 2,3,4,5,6,7-hexahidro-1H-indenilo y similares.

El término "halógeno", como se usa en el presente documento, se refiere a flúor (F), cloro (Cl), bromo (Br) o yodo (I).

El término "halo", como se usa en el presente documento, se refiere a los radicales de halógeno: fluoro (-F), cloro (-Cl), bromo (-Br), y yodo (-I).

Los términos "haloalquilo" o "alquilo halo-sustituido", como se usa en el presente documento, se refieren a un grupo alquilo como se define en el presente documento, sustituido con uno o más grupos de halógeno, en los que los grupos de halógeno son los mismos o diferentes. Un grupo haloalquilo puede estar opcionalmente sustituido. Los ejemplos no limitantes de grupos haloalquilo de cadena recta o ramificada, como se usa en el presente documento, incluyen metilo, etilo, propilo, isopropilo, isobutilo y n-butilo sustituido con uno o más grupos halógeno, en los que los grupos halógeno son los mismos o diferentes incluyendo, pero no limitados a, trifluorometilo, pentafluoroetilo, y similares.

Los términos "haloalquenilo" o "alquenilo halo-sustituido", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo alquenilo como se define en el presente documento, sustituido con uno o más grupos halógeno, en los que los grupos halógeno son los mismos o diferentes. Un grupo haloalquenilo puede estar opcionalmente sustituido. Los ejemplos no limitantes de estos grupos haloalquenilo de cadena recta o ramificada, como se usa en el presente documento, incluyen etenilo, propenilo, butenilo, pentenilo, hexenilo, heptenilo, octenilo, nonenilo, decenilo y similares sustituidos con uno o más grupos halógeno, en los que los grupos halógeno son los mismos o diferentes.

Los términos "haloalquinilo" o "alquinilo halo-sustituido", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo alquinilo como se define anteriormente, sustituido con uno o más grupos halógeno, en los que los grupos halógeno son los mismos o diferentes. Un grupo haloalquinilo puede estar opcionalmente sustituido. Los ejemplos no limitantes de estos grupos haloalquinilo de cadena recta o ramificada, como se usa en el presente documento, incluyen etinilo, propinilo, butinilo, pentinilo, hexinilo, heptinilo, octinilo, noninilo, decinilo, y similares sustituidos con uno o más grupos halógeno, en los que los grupos halógeno son los mismos o diferentes.

El término "haloalcoxi", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo alcoxi como se define en el presente documento, sustituido con uno o más grupos halógeno, en los que los grupos halógeno son los mismos o diferentes. Un grupo haloalcoxi puede estar opcionalmente sustituido. Los ejemplos no limitantes de estos grupos haloalquinilo de cadena recta o ramificada, como se usa en el presente documento, incluyen metoxi, etoxi, n-propoxi, isopropoxi, n-butiloxi, t-butiloxi, pentiloxi, hexiloxi, heptiloxi, octiloxi, noniloxi, deciloxi y similares, sustituido con uno o más grupos halógeno, en los que los grupos halógeno son los mismos o diferentes.

El término "heteroalquilo", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo alquilo como se define en el presente documento en el que uno o más átomos de carbono se reemplazan independientemente por uno o más de oxígeno, azufre, nitrógeno, o combinaciones de los mismos.

El término "heteroarilo", como se usa en el presente documento, se refiere a sistemas de anillos monocíclicos, bicíclicos, y tricíclicos que tienen un a total de cinco a catorce miembros de anillo, en el que al menos un anillo en el sistema es aromático, al menos un anillo en el sistema contiene uno o más heteroátomos seleccionados de nitrógeno, oxígeno y azufre, y en el que cada anillo en el sistema contiene de 3 a 7 miembros de anillo. Un grupo heteroarilo puede contener uno o más sustituyentes. Un grupo heteroarilo puede estar opcionalmente sustituido. Los ejemplos no limitantes de grupos heteroarilo, como se usa en el presente documento, incluyen benzofuranilo, benzofurazanilo, benzoxazolilo, benzopiranilo, benzotiazolilo, benzotienilo, benzazepinilo, benzimidazolilo, benzotripiranilo, benzo[1,3]dioxol, benzo[b]furilo, benzo[b]tienilo, cinnolinilo, furazanilo, furilo, furopiridinilo, imidazolilo, indolilo, indolizinilo, indolin-2-ona, indazolilo, isoindolilo, isoquinolinilo, isoxazolilo, isotiazolilo, 1,8-naftiridinilo, oxazolilo, oxaindolilo, oxadiazolilo, pirazolilo, pirrolilo, ftalazinilo, pteridinilo, purinilo, piridilo, piridazinilo, pirazinilo, pirimidinilo, quinoxalinilo, quinolinilo, quinazolinilo, 4H-quinolizinilo, tiazolilo, tiadiazolilo, tienilo, triazinilo, triazolil y tetrazolilo.

El término "heterocicloalquilo", como se usa en el presente documento, se refiere a un cicloalquilo, como se define en el presente documento, en el que se reemplazan uno o más de los carbonos del anillo por una porción seleccionada de -O-, -N=, -NR-, -C(O)-, -S-, -S(O)- o -S(O)2-, en la que R es hidrógeno, alquilo C₁-C₄ o un grupo protector de nitrógeno con la condición que el anillo del grupo no contenga dos átomos O o S adyacentes. Un grupo heterocicloalquilo puede estar opcionalmente sustituido. Los ejemplos no limitantes de grupos heterocicloalquilo, como se usa en el presente documento, incluyen morfolino, pirrolidinilo, pirrolidinil-2-ona, piperazinilo, piperidinilo, piperidinilona, 1,4-dioxa-8-aza-spiro[4,5]dec-8-ilo, 2H-pirrolilo, 2-pirrolinilo, 3-pirrolinilo, 1,3-dioxolanilo, 2-imidazolinilo, imidazolidinilo, 2-pirazolinilo, pirazolidinilo, 1,4-dioxanilo, 1,4-ditianilo, tiomorfolinilo, azepanilo, hexahidro-1,4-diazepinilo, tetrahidrofuranilo, dihidrofuranilo, tetrahidrotienilo, tetrahidropiranilo, dihidropiranilo, tetrahidrotiopiranilo, tioxanilo, azetidinilo, oxetanilo, tietanilo, oxepanilo, tiepanilo, 1,2,3,6-tetrahidropiridinilo, 2H-

piranilo, 4H-piranilo, dioxanilo, 1,3-dioxolanilo, ditianilo, ditiolanilo, dihidropiranilo, dihidrotienilo, dihidrofuranilo, imidazolinilo, imidazolidinilo, 3-azabiciclo[3.1.0]hexanilo y 3-azabiciclo[4.1.0]heptanilo.

El término "heteroátomo", como se usa en el presente documento, se refiere a uno o más de oxígeno, azufre, nitrógeno, fósforo o silicio.

5 El término "hidroxilo", como se usa en el presente documento, se refiere al grupo -OH.

El término "hidroxialquilo", como se usa en el presente documento se refiere a un grupo alquilo como se define en el presente documento sustituido con uno o más grupos hidroxilo. Los ejemplos no limitantes de grupos "hidroxialquilo C₁-C₆ de cadena recta o ramificada como se usa en el presente documento incluyen grupos metilo, etilo, propilo, isopropilo, isobutil y n-butilo sustituidos con uno o más grupos hidroxilo.

10 El término "isocianato", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo -N=C=O.

El término "isotiocianato", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo -N=C=S.

El término "mercaptilo", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo (alquil)S-.

La expresión "opcionalmente sustituido", como se usa en el presente documento, significa que el grupo referenciado puede estar o no sustituido con uno o más grupos adicionales de manera individual e independientemente seleccionados a partir de alquilo, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, arilo, heteroarilo, heterocicloalquilo, hidroxilo, alcoxi, mercaptilo, ciano, halo, carbonilo, tiocarbonilo, isocianato, tiocianato, isotiocianato, nitro, perhaloalquilo, perfluoroalquilo, y amino, incluyendo grupos amino mono- y di-sustituidos, y los derivados protegidos de los mismos.

15 Los ejemplos no limitantes de sustituyentes opcionales incluyen, halo, -CN, =O, =N-OH, =N-OR, =N-R, -OR, -C(O)R, -C(O)OR, -OC(O)R, -OC(O)OR, -C(O)NHR, -C(O)NR₂, -OC(O)NHR, -OC(O)NR₂, -SR-, -S(O)R, -S(O)₂R, -NHR, -N(R)₂, -NHC(O)R, -NRC(O)R, -NHC(O)OR, -NRC(O)OR, S(O)₂NHR, -S(O)₂N(R)₂, -NHS(O)₂NR₂, -NRS(O)₂NR₂, -NHS(O)₂R, -NRS(O)₂R, alquilo C₁-C₈, alcoxi C₁-C₈, arilo, heteroarilo, cicloalquilo, heterocicloalquilo, alquilo C₁-C₈ halo-sustituido, y alcoxi C₁-C₈ halo-sustituido, en el que cada R se selecciona independientemente a partir de H, halo, alquilo C₁-C₈, alcoxi C₁-C₈, arilo, heteroarilo, cicloalquilo, heterocicloalquilo, alquilo C₁-C₈ halo-sustituido, y alcoxi C₁-C₈ halo-sustituido. La colocación de un número de estos grupos sustituyentes se hace de acuerdo con las 20 limitaciones de valencia bien entendidas de cada grupo, por ejemplo =O es un sustituyente adecuado para un grupo alquilo pero no para un grupo arilo.

25 El término "profármaco", como se usa en el presente documento, se refiere a un agente que se convierte en el fármaco de origen *in vivo*. Un ejemplo no limitante de un profármaco de los compuestos descritos en la presente es un compuesto descrito en el presente documento administrado como un éster que después se hidroliza 30 metabólicamente a un ácido carboxílico, a la entidad activa, una vez dentro de la célula. Un ejemplo adicional de un profármaco es un péptido corto unido a un grupo ácido en el que el péptido se metaboliza para revelar la porción activa.

35 El término "solvato", como se usa en el presente documento, se refiere a un complejo de estequiométria variable formado por un soluto (a manera de ejemplo, un compuesto de la Fórmula (I), o una sal del mismo, como se describe en el presente documento) y un disolvente. Los ejemplos no limitantes de un disolvente son agua, acetona, metanol, etanol y ácido acético.

40 Por "sujeto vertebrado" se quiere decir cualquier miembro del subfilo cordata, incluyendo, sin limitación, humanos y otros primates, incluyendo primates no humanos tal como chimpancés y otras especies de monos y changos; animales de granja tal como ganado vacuno, ovejas, cerdos, cabras y caballos, mamíferos domésticos tal como perros y gatos; animales de laboratorio incluyendo roedores tal como ratones, ratas cobayos, aves, incluyendo aves domésticas, silvestres y de cacería tal como pollos, pavos y otras aves gallináceas, patos, gansos y similares. El término no denota una edad particular. De esta manera, se propone que se cubran individuos tanto adultos como recién nacidos.

45 Como se usa en el presente documento, "tratamiento" se refiere a cualquiera de (i) la prevención de una condición (por ejemplo, una enfermedad o trastorno) en cuestión (por ejemplo cáncer o una infección patógena, como en una vacuna tradicional), (ii) la reducción o eliminación de síntomas asociados con la condición en cuestión, y (iii) la eliminación sustancial o completa de la condición en cuestión. El tratamiento se puede efectuar de manera profiláctica (antes del arribo de la condición en cuestión) o terapéuticamente (después del arribo de la misma).

50 Las expresiones "cantidad eficaz" o "cantidad farmacéuticamente eficaz" de una suspensión homogénea del presente documento invención se refieren a una cantidad suficiente para potenciar una inmunorespuesta, por ejemplo por al menos 10 %, como se describe en el presente documento. Las expresiones "cantidad eficaz" o "cantidad farmacéuticamente eficaz" de una composición immunogénica del presente documento invención se refieren en el presente documento a una cantidad suficiente de la composición inmunogénica para el tratamiento o diagnosis de una condición de interés. La cantidad exacta requerida variará de sujeto a sujeto, dependiendo de la especie, edad, y condición general del sujeto; la severidad de la condición que se trate; el antígeno particular de interés; en el caso de una respuesta inmunológica, la capacidad del sistema inmunitario del sujeto para sintetizar 55

anticuerpos, por ejemplo, y el grado de protección deseado, y el modo de administración, entre otros factores. Una cantidad "eficaz" apropiada en cualquier caso individual se puede determinar por un experto en la materia. De esta manera, una "cantidad terapéuticamente eficaz" caerá típicamente en un intervalo relativamente amplio que se puede determinar a través de ensayos de rutina.

5 Por "farmacéuticamente aceptable" o "farmacológicamente aceptable" se quiere decir un material que no es biológicamente ni de otro modo indeseable, por ejemplo, el material se puede administrar a un individuo sin provocar ningún efecto biológico indebidamente indeseable o que interactúe de una manera indebidamente perjudicial con cualquiera de los componentes de la composición en la cual está contenido.

10 Por "pH fisiológico" o un "pH en el intervalo fisiológico" se quiere decir un pH en el intervalo de aproximadamente 6,5 a 8,0 inclusive, más típicamente en el intervalo de aproximadamente 7,2 a 7,6 inclusive.

Como se usa en el presente documento, la expresión "composición inyectable", o variantes del mismo, se refieren a composiciones farmacéuticamente aceptables adecuadas para inyección en un sujeto vertebrado, composiciones que son típicamente estériles, libres de pirógenos y poseen valores específicos de pH e isotonicidad adecuados para inyección.

15 Como se usa en el presente documento, el término "partícula" se refiere a una partícula de aproximadamente 10 nm o menos a aproximadamente 150 µm de diámetro, por ejemplo, que varía de 10 nm a 25 nm a 50 nm a 100 nm a 250 nm a 500 nm a 1 µm a 2,5 µm a 5 µm a 10 µm a 25 µm a 50 µm a 100 µm. El término "partícula" como se usa en el presente documento incluye de esta manera "nanopartícula", que se define en el presente documento como una partícula que tiene un diámetro menor de 1000 nm, y "micropartícula", que se define en el presente documento con una partícula que tiene un diámetro que varía de 1 µm a 1000 µm. En algunas modalidades, las partículas poliméricas descritas en el presente documento pueden ser en general esféricas.

20 El término "polipéptido" se refiere a un polímero de residuos de aminoácido y no se limita a una longitud mínima del producto. De esta manera, dentro de la definición se incluyen proteínas, péptidos, oligopéptidos, dímeros, multímeros de longitud completa y similares.

25 Una "especie que contiene polipéptido" es una molécula, al menos una porción de la cual es un polipéptido. Los ejemplos incluyen polipéptidos, proteínas que incluyen glicoproteínas, metaloproteínas y lipoproteínas, antígenos de polisacárido conjugados a proteínas portadores, y así sucesivamente. Las proteínas para el uso en el presente documento incluyen proteínas de longitud completa y fragmentos de las mismas. En ciertas modalidades, se amplían modificaciones a la secuencia nativa, tal como supresiones, adiciones, y sustituciones (en general de naturaleza conservadora).

30 El término "fragmento" como se usa en el presente documento se refiere a una porción físicamente contigua de la estructura primaria de una biomolécula. En el caso de proteínas, un fragmento se puede definir por una porción contigua de la secuencia de aminoácido de esa proteína y puede ser al menos de 3-5 aminoácidos, al menos 6-10 aminoácidos, al menos 11-15 aminoácidos, al menos 16-24 aminoácidos, al menos 25-30 aminoácidos, y al menos 35 30-45 aminoácidos. En el caso del polinucleótido, un fragmento se define por una porción continua de la secuencia de ácido nucleico de ese polinucleótido y puede ser de al menos 9-15 nucleótidos, al menos 15-30 nucleótidos, al menos 31-45 nucleótidos, al menos 46-74 nucleótidos, al menos 75-90 nucleótidos, y al menos 90-130 nucleótidos. En algunas modalidades, los fragmentos de las biomoléculas son fragmentos inmunogénicos.

40 Un "polinucleótido" es un polímero de ácido nucleico. Un polinucleótido puede incluir tan poco como 5, 6, 7 u 8 nucleótidos. Adicionalmente, un "polinucleótido" puede incluir secuencias tanto de doble hebra como de hebra individual y se refiere a, pero no se limita a, ADNc de ARNm viral, procariótico o eucariótico, secuencias de ARN y ADN genómicas de organismos virales (por ejemplo, retrovirus y virus de ARN y ADN), procarióticos o eucarióticos, y secuencias sintéticas de ADN. El término también captura secuencias que incluyen cualquiera de los análogos base conocidos de ADN y ARN. El término incluye además modificaciones, tal como supresiones, adiciones y sustituciones (en general de naturaleza conservadora), o una secuencia nativa, por ejemplo, cuando la molécula de ácido nucleico codifica para una proteína antigénica. Estas modificaciones pueden ser deliberadas, como a través de mutagénesis dirigida al sitio, o pueden ser accidentales, tal como a través de mutaciones del hospedador para producir antígenos.

45 Una "especie que contiene polinucleótido" es una molécula, al menos una porción de la cual es un polinucleótido. Los ejemplos incluyen construcciones de vector de ARN, construcciones de vector de ADN y así sucesivamente.

50 Como se usa en el presente documento el término "sacárido" abarca monosacáridos, olisacáridos y polisacáridos. Una "especie que contiene sacáridos" es una molécula, al menos una porción de la cual es un sacárido. Los ejemplos incluyen antígenos de sacárido, antígenos que comprenden sacáridos conjugados a péptidos portadores, y así sucesivamente.

55 Como se usa en el presente documento el término "aislado" se refiere a una especie química tal como un polinucleótido, un polipéptido y un anticuerpo, etc., que está en un ambiente diferente de aquel en el cual se presenta de forma natural especie química. Una especie química que está aislada en general se purifica de manera

sustancial. Los procedimientos para aislar células son bien conocidos en la técnica por los expertos en la materia.

Una proteína "purificada" es una proteína que se produce (por ejemplo, de manera recombinante o sintéticamente) o se aísla de su hospedador natural, tal que la cantidad de proteína presente en una composición es sustancialmente mayor que la presente en una preparación en bruto. En general, una proteína purificada será al menos aproximadamente 50 % homogénea, de manera más preferente al menos aproximadamente 80 %, aproximadamente 85 %, aproximadamente 90 %, aproximadamente 95 %, aproximadamente 97 %, aproximadamente 98 %, aproximadamente 99 %, o más, homogénea.

Como se usa en el presente documento, una "respuesta inmunológica" o "inmunorespuesta" es el desarrollo en un sujeto de una respuesta inmunitaria humoral y/o celular a la especie inmunogénica.

Las inmunorespuestas incluyen inmunorespuestas innatas y adaptables. Las inmunorespuestas innatas son respuestas de acción rápida que proporcionan una primera línea de defensa para el sistema inmunitario. En contraste, la inmunidad adaptable usa selección y expansión clonal de las células inmunitarias que tienen genes de receptor somáticamente rearrreglados (por ejemplo, receptores de células T y B) que reconocen antígenos de un patógeno o trastorno dado (por ejemplo, un tumor), proporcionando de este modo especificidad y memoria inmunológica. Las respuestas inmunitarias innatas, entre sus muchos efectos, condicen a una rápida ráfaga de citocinas inflamatorias y activación de células que presentan el antígeno (APC, por sus siglas en inglés) tal como macrófagos y células dendríticas. Para distinguir los patógenos de los auto-componentes, el sistema inmunitario innato usa una variedad de receptores relativamente invariables que detectan signaturas de patógenos, conocidas como patrones moleculares asociados a patógenos, o PAMP. La adición de componentes microbianos a vacunas experimentales se conduce que conduce al desarrollo de inmunorespuestas adaptables fuertes y durables. Se ha reportado que el mecanismo detrás de esta potenciación de las respuestas inmunitarias comprende receptores de reconocimiento de patrones (PRR, por sus siglas en inglés), que se expresan de manera diferencial en una variedad de células inmunitarias, que incluyen neutrófilos, macrófagos, células dendríticas, células aniquiladoras naturales, células B y algunas células no inmunitarias tal como células epiteliales y endoteliales. El acoplamiento de los PRR conduce a la activación de algunas de estas células y a su secreción de citocinas y quimiocinas, así como a la maduración y migración de otras células. En tanto, esto crea un ambiente inflamatorio que conduce al establecimiento de la respuesta inmunitaria adaptable. Los PRR incluyen receptores no fagocíticos, tal como receptores tipo Toll (TLR) y proteínas de dominio de oligomerización de unión a nucleótidos (NOD, por sus siglas en inglés) y receptores que inducen fagocitosis, tal como receptores de eliminadores, receptores de manosa y receptores de β-glucano. Los TLR reportados (junto con ejemplos de algunos ligandos reportados, que se puede usar como una especie inmunogénica en varias modalidades de la invención) incluyen lo siguiente: TLR1 (lipoproteínas bacterianas de *Micobacteria*, *Neisseria*), TLR2 (partículas de levadura de zímosan, peptidoglicano, lipoproteínas, glicolípidos, lipopolisacárido), TLR3 (ARN viral de doble hebra, poli:IC), TLR4 (lipopolisacáridos bacterianos, taxol producto vegetal), TLR5 (flagelinas bacterianas), TLR6 (partículas de levadura zímosan, ácido lipotocoico, lipopéptidos de micoplasma), TLR7 (ARN de hebra individual, imiquimod, resimiquimod, y otros compuestos sintéticos tal como loxoribina y bropirimina), TLR8 (ARN de hebra individual, resimiquimod) y TLR9 (oligonucleótidos de CpG), entre otros. Las células dendríticas se reconocen como algunos de los más importantes tipos de células para iniciar la cebadura de células T auxiliares (T_H) CD4⁺ y sin tratamiento previo y para inducir la diferenciación de células T CD8⁺ en células aniquiladoras. Se ha reportado que la señalización de TLR juega un papel importante en la determinación de la calidad de estas respuestas de células T auxiliares, por ejemplo, con la naturaleza de la señal de TLR que determina el tipo específico de respuesta de T_H que se observa (por ejemplo, respuesta de T_{H1} contra T_{H2}). Una combinación de inmunidad por anticuerpo (humoral) y celular se produce como parte de una respuesta tipo T_{H1} , en tanto que una respuesta tipo T_{H2} es predominantemente una respuesta de anticuerpos. Se ha documentado que varios ligandos de TLR tal como CpG ADN (TLR9) e imidazoquinolinas (TLR7, TLR8) estimulan la producción de citocinas de células inmunitarias in vitro. Las imidazoquinolinas son los primeros compuestos tipo fármaco, pequeños que muestran que son agonistas de TLR. Para información adicional, ver por ejemplo, A. Pashine, N. M. Valiante y J. B. Ulmer, *Nature Medicine*, 11, S63-S68 (2005), K. S. Rosenthal y D. H. Zimmerman, *Clinical y Vaccine Immunologí*, 13(8), 821-829 (2006), y referencias citadas en el presente documento.

Para propósitos del presente documento invención, una respuesta inmunitaria humoral se refiere a una respuesta inmunitaria mediada por moléculas de anticuerpo, en tanto que una respuesta inmunitaria celular es una mediada por linfocitos T y/u otras células sanguíneas blancas. Un aspecto importante de la inmunidad celular comprende una respuesta específica del antígeno por células T citolíticas (CTL, por sus siglas en inglés). Las CTL tienen especificidad para antígenos peptídicos que se presentan en asociación con proteínas codificadas por el complejo principal de histocompatibilidad (MHC, por sus siglas en inglés) y se expresan en las superficies de células. Las CTL ayudan a inducir y a promover la destrucción intracelular de microbios intracelulares, o la lisis de células infectadas con otros microbios. Otro aspecto de la inmunidad celular comprende una respuesta específica al antígeno por células T auxiliares. Las células T auxiliares actúan para ayudar a la estimulación de la función, y se enfocan en la actividad de, células efectoras no específicas contra células que presentan antígenos peptídicos en asociación con moléculas de MHC en su superficie. Una "respuesta inmunitaria celular" también se refiere a la producción de citocinas, quimiocinas y otras moléculas producidas por células T activadas y/u otras células sanguíneas blancas, incluyendo aquellas derivadas de células T CD4⁺ y CD8⁺.

Una composición tal como una composición inmunogénica o una vacuna que produce una respuesta inmunitaria celular de esta manera puede servir para sensibilizar a un sujeto vertebrado por la presentación del antígeno en asociación con moléculas de MHC en la superficie celular. La respuesta inmunitaria mediada por células se dirige en, o cerca de, células que presentan el antígeno en su superficie. Además, se pueden generar linfocitos T específicos del antígeno para permitir la protección futura de un hospedador inmunizado. La capacidad de un antígeno particular o una composición para estimular una respuesta inmunológica mediada por células se puede determinar por varios ensayos conocidos en la técnica, tal como por ensayos de linfoproliferación (activación de linfocitos), ensayos de células citotóxicas CTL, al valor linfocitos T específicos para el antígeno en un sujeto sensibilizado, o por medición de la producción de citocinas por células T en respuesta a la reestimulación con el antígeno. Estos ensayos son bien conocidos en la técnica. Ver, por ejemplo, Erickson y col. (1993) *J. Immunol.* 151:4189-4199; Doe y col. (1994) *Eur. J. Immunol.* 24:2369-2376. De esta manera, una respuesta inmunitaria como se usa en el presente documento puede ser una que estimule la producción de CTL y/o la producción o activación de células T auxiliares. El antígeno de interés también puede producir una respuesta inmunitaria mediada por anticuerpos. Por lo tanto, una respuesta inmunológica puede incluir, por ejemplo, uno o más de los siguientes efectos entre otros: la producción de anticuerpos por, por ejemplo, células B; y/o la activación de células T supresoras y/o células T y/o dirigidas específicamente a un antígeno o antígenos presentes en la composición o vacuna de interés. Estas respuestas pueden servir, por ejemplo, para neutralizar la infectividad, y/o para mediar el complemento del antígeno, o citotoxicidad celular dependiente de anticuerpo (ADCC, por sus siglas en inglés) para proporcionar protección a un hospedador inmunizado. Estas respuestas se pueden determinar usando inmunoensayos estándar y ensayos de neutralización estándares, bien conocidos en la técnica.

Un "antígeno" se refiere a una molécula que contiene uno o más epítopos (ya sea lineales, conformacionales o ambos) que producen una respuesta inmunológica. El término se puede usar de manera indistinta con el término "inmunógeno". Un "epítopo" es aquella porción de una especie dada (por ejemplo, una molécula antigénica o complejo antigénico) que determina su especificidad inmunológica. Un epítopo está dentro del alcance del presente documento definición de antígeno. Comúnmente, un epítopo es un polipéptido o polisacárido en antígeno que se presenta de forma natural. En ejemplos artificiales, puede ser una sustancia de bajo peso molecular tal como un derivado de ácido arsanílico. Normalmente, un epítopo de célula B incluirá al menos aproximadamente 5 aminoácidos pero puede ser tan pequeño como de 3-4 aminoácidos. Un epítopo de célula T tal como un epítopo de CTL, incluirá típicamente al menos aproximadamente 7-9 aminoácidos, y un epítopo de célula T auxiliar incluirá al menos aproximadamente 12-20 aminoácidos. El término "antígeno" denota tanto antígenos de subunidad, es decir, antígenos que están separados y discretos de un organismo entero o célula entera con la cual se asocia la naturaleza al antígeno, tal como bacterias, virus, hongos, parásitos u otros microbios o células tumorales, aniquiladas, atenuadas o inactivadas. Los anticuerpos tal como los anticuerpos anti-idiotípicos, o fragmentos de los mismos, y mimotopos de péptidos sintéticos, que pueden imitar un antígeno o determinante antigénico, también se capturan bajo la definición de antígeno como se usa en el presente documento. De manera similar, un oligonucleótido o polinucleótido que exprese un antígeno o determinante antigénico *in vivo*, tal como en terapia génica o aplicaciones de inmunización de ADN, también se incluye en la definición de antígeno del presente documento.

De esta manera, para los propósitos del presente documento invención, se pueden derivar antígenos de cualquiera de los varios virus, bacterias, parásitos, hongos y otros microbios, así como de cualquiera de los varios antígenos tumorales. Los antígenos también incluyen ácidos nucleicos que expresan un antígeno o determinante antigénico *in vivo*. Como pocos ejemplos específicos, los antígenos pueden ser proteínas de o derivadas de la familia de virus de herpes, incluyendo proteínas derivadas de virus de herpes simplex (HSV) tipos 1 y 2, tal como glicoproteínas gB, gD y gH de HSV-1 y HSV-2; proteínas derivadas de citomegalovirus (CMV) incluyendo CMV gB y gH; proteínas derivadas de la familia de virus de hepatitis, incluyendo virus de hepatitis A (HAV), virus de hepatitis B (HBV), virus de hepatitis C (HCV), el virus de hepatitis delta (HDV), virus de hepatitis E (HEV) y virus de hepatitis G (HGV); proteínas, incluyendo proteínas de envoltura gp120, gp160, gp41, p24gag y p55gag derivadas de VIH, incluyendo miembros de los varios subtipos genéticos de aislados de VIH VIH_{IIIB}, VIH_{SF2}, VIH_{LAV}, VIH_{LAI}, VIH_{MN}, VIH-1_{CM235}, VIH-1_{us4}, VIH-2; proteínas derivadas de virus de inmunodeficiencia simiesca (SIV); y proteínas derivadas de *Neisseria meningitidis* (A, B, C, Y), *Hemophilus influenza* tipo B (HIB), *Helicobacter pilori*; albúmina y ovalbúmina de suero humano, entre muchos otros.

Una composición inmunogénica que contiene un antígeno de acuerdo con la presente invención presenta "inmunogenicidad mejorada" cuando posee una mayor capacidad para producir una respuesta inmunitaria que la respuesta inmunitaria producida por una cantidad equivalente del antígeno administrado usando un diferente sistema de distribución o administración, por ejemplo, en el que el antígeno se administra como una proteína soluble. De esta manera, una composición inmunogénica o de vacuna puede presentar "inmunogenicidad mejorada" debido a que el antígeno es más fuertemente inmunogénico o debido a que es necesaria una menor dosis o menores dosis del antígeno para lograr una respuesta inmunitaria en el sujeto al cual se administra el antígeno. Esta inmunogenicidad mejorada se puede determinar al administrar la composición de antígeno y controles de antígeno a animales y al comparar los títulos de anticuerpo y/o la inmunidad mediada por células contra los dos usando ensayos normales descritos en el presente documento.

El término "adyuvante" o "adyuvante inmunológico" se refiere a cualquier sustancia que ayude o modifique la acción de un antígeno en el sistema inmunitario. Los adyuvantes pueden potenciar la inmunidad humoral y/o celular.

El término "excipiente" se refiere a cualquier sustancia esencialmente auxiliar que puede estar presente en la forma de dosis terminada. Por ejemplo, el término "excipiente" incluye vehículos, aglutinantes, desintegrantes, agentes de relleno (diluyentes), agentes de suspensión/dispersión, y así sucesivamente.

Como se usa en el presente documento, la frase "construcción de vector" se refiere en general a cualquier montaje que es capaz de dirigir la expresión de una secuencia de ácido nucleico o gen de interés. O una "construcción de vector de ADN" se refiere a una molécula de ADN que es capaz de dirigir la expresión de una secuencia de ácido nucleico o gen de interés. Un tipo específico de construcción de vector de ADN es un plásmido que es una molécula de ADN episomal circular capaz de replicación autónoma entre una célula hospedadora. Típicamente, un plásmido es una asa de ADN de doble hebra, circular en la cual se pueden ligar segmentos de ADN adicionales. El pCMV es un plásmido específico que es bien conocido en la técnica. Otras construcciones de vector de ADN se conocen, que se basan en virus de ARN. Estas construcciones de vector de ADN comprenden típicamente un promotor que funciona en una célula eucariótica, 5' de una secuencia de ADNc para la cual el producto de transcripción es una construcción de vector de ARN (por ejemplo, un replicón de vector de ARN de alfavirus), y una región de 3'-terminación. Otros ejemplos de construcciones de vector incluyen construcciones de vector de ARN (por ejemplo, construcciones de vector de alfavirus) y similares. Como se usa en el presente documento, "construcción de vector de ARN", "replicón de vector de ARN" y "replicón" se refieren a una molécula de ARN que es capaz de dirigir su propia amplificación o auto-replicación *in vivo*, típicamente dentro de una célula objetivo. La construcción de vector de ARN se usa directamente, sin el requisito de la introducción de ADN en una célula y el transporte al núcleo en el que se presentara la transcripción. Al usar el vector de ARN para la distribución directa en el citoplasma de la célula hospedadora, se presentan de manera eficiente la replicación autónoma y la traducción de la secuencia heteróloga de ácido nucleico.

El término "homogéneo" se refiere a una mezcla o combinación de componentes que en general es de estructura uniforme y composición uniforme con poca variabilidad a todo lo largo de la mezcla. Diferentes porciones de una mezcla homogénea exhiben esencialmente las mismas propiedades físicas y químicas sustancialmente en cualquier lugar a todo lo largo de la mezcla. La estequiometría en una mezcla homogénea también es sustancialmente constante a todo lo largo de la mezcla.

El término "suspensión" se refiere a partículas que están dispersadas en un líquido.

La expresión "suspensión acuosa" se refiere a partículas que están suspendidas en un líquido de fase acuosa (continua) que contiene agua.

Una suspensión homogénea "estable" es una suspensión en la cual el tamaño de las partículas suspendidas no cambia de forma sustancial (por ejemplo, cambio por no más de aproximadamente 10 %) con el paso del tiempo.

3. Suspensión homogénea de compuestos inmunopotenciadores

En un aspecto, la invención es una suspensión homogénea que comprende (a) un compuesto de Benzonafiridina de la Fórmula I o Fórmula II, sal farmacéuticamente aceptable, solvato farmacéuticamente aceptable, derivado de N-óxido, derivado protegido, isómero individual o mezcla de isómeros del mismo; (b) un agente tensioactivo, y (c) un agente de suspensión. La suspensión homogénea contiene una fase acuosa, que puede ser agua o cualquier otra fase acuosa adecuada, tal como soluciones acuosas amortiguadas.

De manera preferente, la suspensión homogénea es estable durante al menos aproximadamente 2 semanas, al menos aproximadamente 4 semanas, al menos aproximadamente 2 meses, al menos aproximadamente 3 meses, al menos aproximadamente 4 meses, al menos aproximadamente 5 meses, al menos aproximadamente 6 meses, al menos aproximadamente 7 meses, al menos aproximadamente 8 meses, al menos aproximadamente 9 meses, al menos aproximadamente 10 meses, al menos aproximadamente 11 meses, al menos aproximadamente 1 año o más tiempo, a 4 °C.

Las suspensiones homogéneas tienen de manera preferente una distribución de tamaños en las que el 50 % de las partículas (D50) son más pequeñas de aproximadamente 10 µM, más pequeñas de aproximadamente 9 µM, más pequeñas de aproximadamente 8 µM, más pequeñas de aproximadamente 7 µM, más pequeñas de aproximadamente 6 µM, más pequeñas de aproximadamente 5 µM, más pequeñas de aproximadamente 4 µM, más pequeñas de aproximadamente 3 µM, más pequeñas de aproximadamente 2 µM, más pequeñas de aproximadamente 1 µM, o más pequeñas de aproximadamente 0,9 µM. de manera alternativa o adicionalmente, las suspensiones homogéneas pueden tener una distribución de tamaño en la que el 90 % de las partículas (D90) son más pequeñas de aproximadamente 10 µM, más pequeñas de aproximadamente 9 µM, más pequeñas de aproximadamente 8 µM, más pequeñas de aproximadamente 7 µM, más pequeñas de aproximadamente 6 µM, más pequeñas de aproximadamente 5 µM, más pequeñas de aproximadamente 4 µM, más pequeñas de aproximadamente 3 µM, o más pequeñas de aproximadamente 2 µM.

La suspensión homogénea puede contener cualquier agente tensioactivo adecuado, tal como un agente tensioactivo aniónico, un agente tensioactivo catiónico, agentes tensioactivos zwiteriónicos (amfotéricos), o un agente tensioactivo no iónico. Los agentes tensioactivos aniónicos de ejemplo incluyen, por ejemplo, perfluorooctanoato (PFOA o PFO), perfluorooctanosulfonato (PFOS), sales de alquil-sulfato tal como dodecil-sulfato de sodio (SDS) o

lauril-sulfato de amonio, lauret-sulfato de sodio (también conocido como lauril-éter-sulfato de sodio, SLES), benceno-sulfonato de alquilo, y sales de ácidos grasos. Los agentes tensioactivos catiónicos de ejemplo incluyen, por ejemplo, sales del alquiltrimetilamonio tal como bromuro de cetil-trimetilamonio (CTAB, o bromuro de hexadecil-trimetil-amonio), cloruro de cetilpiridinio (CPC), cebo-amina polietoxilada (POEA), cloruro de benzalconio (BAC), cloruro de benzetonio (BZT). Los agentes tensioactivos zwiteriónicos de ejemplo (amfotéricos) incluyen, por ejemplo, dodecil-betaína, cocamidopropil-betaína, y coco-anfo-glicinato. Los agentes tensioactivos no iónicos de ejemplo incluyen, por ejemplo, alquil-polí(óxido de etileno), alquilfenol-polí(óxido de etileno), copolímeros de polí(óxido de etileno) y polí(óxido de propileno) (comercialmente llamados Poloxámeros o Poloxaminas), Aail-poliglucosidos (por ejemplo, octil-glucosido o decil-maltosido), alcoholes grasos (por ejemplo, alcohol cetílico o alcohol oleílico), cocamida-MEA, cocamida-DEA, Pluronic F-68, y Polisorbatos, tal como Tween 20 (Polisorbato 20), Tween 80 (polisorbato 80), y óxido de dodecil-dimetilamina. Las suspensiones homogéneas pueden contener dos o más agentes tensioactivos en cualquier combinación, si se desea.

Las suspensiones homogéneas pueden contener de aproximadamente el 0,1 % a aproximadamente el 10 % de agente tensioactivo (v/v o p/v), de aproximadamente el 0,1 % a aproximadamente el 5 % de agente tensioactivo, del 0,1 % a aproximadamente el 4 % de agente tensioactivo, del 0,1 % a aproximadamente el 3 % de agente tensioactivo, del 0,1 % a aproximadamente el 2 % de agente tensioactivo, del 0,1 % a aproximadamente el 1 % de agente tensioactivo, del 0,1 % a aproximadamente el 0,5 % de agente tensioactivo, aproximadamente el 0,1 % de agente tensioactivo, aproximadamente el 0,2 % de agente tensioactivo, aproximadamente el 0,3 % de agente tensioactivo, aproximadamente el 0,4 % de agente tensioactivo, aproximadamente el 0,5 % de agente tensioactivo, aproximadamente el 0,6 % de agente tensioactivo, aproximadamente el 0,7 % de agente tensioactivo, aproximadamente el 0,8 % de agente tensioactivo, aproximadamente el 0,9 % de agente tensioactivo o aproximadamente el 1 % de agente tensioactivo.

Un agente tensioactivo preferido para el uso en las suspensiones homogéneas descritas en el presente documento es Tween 80 (polisorbato 80). De manera preferente, la suspensión homogénea contiene de aproximadamente el 0,1 % a aproximadamente el 5 %, del 0,1 % a aproximadamente el 4 %, del 0,1 % a aproximadamente el 3 %, del 0,1 % a aproximadamente el 2 %, del 0,1 % a aproximadamente el 1 %, del 0,1 % a aproximadamente el 0,5 %, aproximadamente el 0,1 %, aproximadamente el 0,2 %, aproximadamente el 0,3 %, aproximadamente el 0,4 %, aproximadamente el 0,5 %, aproximadamente el 0,6 %, aproximadamente el 0,7 %, aproximadamente el 0,8 %, aproximadamente el 0,9 % o aproximadamente el 1 % de Tween 80.

La suspensión homogénea puede contener cualquier agente de suspensión adecuado, tal como un agente de suspensión que incremente la viscosidad. Una variedad de estos agentes son bien conocidos en la técnica que incluyen, por ejemplo, derivados de celulosa (tal como carboximetil-celulosa, hidroxipropil-celulosa, hidroxipropilmel-celulosa), goma de xantano, alginato de sodio, carraganina, tragacanto, almidón cocido (por ejemplo, almidón de patata), goma de guar, sílice ahumada, citronelol, geraniol, dihidro-mercinol, linalool, nerol, rodinal, alfaterpineol, beta-citronelol, rodinol, citronela- nitrilo, carvona, fencona, mentol, e isoborneol. Las suspensiones homogéneas pueden contener dos o más agentes de suspensión en cualquier combinación, si se desea.

Las suspensiones homogéneas pueden contener de aproximadamente el 0,1 % a aproximadamente el 10 % de agente de suspensión (v/v o p/v), de aproximadamente el 0,1 % a aproximadamente el 5 % de agente de suspensión, del 0,1 % a aproximadamente el 4 % de agente de suspensión, del 0,1 % a aproximadamente el 3 % de agente de suspensión, del 0,1 % a aproximadamente el 2 % de agente de suspensión, del 0,1 % a aproximadamente el 1 % de agente de suspensión, del 0,1 % a aproximadamente el 0,5 % de agente de suspensión, aproximadamente el 0,1 % de agente de suspensión, aproximadamente el 0,2 % de agente de suspensión, aproximadamente el 0,3 % de agente de suspensión, aproximadamente el 0,4 % de agente de suspensión, aproximadamente el 0,5 % de agente de suspensión, aproximadamente el 0,6 % de agente de suspensión, aproximadamente el 0,7 % de agente de suspensión, aproximadamente el 0,8 % de agente de suspensión, aproximadamente el 0,9 % de agente de suspensión o aproximadamente el 1 % de agente de suspensión.

Un agente de suspensión preferido para el uso en las suspensiones homogéneas descritas en el presente documento es carboximetil-celulosa (CMC). De manera preferente, la suspensión homogénea contiene de aproximadamente el 0,1 % a aproximadamente el 5 %, del 0,1 % a aproximadamente el 4 %, del 0,1 % a aproximadamente el 3 %, del 0,1 % a aproximadamente el 2 %, del 0,1 % a aproximadamente el 1 %, del 0,1 % a aproximadamente el 0,5 %, aproximadamente el 0,1 %, aproximadamente el 0,2 %, aproximadamente el 0,3 %, aproximadamente el 0,4 %, aproximadamente el 0,5 %, aproximadamente el 0,6 %, aproximadamente el 0,7 %, aproximadamente el 0,8 %, aproximadamente el 0,9 % o aproximadamente el 1 % de carboximetil celulosa (CMC).

Las suspensiones homogéneas también contienen un compuesto de Benzoaftiridina de la Fórmula I o Fórmula II, sal farmacéuticamente aceptable, solvato farmacéuticamente aceptable, derivado de N-óxido, derivado protegido, isómero individual o mezcla de isómeros de los mismos. Las suspensiones homogéneas pueden contener compuesto de Benzoaftiridina a una concentración de aproximadamente 0,1 mg/ml a aproximadamente 50 mg/ml, de aproximadamente 0,1 mg/ml a aproximadamente 40 mg/ml, de aproximadamente 0,1 mg/ml a aproximadamente 30 mg/ml, de aproximadamente 0,1 mg/ml a aproximadamente 20 mg/ml, de aproximadamente 0,1 mg/ml a

aproximadamente 10 mg/ml, de aproximadamente 0,1 mg/ml a aproximadamente 5 mg/ml, de aproximadamente 0,5 mg/ml, aproximadamente 1,0 mg/ml, aproximadamente 1,5 mg/ml, aproximadamente 2 mg/ml, aproximadamente 2,5 mg/ml, aproximadamente 3 mg/ml, aproximadamente 3,5 mg/ml, aproximadamente 4 mg/ml, aproximadamente 4,5 mg/ml, aproximadamente 5 mg/ml, aproximadamente 5,5 mg/ml, aproximadamente 6 mg/ml, aproximadamente 6,5 mg/ml, aproximadamente 7 mg/ml, aproximadamente 7,5 mg/ml, aproximadamente 8 mg/ml, aproximadamente 8,5 mg/ml, aproximadamente 9 mg/ml, aproximadamente 9,5 mg/ml, aproximadamente 10 mg/ml, aproximadamente 15 mg/ml, o aproximadamente 20 mg/ml.

En modalidades preferidas, las suspensiones homogéneas contienen un compuesto de Benzoaftiridina seleccionado a partir de 2-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenil)propan-2-ol; 2-(4-metoxi-2-metilfenetil)-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina; 2-(2,4-dimetilfenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-5-amina; 4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilbenzoato de etilo; 2-(4-(dimetilamino)fenetil)-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina, y 2-(4-metoxifenetil)-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina.

En otras modalidades preferidas, las suspensiones homogéneas contienen un compuesto de Benzoaftiridina seleccionado a partir de 2-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenil)propan-2-ol; 2-(4-metoxi-2-metilfenetil)-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina; 2-(2,4-dimetilfenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-5-amina; 4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilbenzoato de etilo; 2-(4-(dimetilamino)fenetil)-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina, 2-(4-metoxifenetil)-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina, y 2-(2-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)-etoxi)etanol.

En modalidades particularmente preferidas, la formulación homogénea comprende 2-(2,4-dimetilfenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-5-amina.

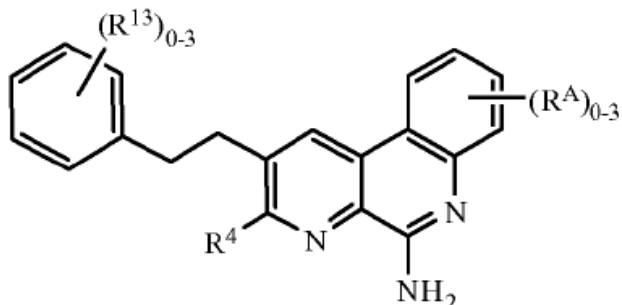
En otras modalidades particularmente preferidas, la formulación homogénea comprende 2-(2,4-dimetilfenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-5-amina, 2-(4-metoxi-2-metilfenetil)-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina, o 2-(2-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)-etoxi)etanol.

En ciertas modalidades, la formulación homogénea comprende (a) un compuesto de Benzoaftiridina de la Fórmula I o Fórmula II, sal farmacéuticamente aceptable, solvato farmacéuticamente aceptable, derivado de N-óxido, derivado protegido, isómero individual o mezcla de isómeros del mismo; (b) del 0,1 % a aproximadamente el 5 % de Tween 80, y (c) del 0,1 % a aproximadamente el 10 % de carboximetil celulosa, y es estable. En ciertos ejemplos de estas modalidades, la formulación homogénea tiene un D₅₀ de aproximadamente 1 y opcionalmente un D₉₀ de aproximadamente 2. De manera preferente, las formulaciones homogéneas son estables durante al menos aproximadamente un mes. Por ejemplo, las formulaciones homogéneas pueden ser estables durante al menos aproximadamente un mes, al menos aproximadamente dos meses, al menos aproximadamente tres meses, al menos aproximadamente cuatro meses, al menos aproximadamente cinco meses, al menos aproximadamente seis meses, al menos aproximadamente siete meses, al menos aproximadamente ocho meses, al menos aproximadamente nueve meses, al menos aproximadamente diez meses, al menos aproximadamente once meses, o al menos aproximadamente doce meses en algunas modalidades.

Compuestos de Benzoaftiridina

Los compuestos de Benzoaftiridina adecuados para el uso en la invención incluye los compuestos de la Fórmula (I) o Formula (II), sal farmacéuticamente aceptables, solvato farmacéuticamente aceptables (por ejemplo hidratos), los derivado de N-óxidos, derivados de profármaco, derivados protegidos, isómero individuales y mezcla de isómeros de los mismos.

En ciertas modalidades de las composiciones inmunogénicas proporcionadas en el presente documento, el compuesto de benzoaftiridina es un compuesto que tiene la estructura de la Fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo:

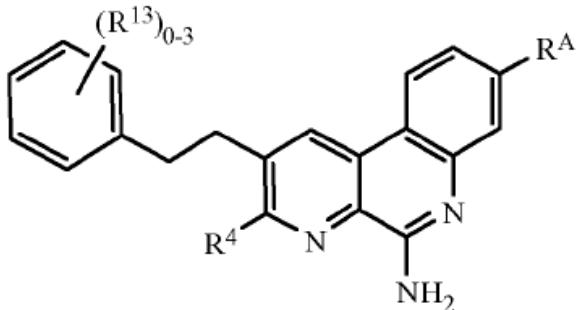


Fórmula (I)

en la que:

	R^4	se selecciona a partir de H, halógeno, -C(O)OR ⁷ , -C(O)R ⁷ , -C(O)N(R ¹¹ R ¹²), -N(R ¹¹ R ¹²), -N(R ⁹) ₂ , -NHN(R ⁹) ₂ , -SR ⁷ , -(CH ₂) _n OR ⁷ , -(CH ₂) _n R ⁷ , -LR ⁸ , -LR ¹⁰ , -OLR ⁸ , -OLR ¹⁰ , alquilo C ₁ -C ₆ , heteroalquilo C ₁ -C ₆ , haloalquilo C ₁ -C ₆ , alqueno C ₂ -C ₈ , alquino C ₂ -C ₈ , alcoxi C ₁ -C ₆ , haloalcoxi C ₁ -C ₆ , arilo, heteroarilo, cicloalquilo C ₃ -C ₈ , y heterocicloalquilo C ₃ -C ₈ , en el que los grupos alquilo C ₁ -C ₆ , heteroalquilo C ₁ -C ₆ , haloalquilo C ₁ -C ₆ , alqueno C ₂ -C ₈ , alquino C ₂ -C ₈ , alcoxi C ₁ -C ₆ , haloalcoxi C ₁ -C ₆ , arilo, heteroarilo, cicloalquilo C ₃ -C ₈ , y heterocicloalquilo C ₃ -C ₈ de R ⁴ están cada uno opcionalmente sustituidos con 1 a 3 sustituyentes independientemente seleccionados a partir de halógeno, -CN, -NO ₂ , -R ⁷ , -OR ⁸ , -C(O)R ⁸ , -OC(O)R ⁸ , -C(O)OR ⁸ , -N(R ⁹) ₂ , -P(O)(OR ⁸) ₂ , -OP(O)(OR ⁸) ₂ , -P(O)(OR ¹⁰) ₂ , -OP(O)(OR ¹⁰) ₂ , -C(O)N(R ⁹) ₂ , -S(O) ₂ R ⁸ , -S(O)R ⁸ , -S(O) ₂ N(R ⁹) ₂ y -NR ⁹ S(O)R ⁸ ,
5		cada L
10		se selecciona independientemente a partir de un enlace, -(O(CH ₂) _m) _t , alquilo C ₁ -C ₆ , alquenileno C ₂ -C ₆ y alquinileno C ₂ -C ₆ , en el que el alquilo C ₁ -C ₆ , alquenileno C ₂ -C ₆ y alquinileno C ₂ -C ₆ de L están cada uno opcionalmente sustituidos con 1 a 4 sustituyentes independientemente seleccionados a partir de halógeno, -R ⁸ , -OR ⁸ , -N(R ⁹) ₂ , -P(O)(OR ⁸) ₂ , -OP(O)(OR ⁸) ₂ , -P(O)(OR ¹⁰) ₂ , y -OP(O)(OR ¹⁰) ₂ ;
15	R^7	se selecciona a partir de H, alquilo C ₁ -C ₆ , arilo, heteroarilo, cicloalquilo C ₃ -C ₈ , heteroalquilo C ₁ -C ₆ , haloalquilo C ₁ -C ₆ , alqueno C ₂ -C ₈ , alquino C ₂ -C ₈ , alcoxi C ₁ -C ₆ , haloalcoxi C ₁ -C ₆ , y heterocicloalquilo C ₃ -C ₈ , en el que los grupos alquilo C ₁ -C ₆ , arilo, heteroarilo, cicloalquilo C ₃ -C ₈ , heteroalquilo C ₁ -C ₆ , haloalquilo C ₁ -C ₆ , alqueno C ₂ -C ₈ , alquino C ₂ -C ₈ , alcoxi C ₁ -C ₆ , haloalcoxi C ₁ -C ₆ , y heterocicloalquilo C ₃ -C ₈ de R ⁷ están cada uno opcionalmente sustituidos con 1 a 3 grupos R ¹³ ,
20	cada R ⁸	se selecciona independientemente a partir de H, -CH(R ¹⁰) ₂ , alquilo C ₁ -C ₈ , alqueno C ₂ -C ₈ , alquino C ₂ -C ₈ , haloalquilo C ₁ -C ₆ , alcoxi C ₁ -C ₆ , heteroalquilo C ₁ -C ₆ , cicloalquilo C ₃ -C ₈ , heterocicloalquilo C ₂ -C ₈ , hidroxialquilo C ₁ -C ₆ y haloalcoxi C ₁ -C ₆ , en el que los grupos alquilo C ₁ -C ₈ , alqueno C ₂ -C ₈ , alquino C ₂ -C ₈ , heteroalquilo C ₁ -C ₆ , haloalquilo C ₁ -C ₆ , alcoxi C ₁ -C ₆ , cicloalquilo C ₃ -C ₈ , heterocicloalquilo C ₂ -C ₈ , hidroxialquilo C ₁ -C ₆ y haloalcoxi C ₁ -C ₆ de R ⁸ están cada uno opcionalmente sustituido con 1 a 3 sustituyentes independientemente seleccionados a partir de -CN, R ¹¹ , -OR ¹¹ , -SR ¹¹ , -C(O)R ¹¹ , -OC(O)R ¹¹ , -C(O)N(R ⁹) ₂ , -C(O)OR ¹¹ , -NR ⁹ C(O)R ¹¹ , -NR ⁹ R ¹⁰ , -NR ¹¹ R ¹² , -N(R ⁹) ₂ , -OR ⁹ , -OR ¹⁰ , -C(O)NR ¹¹ R ¹² , -C(O)NR ¹¹ OH, -S(O) ₂ R ¹¹ , -S(O)R ¹¹ , -S(O) ₂ NR ¹¹ R ¹² , -NR ¹¹ S(O) ₂ R ¹¹ , -P(O)(OR ¹¹) ₂ , y -OP(O)(OR ¹¹) ₂ ;
25	cada R ⁹	se selecciona independientemente a partir de H, -C(O)R ⁸ , -C(O)OR ⁸ , -C(O)R ¹⁰ , -C(O)OR ¹⁰ , -S(O) ₂ R ¹⁰ , -C ₁ -C ₆ alquilo, C ₁ -C ₆ heteroalquilo y C ₃ -C ₆ cicloalquilo, o cada R ⁹ es independientemente un alquilo C ₁ -C ₆ que conjuntamente con N se unen para formar un heterocicloalquilo C ₃ -C ₈ , en el que el anillo de heterocicloalquilo C ₃ -C ₈ contiene opcionalmente un heteroátomo adicional seleccionado de N, O y S, y en el que los grupos C ₁ -C ₆ alquilo, C ₁ -C ₆ heteroalquilo, C ₃ -C ₆ cicloalquilo, o heterocicloalquilo C ₃ -C ₈ de R ⁹ están cada uno opcionalmente sustituidos con 1 a 3 sustituyentes independientemente seleccionados a partir de -CN, R ¹¹ , -OR ¹¹ , -SR ¹¹ , -C(O)R ¹¹ , -OC(O)R ¹¹ , -C(O)OR ¹¹ , -NR ¹¹ R ¹² , -C(O)NR ¹¹ R ¹² , -C(O)NR ¹¹ OH, -S(O) ₂ R ¹¹ , -S(O)R ¹¹ , -S(O) ₂ NR ¹¹ R ¹² , -NR ¹¹ S(O) ₂ R ¹¹ , -P(O)(OR ¹¹) ₂ , y -OP(O)(OR ¹¹) ₂ ;
30	cada R ¹⁰	se selecciona independientemente a partir de arilo, cicloalquilo C ₃ -C ₈ , heterocicloalquilo C ₃ -C ₈ y heteroarilo, en el que los grupos arilo, cicloalquilo C ₃ -C ₈ , heterocicloalquilo C ₃ -C ₈ y heteroarilo están opcionalmente sustituidos con 1 a 3 sustituyentes seleccionado a partir de halógeno, -R ⁸ , -OR ⁸ , -LR ⁹ , -LOR ⁹ , -N(R ⁹) ₂ , -NR ⁹ C(O)R ⁸ , -NR ⁹ CO ₂ R ⁸ , -CO ₂ R ⁸ , -C(O)R ⁸ y -C(O)N(R ⁹) ₂ ;
35	R^{11} y R^{12}	se seleccionan independientemente a partir de H, alquilo C ₁ -C ₆ , heteroalquilo C ₁ -C ₆ , haloalquilo C ₁ -C ₆ , arilo, heteroarilo, cicloalquilo C ₃ -C ₈ , y heterocicloalquilo C ₃ -C ₈ , en el que los grupos alquilo C ₁ -C ₆ , heteroalquilo C ₁ -C ₆ , haloalquilo C ₁ -C ₆ , arilo, heteroarilo, cicloalquilo C ₃ -C ₈ , y heterocicloalquilo C ₃ -C ₈ de R ¹¹ y R ¹² están cada uno opcionalmente sustituidos con 1 a 3 sustituyentes independientemente seleccionados de halógeno, -CN, R ⁸ , -OR ⁸ , -C(O)R ⁸ , -C(O)OR ⁸ , -N(R ⁹) ₂ , -NR ⁹ C(O)R ⁸ , -NR ⁹ CO ₂ R ⁸ , -CO ₂ R ⁸ , -C(O)R ⁸ y -C(O)N(R ⁹) ₂ ;
40		R^{11} y R^{12} son cada uno independientemente alquilo C ₁ -C ₆ y tomados conjuntamente con el átomo N al cual están unidos forman un anillo de heterocicloalquilo C ₃ -C ₈ opcionalmente sustituido que contiene opcionalmente un heteroátomo adicional seleccionado de N, O y S;
45	cada R ¹³	o R ¹¹ y R ¹² son cada uno independientemente alquilo C ₁ -C ₆ y tomados conjuntamente con el átomo N al cual están unidos forman un anillo de heterocicloalquilo C ₃ -C ₈ opcionalmente sustituido que contiene opcionalmente un heteroátomo adicional seleccionado de N, O y S;
50	cada R ¹⁴	se selecciona independientemente a partir de halógeno, -CN, -LR ⁹ , -LOR ⁹ , -OLR ⁹ , -LR ¹⁰ , -LOR ¹⁰ , -OLR ¹⁰ , -LR ⁸ , -LOR ⁸ , -LSR ⁸ , -LC(O)R ⁸ , -OLC(O)R ⁸ , -LC(O)OR ⁸ , -LC(O)R ¹⁰ , -LOC(O)OR ⁸ , -LC(O)NR ⁹ R ¹¹ , -LC(O)NR ⁹ R ⁸ , -LN(R ⁹) ₂ , -LNR ⁹ R ⁸ , -LNR ⁹ R ¹⁰ , -LC(O)N(R ⁹) ₂ , -LS(O) ₂ R ⁸ , -LS(O)R ⁸ , -LC(O)NR ⁸ OH, -LNR ⁹ C(O)R ⁸ , -LNR ⁹ C(O)R ⁸ , -LS(O) ₂ N(R ⁹) ₂ , -OLS(O) ₂ N(R ⁹) ₂ , -LNR ⁹ S(O) ₂ R ⁸ , -LC(O)NR ⁹ LN(R ⁹) ₂ , -LP(O)(OR ⁸) ₂ , -LOP(O)(OR ⁸) ₂ , -LP(O)(OR ¹⁰) ₂ y -OLP(O)(OR ¹⁰) ₂ ;
55	cada R ^A	se selecciona independientemente a partir de -R ⁸ , -R ⁷ , -OR ⁷ , -OR ⁸ , -R ¹⁰ , -OR ¹⁰ , -SR ⁸ , -NO ₂ , -CN, -N(R ⁹) ₂ , -NR ⁹ C(O)R ⁸ , -NR ⁹ C(S)R ⁸ , -NR ⁹ C(O)N(R ⁹) ₂ , -NR ⁹ C(S)N(R ⁹) ₂ , -NR ⁹ CO ₂ R ⁸ , -NR ⁹ NR ⁹ C(O)R ⁸ , -NR ⁹ NR ⁹ C(O)N(R ⁹) ₂ , -NR ⁹ NR ⁹ CO ₂ R ⁸ , -C(O)C(O)R ⁸ , -C(O)CH ₂ C(O)R ⁸ , -CO ₂ R ⁸ , -(CH ₂) _n CO ₂ R ⁸ , -C(O)R ⁸ , -C(S)R ⁸ , -C(O)N(R ⁹) ₂ , -C(S)N(R ⁹) ₂ , -OC(O)N(R ⁹) ₂ , -OC(O)R ⁸ , -C(O)N(OR ⁸)R ⁸ , -C(NOR ⁸)R ⁸ , -S(O) ₂ R ⁸ , -S(O) ₂ N(R ⁹) ₂ , -S(O)R ⁸ , -NR ⁹ SO ₂ R ⁸ , -NR ⁹ SO ₂ N(R ⁹) ₂ , -NR ⁹ SO ₂ R ⁸ , -P(O)(OR ⁸) ₂ , -OP(O)(OR ⁸) ₂ , -P(O)(OR ¹⁰) ₂ , -OP(O)(OR ¹⁰) ₂ , -N(O)R ⁸ , -CH=CHCO ₂ R ⁸ , -C(=NH)-N(R ⁹) ₂ , y -(CH ₂) _n NHC(O)R ⁸ ; o dos sustituyentes R ^A adyacentes en el anillo al cual están unidos forman un anillo de 5-6 miembros que contienen hasta dos heteroátomos como miembros de anillo;
60	n	es, independientemente cada vez que aparece, 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 u 8;
	cada m	se selecciona independientemente a partir de 1, 2, 3, 4, 5 y 6, y
	t	es 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 u 8.

En otras modalidades, el compuesto de benazonaftiridina es un compuesto que tiene la estructura de la Fórmula (II), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo:



Fórmula (II)

5 en la que:

- R⁴ se selecciona a partir de H, halógeno, -C(O)OR⁷, -C(O)R⁷, -C(O)N(R¹¹R¹²), -N(R¹¹R¹²), -N(R⁹)₂, -NH(N(R⁹)₂), -SR⁷, -(CH₂)_nOR⁷, -(CH₂)_nR⁷, -LR⁸, -LR¹⁰, -OLR⁸, -OLR¹⁰, alquilo C₁-C₆, heteroalquilo C₁-C₆, haloalquilo C₁-C₆, alqueno C₂-C₈, alquino C₂-C₈, alcoxi C₁-C₆, haloalcoxi C₁-C₆, arilo, heteroarilo, cicloalquilo C₃-C₈, y heterocicloalquilo C₃-C₈, en el que los grupos alquilo C₁-C₆, heteroalquilo C₁-C₆, haloalquilo C₁-C₆, alqueno C₂-C₈, alquino C₂-C₈, alcoxi C₁-C₆, haloalcoxi C₁-C₆, arilo, heteroarilo, cicloalquilo C₃-C₈, y heterocicloalquilo C₃-C₈ de R⁴ están cada uno opcionalmente sustituidos con 1 a 3 sustituyentes independientemente seleccionados a partir de halógeno, -CN, -NO₂, -R⁷, -OR⁸, -C(O)R⁸, -OC(O)R⁸, -C(O)OR⁸, -N(R⁹)₂, -P(O)(OR⁸)₂, -OP(O)(OR⁸)₂, -P(O)(OR¹⁰)₂, -OP(O)(OR¹⁰)₂, -C(O)N(R⁹)₂, -S(O)₂R⁸, -S(O)R⁸, -S(O)₂N(R⁹)₂, y -NR⁹S(O)₂R⁸;
- 10 cada L se selecciona independientemente a partir de un enlace, -(O(CH₂)_m)_l, alquilo C₁-C₆, alquenileno C₂-C₆ y alquinileno C₂-C₆, en el que el alquilo C₁-C₆, alquenileno C₂-C₆ y alquinileno C₂-C₆ de L están cada uno opcionalmente sustituido con 1 a 4 sustituyentes independientemente seleccionados a partir de halógeno, -R⁸, -OR⁸, -N(R⁹)₂, -P(O)(OR⁸)₂, -OP(O)(OR⁸)₂, -P(O)(OR¹⁰)₂, y -OP(O)(OR¹⁰)₂;
- 15 R⁷ se selecciona a partir de H, alquilo C₁-C₆, arilo, heteroarilo, cicloalquilo C₃-C₈, heteroalquilo C₁-C₆, haloalquilo C₁-C₆, alqueno C₂-C₈, alquino C₂-C₈, alcoxi C₁-C₆, haloalcoxi C₁-C₆, y heterocicloalquilo C₃-C₈, en el que los grupos alquilo C₁-C₆, arilo, heteroarilo, cicloalquilo C₃-C₈, heteroalquilo C₁-C₆, haloalquilo C₁-C₆, alqueno C₂-C₈, alquino C₂-C₈, alcoxi C₁-C₆, haloalcoxi C₁-C₆, y heterocicloalquilo C₃-C₈ de R⁷ están cada uno opcionalmente sustituidos con 1 a 3 grupos R¹³;
- 20 cada R⁸ se selecciona independientemente a partir de H, -CH(R¹⁰)₂, alquilo C₁-C₈, alqueno C₂-C₈, alquino C₂-C₈, haloalquilo C₁-C₆, alcoxi C₁-C₆, heteroalquilo C₁-C₆, cicloalquilo C₃-C₈, heterocicloalquilo C₂-C₈, hidroxialquilo C₁-C₆ y haloalcoxi C₁-C₆, en el que los grupos alquilo C₁-C₈, alqueno C₂-C₈, alquino C₂-C₈, heteroalquilo C₁-C₆, haloalquilo C₁-C₆, alcoxi C₁-C₆, cicloalquilo C₃-C₈, heterocicloalquilo C₂-C₈, hidroxialquilo C₁-C₆ y haloalcoxi C₁-C₆ de R⁸ están cada uno opcionalmente sustituido con 1 a 3 sustituyentes independientemente seleccionados a partir de -CN, R¹¹, -OR¹¹, -SR¹¹, -C(O)R¹¹, -OC(O)R¹¹, -C(O)N(R⁹)₂, -C(O)OR¹¹, -NR⁹C(O)R¹¹, -NR⁹R¹⁰, -NR¹¹R¹², -N(R⁹)₂, -OR⁹, -OR¹⁰, -C(O)NR¹¹R¹², -C(O)NR¹¹OH, -S(O)₂R¹¹, -S(O)R¹¹, -S(O)₂NR¹¹R¹², -NR¹¹S(O)₂R¹¹, -P(O)(OR¹¹)₂, y -OP(O)(OR¹¹)₂;
- 25 cada R⁹ se selecciona independientemente a partir de H, -C(O)R⁸, -C(O)OR⁸, -C(O)R¹⁰, -C(O)OR¹⁰, -S(O)₂R¹⁰, -C₁-C₆ alquilo, C₁-C₆ heteroalquilo y C₃-C₆ cicloalquilo, o cada R⁹ es independientemente alquilo C₁-C₆ que conjuntamente con N se unen para formar un heterocicloalquilo C₃-C₈, en el que el anillo de heterocicloalquilo C₃-C₈ contienen opcionalmente un heteroátomo adicional seleccionado de N, O y S, y en el que los grupos C₁-C₆ alquilo, C₁-C₆ heteroalquilo, C₃-C₆ cicloalquilo, o heterocicloalquilo C₃-C₈ de R⁹ están cada uno opcionalmente sustituido con 1 a 3 sustituyentes independientemente seleccionados a partir de -CN, R¹¹, -OR¹¹, -SR¹¹, -C(O)R¹¹, -OC(O)R¹¹, -C(O)OR¹¹, -NR¹¹R¹², -C(O)NR¹¹R¹², -C(O)NR¹¹OH, -S(O)₂R¹¹, -S(O)R¹¹, -S(O)₂NR¹¹R¹², -NR¹¹S(O)₂R¹¹, -P(O)(OR¹¹)₂, y -OP(O)(OR¹¹)₂;
- 30 cada R¹⁰ se selecciona independientemente a partir de arilo, cicloalquilo C₃-C₈, heterocicloalquilo C₃-C₈ y heteroarilo, en el que los grupos arilo, cicloalquilo C₃-C₈, heterocicloalquilo C₃-C₈ y heteroarilo están opcionalmente sustituidos con 1 a 3 sustituyentes seleccionado a partir de halógeno, -R⁸, -OR⁸, -LR⁹, -LOR⁹, -N(R⁹)₂, -NR⁹C(O)R⁸, -NR⁹CO₂R⁸, -CO₂R⁸, -C(O)R⁸ y -C(O)N(R⁹)₂;
- 35 R¹¹ y R¹² se seleccionan independientemente a partir de H, alquilo C₁-C₆, heteroalquilo C₁-C₆, haloalquilo C₁-C₆, arilo, heteroarilo, cicloalquilo C₃-C₈, y heterocicloalquilo C₃-C₈, en el que los grupos alquilo C₁-C₆, heteroalquilo C₁-C₆, haloalquilo C₁-C₆, arilo, heteroarilo, cicloalquilo C₃-C₈, y heterocicloalquilo C₃-C₈ de R¹¹ y R¹² están cada uno opcionalmente sustituidos con 1 a 3 sustituyentes independientemente seleccionados a partir de halógeno, -CN, R⁸, -OR⁸, -C(O)R⁸, -OC(O)R⁸, -C(O)OR⁸, -N(R⁹)₂, -NR⁸C(O)R⁸, -C(O)N(R⁹)₂, heterocicloalquilo C₃-C₈, -S(O)₂R⁸, -S(O)₂N(R⁹)₂, -NR⁹S(O)₂R⁸, haloalquilo C₁-C₆ y haloalcoxi C₁-C₆;
- 40 50 o R¹¹ y R¹² son cada independientemente alquilo C₁-C₆ y tomados conjuntamente con el átomo N al cual se unen

- forman un anillo de heterocicloalquilo C₃-C₈ opcionalmente sustituido que contiene opcionalmente un heteroátomo adicional seleccionado de N, O y S;
- cada R¹³ se selecciona independientemente a partir de halógeno, -CN, -LR⁹, -LOR⁹, -OLR⁹, -LR¹⁰, -LOR¹⁰, -OLR¹⁰, -LR⁸, -LOR⁸, -OLR⁸, -LSR⁸, -LSR¹⁰, -LC(O)R⁸, -OLC(O)R⁸, -LC(O)OR⁸, -LC(O)R¹⁰, -LOC(O)OR⁸, -LC(O)NR⁹R¹¹, -LC(O)NR⁹R⁸, -LN(R⁹)₂, -LNR⁹R⁸, -LNR⁹R¹⁰, -LC(O)N(R⁹)₂, -LS(O)₂R⁸, -LS(O)R⁸, -LC(O)NR⁸OH, -LNR⁹C(O)R⁸, -LNR⁹C(O)OR⁸, -LS(O)₂N(R⁹)₂, -OLS(O)₂N(R⁹)₂, -LNR⁹S(O)₂R⁸, -LC(O)NR⁹LN(R⁹)₂, -LP(O)(OR⁸)₂, -LP(O)(OR¹⁰)₂ y -OLP(O)(OR¹⁰)₂;
- R^A se selecciona a partir de -R⁸, -R⁷, -OR⁷, -OR⁸, -R¹⁰, -OR¹⁰, -SR⁸, -NO₂, -CN, -N(R⁹)₂, -NR⁹C(O)R⁸, -NR⁹C(S)R⁸, -NR⁹C(O)N(R⁹)₂, -NR⁹C(S)N(R⁹)₂, -NR⁹CO₂R⁸, -NR⁹NR⁹C(O)R⁸, -NR⁹NR⁹C(O)N(R⁹)₂, -NR⁹NR⁹CO₂R⁸, -C(O)C(O)R⁸, -C(O)CH₂C(O)R⁸, -CO₂R⁸, -(CH₂)_nCO₂R⁸, -C(O)R⁸, -C(S)R⁸, -C(O)N(R⁹)₂, -C(S)N(R⁹)₂, -OC(O)N(R⁹)₂, -OC(O)R⁸, -C(O)N(OR⁸)₂, -C(NOR⁸)R⁸, -S(O)₂R⁸, -S(O)₃R⁸, -SO₂N(R⁹)₂, -S(O)R⁸, -NR⁹SO₂N(R⁹)₂, -NR⁹SO₂R⁸, -P(O)(OR⁸)₂, -OP(O)(OR⁸)₂, -P(O)(OR¹⁰)₂, -OP(O)(OR¹⁰)₂, -N(O⁸)R⁸, -CH=CHCO₂R⁸, -C(=NH)-N(R⁹)₂, y -(CH₂)_nNHC(O)R⁸;
- n es, independientemente cada vez que aparece, 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 u 8;
- cada m se selecciona independientemente a partir de 1, 2, 3, 4, 5 y 6, y t es 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 u 8.
- En ciertas modalidades de los compuestos de benazonaftiridina de la Fórmula I o Fórmula II, cada R¹³ se selecciona a partir de -LR⁹, -LOR⁹, -OLR⁹, -LR¹⁰, -LOR¹⁰, -OLR¹⁰, -LR⁸, -LOR⁸, -OLR⁸, -LSR⁸, -LSR¹⁰, -LC(O)R⁸, -OLC(O)R⁸, -LC(O)OR⁸, -LC(O)R¹⁰, -LOC(O)OR⁸, -LC(O)NR⁹R¹¹, -LC(O)NR⁹R⁸, -LN(R⁹)₂, -LNR⁹R⁸, -LNR⁹R¹⁰, -LC(O)N(R⁹)₂, -LS(O)₂R⁸, -LS(O)R⁸, -LC(O)NR⁹OH, -LNR⁹C(O)R⁸, -LNR⁹C(O)OR⁸, -LS(O)₂N(R⁹)₂, -OLS(O)₂N(R⁹)₂, -LNR⁹S(O)₂R⁸, -LC(O)NR⁹LN(R⁹)₂, -LP(O)(OR⁸)₂, -LOP(O)(OR¹⁰)₂ y -OLP(O)(OR¹⁰)₂, y cada R^A se selecciona independientemente a partir de -R⁷, -OR⁷, -R⁸, -OR⁸, -R¹⁰, -OR¹⁰, -SR⁸, -N(R⁹)₂, -S(O)₂R⁸, -S(O)₃R⁸, -SO₂N(R⁹)₂, -S(O)R⁸, -NR⁹SO₂N(R⁹)₂, -CH=CHCO₂R⁸, (CH₂)_nCO₂R⁸, -NR⁹SO₂R⁸, -P(O)(OR⁸)₂, -OP(O)(OR⁸)₂, -P(O)(OR¹⁰)₂, -OP(O)(OR¹⁰)₂.
- En ciertas modalidades de los compuestos de benazonaftiridina de la Fórmula I o Fórmula II, cada L se selecciona independientemente a partir de un -(O(CH₂)_m)_t, y alquilo C₁-C₆, en el que el alquilo C₁-C₆ de L está opcionalmente sustituido con 1 a 4 sustituyentes independientemente seleccionados a partir de halógeno, -R⁸, -OR⁸, -N(R⁹)₂, -P(O)(OR⁸)₂, -OP(O)(OR⁸)₂, -P(O)(OR¹⁰)₂, y -OP(O)(OR¹⁰)₂.
- En ciertas modalidades de los compuestos de benazonaftiridina de la Fórmula I o Fórmula II, R^A es H o alquilo C₁-C₆.
- En ciertas modalidades de los compuestos de benazonaftiridina de la Fórmula I o Fórmula II, R^A es H, -CH₃ o -CH₂CH₃; y cada R¹³ se selecciona independientemente a partir de H, -CH₃, -CH₂CH₃, -CF₃, -CH₂OH, -OCH₃, -COOCH₃, -COOCH₂CH₃, F, Cl, Br, -CH₂OCH₃, CH₂OCH₂CH₃, -N(CH₃)₂, -(O(CH₂)₂)₄OH, -O(CH₂)₂₋₄OH, -O(CH₂)₂₋₄(PO₃H₂), -O(CH₂)₂₋₄COOH, -O(CH₂)₂₋₄-CH(CH₃)₂ y C₂-C₆ alquilo sustituido con 1-3 sustituyentes seleccionados a partir de -OH, -CH₃, -COOH, -COOCH₃, ciclopropilo, -O(CH₂)₂₋₄COOH, -O(CH₂)₂₋₄(PO₃H₂) y -COOCH₂CH₃.
- En ciertas modalidades de los compuestos de benazonaftiridina de la Fórmula I o Fórmula II, cada R⁸ se selecciona independientemente a partir de H, -CH(R¹⁰)₂, alquilo C₁-C₈, alqueno C₂-C₈, alquino C₂-C₈, haloalquilo C₁-C₆, alcoxi C₁-C₆, heteroalquilo C₁-C₆, cicloalquilo C₃-C₈, heterocicloalquilo C₂-C₈, C₁-C₆hidroxialquil y haloalcoxi C₁-C₆, en el que los grupos alquilo C₁-C₈, alqueno C₂-C₈, alquino C₂-C₈, heteroalquilo C₁-C₆, haloalquilo C₁-C₆, alcoxi C₁-C₆, cicloalquilo C₃-C₈, heterocicloalquilo C₂-C₈, hidroxialquilo C₁-C₆ y haloalcoxi C₁-C₆ de R⁸ están cada uno opcionalmente sustituidos con 1 a 3 sustituyentes independientemente seleccionados a partir de -CN, R¹¹, -OR¹¹, -SR¹¹, -C(O)R¹¹, -OC(O)R¹¹, -C(O)N(R⁹)₂, -C(O)OR¹¹, -NR⁹C(O)R¹¹, -NR⁹R¹⁰, -NR¹¹R¹², -N(R⁹)₂, -OR⁹, -OR¹⁰, -C(O)NR¹¹R¹², -C(O)NR¹¹OH, -S(O)₂R¹¹, -S(O)₂NR¹¹R¹², -NR¹¹S(O)₂R¹¹, -P(O)(OR¹¹)₂ y -OP(O)(OR¹¹)₂.
- En ciertas modalidades de los compuestos de benazonaftiridina de la Fórmula I o Fórmula II, R⁸ es H o alquilo C₁-C₆.
- En ciertas modalidades de los compuestos de benazonaftiridina de la Fórmula I o Fórmula II, R⁹ es H o alquilo C₁-C₆.
- En ciertas modalidades de los compuestos de benazonaftiridina de la Fórmula I o Fórmula II, R^A es H o -CH₃.
- En ciertas modalidades de los compuestos de benazonaftiridina de la Fórmula I o Fórmula II, R⁴ es H.
- En ciertas modalidades, los compuestos de benazonaftiridina se seleccionan a partir de: 2-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metifenil)propan-2-ol; 2-(4-metoxi-2-metifenil)-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina; 2-(2,4-dimetifenil)benzo[f][1,7]naftiridin-5-amina; 4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilbenzoato de etilo; 2-(4-(dimetilamino)fenetil)-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina y 2-(4-metoxifenil)-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina.
- Los compuestos de Benazonaftiridina de la Fórmula (I) o Fórmula (II) se pueden preparar usando procedimientos adecuados, tales como los procedimientos desvelados en WO 2009/111337. La persona experta en la materia se dirige al documento WO 2009/111337 en páginas 71 a 83 que desvelan los Esquemas I - XIX de reacción, que son esquemas de ejemplo adecuados para producir los compuestos de la Fórmula (I) o Fórmula (II).

Los compuestos de la Fórmula (I) o Fórmula (II), sales farmacéuticamente aceptables, solvatos, N-óxidos, profármacos e isómeros de los mismos, y composiciones farmacéuticas proporcionadas en el presente documento también incluyen todas las variaciones isotópicas adecuadas de estos compuestos, y sales, solvatos, N-óxidos, profármacos e isómeros farmacéuticamente aceptables de los mismos, y composiciones farmacéuticas. Una variación isotópica de un compuesto proporcionado en el presente documento o una sal farmacéuticamente del mismo se define como uno en el cual se remplaza al menos un átomo por un átomo que tiene el mismo número atómico pero una masa atómica diferente de la masa atómica usualmente encontrada en la naturaleza. Los ejemplos de isotopos que se pueden incorporar en los compuestos proporcionados en el presente documento y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos incluyen, pero no se limitan a, isotopos de hidrógeno, carbono, nitrógeno y oxígeno tal como ^2H , ^3H , ^{11}C , ^{13}C , ^{14}C , ^{15}N , ^{17}O , ^{18}O , ^{35}S , ^{18}F , ^{36}Cl y ^{123}I . Ciertas variaciones isotópicas de los compuestos proporcionados en el presente documento y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, por ejemplo, aquellos en los cuales se incorporan un isotopo radioactivo tal como ^3H o ^{14}C , son útiles en estudios de distribución en tejido de fármaco y/o substrato. En ejemplos particulares, se pueden usar isotopos de ^3H y ^{14}C por su facilidad de preparación y detectabilidad. En otros ejemplos, la sustitución con isotopo tal como ^2H puede dar ciertas ventajas terapéuticas que resultan de mayor estabilidad metabólica, tal como vida media *in vivo* incrementada o requerimientos reducidos de dosis. Las variaciones isotópicas de los compuestos y sales, solvatos, N-óxidos, profármacos e isómeros farmacéuticamente aceptables de los mismos, y composiciones proporcionadas en el presente documento se preparan por procedimientos convencionales usando variaciones isotópicas apropiadas de reactivos adecuados.

20 4. Inmunopotenciación y composiciones inmunogénicas

La suspensión homogénea de los SMIP, es decir, compuestos de la Fórmula I o Fórmula II, descritos en el presente documento, se puede usar como inmunopotenciadores. Los compuestos de la Fórmula I o Fórmula II contienen un núcleo hidrófobo, y las suspensiones homogéneas proporcionan la ventaja de permitir que se administre una cantidad efectiva de SMIP a un sujeto en necesidad de lo mismo.

25 En un aspecto, la invención es un procedimiento para la potenciación de una respuesta inmunitaria, que comprende administrar una cantidad efectiva de una suspensión homogénea de la invención a un sujeto en necesidad de lo mismo. La respuesta inmunitaria puede ser una respuesta inmunitaria que se presenta de forma natural, o una respuesta inmunitaria inducida, por ejemplo, inducida por inmunización. Cuando la suspensión homogénea se administra para potenciar una respuesta inmunitaria inducida, se prefiere que se administre sustancialmente al mismo tiempo como el agente que induce la respuesta inmunitaria. Por ejemplo, se puede administrar concurrentemente una cantidad efectiva de una suspensión homogénea con una composición inmunogénica o vacuna o administrar dentro de un período de aproximadamente 1 día antes o después de que se administre la vacuna o composición inmunogénica.

35 En otro aspecto, la invención proporciona una composición inmunogénica que comprende un antígeno y una suspensión homogénea de un SMIP, es decir, compuestos de la Fórmula I o Fórmula II. En ciertas modalidades, la composición inmunogénica comprende además otro agente inmunoestimulador, tal como un adyuvante. La composición inmunogénica puede contener cualquier antígeno y/o adyuvante deseado. Por ejemplo, la composición inmunogénica puede contener un antígeno bacteriano, antígeno de vesícula bacteriana, antígeno viral, antígeno fúngico, antígeno de protozoario, antígeno vegetal, antígeno de STD, antígeno respiratorio, antígeno de vacuna pediátrica, antígeno adecuado para individuos de edad avanzada o inmunocomprometidos, antígeno adecuado para el uso en vacunas de adolescente, o antígeno tumoral, como se describe en el presente documento. La composición inmunogénica también puede contener un adyuvante (por ejemplo, alumbré, MF59) como se describe en el presente documento.

45 En ciertas modalidades, la composición inmunogénica contiene una cantidad de composición homogénea que es suficiente para mejorar una respuesta inmunitaria al antígeno. Estas composiciones inmunogénicas se pueden usar para producir vacunas. En ciertas modalidades, las vacunas son profilácticas (es decir, para prevenir la infección), en tanto que en otras modalidades, estas vacunas son terapéuticas (es decir, para tratar infección).

50 El efecto inmunoestimulador referido en el presente documento frecuentemente es una mejora del efecto de la composición inmunogénica. En ciertas modalidades, la mejora de la eficiencia de la composición inmunogénica es al menos aproximadamente el 10 %, al menos aproximadamente el 20 %, al menos aproximadamente el 30 %, al menos aproximadamente el 40 %, al menos aproximadamente el 50 %, al menos aproximadamente el 60 %, al menos aproximadamente el 70 %, al menos aproximadamente el 80 %, al menos aproximadamente el 90 % o al menos aproximadamente el 100 %, con relación al efecto de la composición inmunogénica en la ausencia de la suspensión homogénea de SMIP.

55 En ciertas modalidades, la mejora del efecto de la composición inmunogénica se mide por la efectividad incrementada de la composición inmunogénica para lograr sus efectos protectores. En ciertas modalidades, esta efectividad incrementada se mide como una probabilidad disminuida que un sujeto que recibe la composición inmunogénica experimentará una condición para la cual se considera protectora la composición inmunogénica, o una disminución en la duración o severidad de los efectos de esta condición. En otras modalidades, esta efectividad incrementada se mide como un incremento en un título de un anticuerpo producido por la composición inmunogénica

en un sujeto tratado.

Las composiciones inmunogénicas pueden comprender adicionalmente un portador farmacéuticamente aceptable, estos portadores incluyen, pero no se limitan a, proteínas, polisacáridos, ácidos polilácticos, ácidos poliglicólicos, aminoácidos poliméricos, copolímeros de aminoácido, sacarosa, trehalosa, lactosa, agregados de lípidos (tal como gotas de aceite o liposomas), y partículas inactivas de virus. Las composiciones inmunogénicas también contienen típicamente diluyentes, tal como agua, solución salina y glicerol, y contienen opcionalmente otros excipientes tal como agentes humectantes o emulsionadores, y sustancias amortiguadoras del pH.

(a) Adyuvantes

En ciertas modalidades, las composiciones inmunogénicas incluyen opcionalmente uno o más agentes inmunoreguladores. En ciertas modalidades, uno o más de los agentes inmunoreguladores incluyen uno o más adyuvantes. Estos adyuvantes incluyen, pero no se limitan a, un adyuvante de TH1 y/o un adyuvante de TH2, analizado adicionalmente más adelante. En ciertas modalidades, los adyuvantes usados en las composiciones inmunogénicas proporcionadas en el presente documento incluyen, pero no se limitan a:

1. Composiciones que contienen Minerales;
2. Emulsiones de Aceite;
3. Formulaciones de Saponina;
4. Virosomas y Partículas tipo virus;
5. Derivados Bacterianos y Microbianos;
6. Inmunomoduladores Humanos;
7. Bioadhesivos y Mucoadhesivos;
8. Micropartículas;
9. Liposomas;
10. Formulaciones de Polioxietileno-Éter y Polioxietileno-Éster;
11. Polifosfazeno (PCPP);
12. Péptidos de Muramilo, y
13. Compuestos de Imidazoquinolona.

Las composiciones que contienen minerales adecuadas para el uso, adyuvantes incluyen, pero no se limitan a, sales minerales, tal como sales de aluminio y sales de calcio. Sólo a manera de ejemplo, estas sales minerales incluyen, hidróxidos (por ejemplo, oxihidróxidos, incluyendo hidróxidos de aluminio y oxihidróxidos de aluminio), fosfatos (por ejemplo, hidroxifosfatos y ortofosfatos, incluyendo fosfatos de aluminio, hidroxifosfatos de aluminio, ortofosfatos de aluminio y fosfato de calcio), sulfatos (por ejemplo sulfato de aluminio), o mezclas de diferentes compuestos minerales. Estas sales minerales están en cualquier forma adecuada, tal como a manera de ejemplo únicamente, formas de gel, cristalina y amorfa. En ciertas modalidades, estas composiciones que contienen minerales se formulan como una partícula de la sal metálica. En ciertas modalidades, los componentes de las composiciones inmunogénicas descritas en el presente documento se adsorben a estas sales minerales. En ciertas modalidades, se usa un adyuvante de hidróxido de aluminio y/o fosfato de aluminio en las composiciones inmunogénicas descritas en el presente documento. En otras modalidades, los antígenos usados en una composición inmunogénica descrita en el presente documento se adsorbe a estos adyuvantes de hidróxido de aluminio y/o fosfato de aluminio. En ciertas modalidades, un adyuvante de fosfato de calcio se usa en las composiciones inmunogénicas descritas en el presente documento. En otras modalidades, los antígenos usados en una composición inmunogénica descrita en el presente documento se adsorben a los adyuvantes de fosfato de calcio.

En ciertas modalidades, se usan fosfatos de aluminio como un adyuvante en las composiciones inmunogénicas descritas en el presente documento. En otras modalidades, se usan fosfatos de aluminio como un adyuvante en las composiciones inmunogénicas descritas en el presente documento, en el que estas composiciones incluyen un antígeno de sacárido de *H. influenzae*. En ciertas modalidades, el adyuvante es hidroxifosfato de aluminio amorfo con una relación molar de PO₄/Al entre 0,84 y 0,92, incluido a 0,6 mg de Al³⁺/ml. En otras modalidades, la adsorción con una baja dosis de fosfato de aluminio se usa, a manera únicamente de ejemplo, entre 50 y 100 µg de Al³⁺ por conjugado por dosis. Cuando hay más de un conjugado en una composición, no se necesitan adsorber todos los conjugados.

Las emulsiones de aceite adecuadas para el uso, adyuvantes, incluyen, pero no se limitan a, emulsiones de escualeno-agua (tal como MF59 (5 % de Escualeno, 0,5 % de Tween 80, y 0,5 % de Span 85, formuladas en partículas de submicras usando un microfluidizador, adyuvante completo de Freund (CFA, por sus siglas en inglés) y adyuvante incompleto de Freund (IFA, por sus siglas en inglés).

Las saponinas son un grupo heterólogo de esterol-glicósidos y triterpenoide-glicósidos que se encuentran en la corteza, hojas, tallos, raíces y aún flores de una amplia variedad de especies vegetales. Las formulaciones de saponina adecuadas para el uso como adyuvantes incluyen, pero no se limitan a, saponinas de la corteza del árbol de molina *Quillaia saponaria* Molina tree, de *Smilax ornata* (sarsaparilla), *Gypsophilla paniculata* (velo de novia), y *Saponaria officinalis* (raíz de jabón). En ciertas modalidades, las formulaciones de saponina adecuadas para el uso como adyuvantes incluyen, pero no se limitan a, formulaciones purificadas que incluyen, pero no se limitan a, QS7,

QS17, QS18, QS21, QH-A, QH-B y QH-C. QS21 se comercializa como STIMULOM®. En otras modalidades, las formulaciones de saponina incluyen esteroles, colesteroles y formulaciones de lípido, tal como partículas únicas formadas por las combinaciones de saponina y colesteroles llamadas complejos de inmunoestimuladores (ISCOM, por sus siglas en inglés). En ciertas modalidades, los ISCOM también incluyen un fosfolípido tal como fosfatidiletanolamina o fosfatidilcolina. Se puede usar cualquier saponina conocida en los ISCOM. En ciertas modalidades, el ISCOM incluye uno o más de Quila, QHA y QHC. En otras modalidades, los ISCOM están opcionalmente desprovistos de un detergente adicional.

Los virosomas y partículas tipo virus (VLP, por sus siglas en inglés) adecuados para el uso como adyuvantes incluyen, pero no se limita a, una o más proteínas de un virus opcionalmente combinados o formulaciones con un fosfolípido. Estas virosomas y VLP en general no son patógenos, no son replicantes y en general no contienen nada del genoma viral nativo. En ciertas modalidades, las proteínas virales se producen de manera recombinante, en tanto que en otras modalidades, las proteínas virales se aislan de los virus enteros.

Las proteínas virales adecuadas para el uso en los virosomas o VLP incluyen, pero no se limitan a, proteínas derivadas de virus de influenza (tal como HA o NA), virus de Hepatitis B (tal como proteínas de núcleo o capsida), virus de Hepatitis E, virus de sarampión, virus de Sindbis, Rotavirus, virus de Enfermedad de Pies y Boca, Retrovirus, virus de Norwalk, virus de Papiloma humano, HIV, ARN-fagos, Q \square -fago (tal como proteínas de cubiertas), GA-fago, fr-fago, fago AP205, y Ty (tal como proteína p1 de retrotransposon Ty).

Los derivados bacterianos y microbianos adecuados para el uso como adyuvantes incluyen, pero no se limitan a, derivados microbianos o bacterianos tal como derivados no tóxicos del lipopolisacárido enterobacteriano (LPS, por sus siglas en inglés), derivado de lípido A, oligonucleótidos inmunoestimuladores y toxinas ADP-ribosilantes y derivados destoxificados los mismos. Estos derivados no tóxicos de LPS incluyen, pero no se limitan a, monofosforil-lípido A (MPL) y MPL 3-O-desacilado (3dMPL). El 3dMPL es una mezcla de monofosforil-lípido A 3-des-O-acilado con 4, 5 o 6 cadenas aciladas. Otros derivados de LPS no tóxicos incluyen imitadores de monofosforil-lípido A, tal como derivados de aminoalquil-glucosaminida-fosfato (por ejemplo RC-529). Los derivados de lípido A incluyen, pero no se limitan a, derivados de lípido A de *Escherichia coli* (por ejemplo OM-174).

Los oligonucleótidos inmunoestimuladores usados, adyuvantes incluyen, pero no se limitan a, secuencias de nucleótidos que contienen un motivo CpG (una secuencia de dinucleótido que contiene una citocina no metilada enlazada por un enlace de fosfato a una guanosina). Estas secuencias de CpG pueden ser de doble hebra o de hebra individual. En ciertas modalidades, estas secuencias de nucleótidos son ARN de doble hebra u oligonucleótidos que contienen secuencias palindrómicas o de poli(dG). En otras modalidades, los CpG incluyen modificaciones/análogos de nucleótidos tal como modificaciones de fosforotioato.

En ciertas modalidades la secuencia de CpG se dirige a TLR9, y en ciertas modalidades el motivo es GTCGTT o TTTCGTT. En ciertas modalidades la secuencia de CpG es específica para inducir una inmunorespuesta de Th1, tal como a manera de ejemplo únicamente, un CpG-A ODN, o en otras modalidades la secuencia de CpG es más específica para inducir una respuesta de células B, tal como sólo a manera de ejemplo, un CpG-B ODN. En ciertas modalidades el CpG es un CpG-A ODN.

En ciertas modalidades el oligonucleótido de CpG se construye de modo que el extremo 5' es accesible para el reconocimiento del receptor. En otras modalidades opcionalmente se unen dos secuencias de oligonucleótido de CpG en sus extremos 3' para formar "inmunómeros".

Un adyuvante particularmente útil basado en oligonucléótidos inmunoestimuladores se conoce como IC-31®. En ciertas modalidades, un adyuvante usado con composiciones inmunogénicas descritas en el presente documento, incluye una mezcla de (i) un oligonucleótido (tal como, a manera de ejemplo únicamente, entre 15-40 nucleótidos) que incluyen al menos uno (y de manera preferente múltiples) motivos de CpI (tal como, sólo a manera de ejemplo, una citosina enlazada a una inosina para formar un dinucleótido), y (ii) un polímero policatiónico, tal como sólo a manera de ejemplo, un oligopéptido (tal como, sólo a manera de ejemplo, entre 5-20 aminoácidos) incluyendo al menos un (y de manera preferente múltiple) secuencias tripeptídicas Lys-Arg-Lys. En ciertas modalidades, el oligonucleótido es un desoxinucleótido que contiene la secuencia 26-mer 5'-(IC)₁₃-3'. En otras modalidades, el polímero policatiónico es un péptido que comprende la secuencia de aminoácidos 11-mer KLKLLLLKLK.

En ciertas modalidades, las toxinas bacterianas ADP-ribosilantes y los derivados destoxificados de las mismas se usan como adyuvantes en las composiciones inmunogénicas descritas en el presente documento. En ciertas modalidades, estas proteínas se derivan de *E. coli* (enterotoxina térmicamente lável "LT" de *E. coli*, cólera ("CT"), o pertussis ("PT"). En otras modalidades, la toxina o toxoide está en la forma de una holotoxina, que comprende tanto subunidades A como B. En otras modalidades, la subunidad A contiene una mutación destoxificante; en tanto que la subunidad B no está mutada. En otras modalidades, el adyuvante es un mutante de LT destoxificado tal como LT-K63, LT-R72, y LT-G192.

Los inmunomoduladores humanos adecuados para el uso como adyuvantes incluyen, pero no se limitan a, citocinas, tal como, sólo a manera de ejemplo, interleucinas (IL-1, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-12), interferones (tal como, sólo a manera de ejemplo, interferon- \square), factor estimulador de colonia de macrófagos, y factor de necrosis tumoral.

Los bioadhesivos y mucoadhesivos usados, adyuvantes en las composiciones inmunogénicas descritas en el presente documento incluyen, pero no se limitan a, microesferas de ácido hialurónico esterificado, y derivados reticulados de polí(ácido acrílico), alcohol polivinílico, polivinil-pirollidona, polisacáridos y carboximetilcelulosa. En ciertas modalidades, se usan quitosan y derivados del mismo como en los adyuvantes de las composiciones de vacuna descritas en el presente documento.

5 Las micropartículas adecuadas para el uso, adyuvantes incluyen, pero no se limitan a, micropartículas formadas de materiales que son biodegradables y no tóxicos. (por ejemplo un polí(ácido alfa-hidroxi), un ácido polihidroxibutírico, un polioorthoéster, un polianhídrido, una policaprolactona, etc.), con polí(lactido-co-glicólido). En ciertas modalidades, estas micropartículas se tratan para tener una superficie negativamente cargada (por ejemplo con SDS) o una

10 superficie positivamente cargada (por ejemplo con un detergente catiónico, tal como CTAB). Las micropartículas adecuadas para el uso como adyuvantes tienen un diámetro de partícula de aproximadamente 100 nm a aproximadamente 150 µm de diámetro. En ciertas modalidades, el diámetro de partícula es de aproximadamente 200 nm a aproximadamente 30 µm, y en otras modalidades el diámetro de partícula es de aproximadamente 500 nm a 10 µm.

15 Las formulaciones de polioxieteno-éter y polioxetileno-éster adecuadas para el uso como adyuvantes incluyen, pero no se limitan, agentes tensioactivos de éster de polioxietilen-sorbitan en combinación con un octoxinol, y agentes tensioactivos de éteres o ésteres de polioxietilen-alquilo en combinación con al menos un agente tensioactivo no iónico adicional tal como octoxinol. En ciertas modalidades, los éteres de polioxetileno se seleccionan de polioxetileno-9-lauril-éter (laureth 9), polioxetileno-9-esteoril-éter, polioxeteilen-8-esteoril-eter, polioxetileno-4-lauril-éter, polioxetileno-35-lauril-éter, y polioxetileno-23-lauril-éter.

20 Los péptidos de muramilo adecuados para el uso como adyuvantes incluyen, pero no se limitan a, N-acetil-muramilo-L-treonil-D-isoglutamina (thr-MDP), N-acetil-normuramilo-L-alanil-D-isoglutamina (nor-MDP), y N-acetilmuramilo-L-alanil-D-isoglutaminil-L-alanina-2-(1'-2'-dipalmitoil-s-n-glicero-3-hidroxifosforiloxi)-etilamina MTP-PE).

25 En ciertas modalidades, uno o más de los compuestos de la Fórmula (I) usados como un inmunopotenciador se incluyen en composiciones que tienen combinaciones de uno o más de los adyuvantes identificados anteriormente. Estas combinaciones incluyen, pero no se limitan a,

- (1) una saponina y una emulsión de aceite en agua;
- (2) una saponina (por ejemplo QS21)+a un derivado de LPS no tóxico (por ejemplo 3dMPL);
- (3) una saponina (por ejemplo QS21)+a un derivado de LPS no tóxico (por ejemplo 3dMPL)+a un colesterol;
- 30 (4) una saponina (por ejemplo QS21)+3dMPTL+IL-12 (incluyendo opcionalmente un esterol);
- (5) combinaciones de 3dMPL con, por ejemplo, QS21 y/o emulsiones de aceite en agua;
- (6) SAF, que contiene 10 % de escualano, 0,4 % de Tween 80®, 5 % de de polímero L121 de bloque de Pluronic, y Thr-MDP, ya sea microfluidizado en una emulsión de submicrones o sometido a vórtice para generar una emulsión con un mayor tamaño de partícula.
- 35 (7) Sistema adyuvante RIBI® (SRA, por sus siglas en inglés), (Ribi Immunochem) que contiene 2 % de escualeno, 0,2 % de Tween 80, y uno o más componentes de pared celular bacteriana del grupo que consiste de monofosforilipido A (MPL), dimicelato de trehalosa (TDM), y estructura de pared celular (CWS, por sus siglas en inglés), preferentemente MPL+CWS (Detox®); y (8) una o más sales minerales (tal como una sal de aluminio) + un derivado no tóxico de LPS (tal como 3dMPL).

40 En otras modalidades, las combinaciones de adyuvantes usadas en las combinaciones inmunogénicas proporcionadas en el presente documento incluyen combinaciones de adyuvantes Th1 y Th2 tal como, solo a manera de ejemplo, CpG y alumbre o resiquimod y alumbre.

45 En ciertas modalidades, las composiciones inmunogénicas proporcionada en el presente documento producen tanto una respuesta inmunitaria mediada por células, así como una respuesta inmunitaria humoral. En otras modalidades, la respuesta inmunitaria induce anticuerpos de larga duración (por ejemplo, neutralizante) y una inmunidad mediada por células que responde rápidamente a la exposición al agente infeccioso.

50 Los adyuvantes de TH1 se pueden usar para producir una respuesta inmunitaria de TH1. Un adyuvante de TH1 producirá en general niveles incrementados de producción de IgG2a con relación a la inmunización del antígeno sin adyuvante. Los adyuvantes TH1 adecuados para el uso en las composiciones inmunogénicas proporcionada en el presente documento incluyen, pero no se limitan a, formulaciones de saponina, virosomas y partículas tipo virus, derivados no tóxicos de lipopoli-sacárido enterobacteriano (LPS), oligonucleótidos inmunoestimuladores. En ciertas modalidades, los oligonu-cleótidos inmunoestimuladores usados como adyuvantes TH1 en las composiciones inmunogénicas proporcionadas en el presente documento contienen un motivo CpG.

55 Se pueden usar adyuvantes de TH2 para inducir una respuesta inmunitaria de TH2. Un adyuvante de TH2 producirá en general, niveles incrementados de producción de IgG1 con relación a la inmunización del antígeno sin adyuvante. Los adyuvantes TH2 adecuados para el uso en las composiciones inmunogénicas proporcionadas en el presente documento incluyen, pero no se limitan a, composiciones que contienen minerales, emulsiones de aceite y toxinas ADP-ribosilantes y derivados desintoxicados de los mismos. En ciertas modalidades, las composiciones que

contienen minerales usadas como adyuvantes TH2 en las composiciones inmunogénicas proporcionadas en el presente documento son las sales de aluminio.

En ciertas modalidades, las composiciones inmunogénicas proporcionadas en el presente documento incluyen un adyuvante de TH1 y un adyuvante de TH2. En otras modalidades, estas composiciones producen una respuesta de

5 TH1 mejorada y una respuesta TH2 mejorada, tal como, un incremento en la producción tanto de la producción de IgG1 como de IgG2a con relación a la inmunización sin un adyuvante. En aún otras modalidades, estas composiciones que comprenden una combinación de un adyuvante de TH1 y TH2 producen una respuesta inmunitaria de TH1 incrementada y/o de TH2 incrementada con relación a la inmunización con un adyuvante individual (es decir, con relación a la inmunización con un adyuvante de TH1 solo o inmunización con un adyuvante de TH2 solo).

10 En ciertas modalidades, la respuesta inmunitaria es una o ambas de una respuesta inmunitaria TH1 y una respuesta TH2. En otras modalidades, la respuesta inmunitaria proporciona una o ambas de una respuesta de Th1 mejorada y una respuesta TH2 mejorada.

15 En ciertas modalidades, la respuesta inmunitaria mejorada es una o ambas de una respuesta inmunitaria sistémica y mucosa. En otras modalidades, la respuesta inmunitaria proporciona una o ambas de una respuesta inmunitaria sistémica mejorada y mucosa mejorada. En ciertas modalidades, la respuesta inmunitaria de la mucosa es una respuesta inmunitaria TH2. En ciertas modalidades, la respuesta inmunitaria de la mucosa incluye un aumento en la producción de IgA.

(b) Antígenos

20 En ciertas modalidades, la composición inmunogénica comprende al menos un antígeno, que puede ser un antígeno bacteriano o un antígeno asociado al cáncer, o un antígeno viral. En ciertas modalidades, las suspensiones homogéneas proporcionadas aquí se incluyen en las vacunas profilácticas o se utilizan en combinación con vacunas profilácticas. En ciertas modalidades, las suspensiones homogéneas proporcionadas en el presente documento se incluyen en, o se usan en combinación con, vacunas virales terapéuticas. En ciertas modalidades, las suspensiones homogéneas proporcionadas en el presente documento se incluyen en, o se utilizan en combinación con, vacunas contra el cáncer.

25 Los antígenos para el uso con las composiciones inmunogénicas proporcionadas en el presente documento incluyen, pero no se limitan a, una o más de los siguientes antígenos expuestos más adelante, o antígenos derivados de una o más de los agentes patógenos expuestos más adelante.

30 Antígenos Bacterianos

35 Los antígenos bacterianos adecuados para uso en las composiciones inmunogénicas proporcionada en el presente documento incluyen, pero no se limitan a, proteínas, polisacáridos, lipopolisacáridos, y vesículas de membrana exterior que son aislados, purificados o derivado de una bacteria. En ciertas modalidades, los antígenos bacterianos incluyen lisados bacterianos y formulaciones de bacterias inactivadas. En ciertas modalidades, los antígenos bacterianos se producen por expresión recombinante. En ciertas modalidades, los antígenos bacterianos incluyen epítopos que se exponen en la superficie de la bacteria durante al menos una etapa de su ciclo de vida. Los antígenos bacterianos están preferiblemente conservados a través de múltiples serotipos. En ciertas modalidades, los antígenos bacterianos incluyen antígenos derivados de una o más de las bacterias expuestas más adelante, así como los ejemplos de antígenos específicos identificados más adelante:

40 *Neisseria meningitidis*: Los antígenos *Meningitidis* incluyen, pero no se limitan a, proteínas, sacáridos (incluyendo un polisacárido, oligosacárido, lipooligo-sacárido o lipopolisacárido), o vesículas de membrana exterior purificadas o derivadas del serogrupo de *N. meningitidis* tal como A, C, W135, Y, X y/o B. En ciertas modalidades los antígenos de proteína de *meningitidis* se seleccionan de adhesiones, autotransportadores, toxinas, proteínas de adquisición de Fe, y proteínas asociadas a membrana (preferentemente proteína de membrana exterior integral).

45 *Streptococcus pneumoniae*: Los antígenos de *Streptococcus pneumoniae* incluyen, pero no se limitan a, un sacárido (incluyendo un polisacárido o un oligosacárido) y/o proteína de *Streptococcus pneumoniae*. El sacárido puede ser un polisacárido que tiene el tamaño que aumenta durante la purificación del sacárido de la bacteria, o puede ser un oligosacárido logrado por fragmentación de éste polisacárido. En el producto Prevnar® 7-valente, por ejemplo, 6 de los sacáridos se presentan como polisacáridos intactos, en tanto que uno (el serotipo 18C) se presenta como un oligosacárido. En ciertas modalidades, los antígenos de sacárido se seleccionan de uno o más de los siguientes serotipos pneumocócicos 1, 2, 3, 4, 5, 6A, 6B, 7F, 8, 9 N, 9V, 10A, 11A, 12F, 14, 15B, 17F, 18C, 19A, 19F, 20, 22F, 23F, y/o 33F. Una composición inmunogénica puede incluir múltiples serotipos, por ejemplo 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23 o más serotipos. Las combinaciones de conjugados 7-valentes, 9-valentes, 10-valentes, 11-valentes y 13 valentes se conocen ya en la técnica, como es una combinación no conjugada 23-valente. Por ejemplo, una combinación 10-valente puede incluir el sacárido de los serotipos 1, 4, 5, 6B, 7F, 9V, 14, 18C, 19F y 23F. Una combinación 11-valente puede incluir adicionalmente el sacárido del serotipo 3. Una combinación 12-valente puede adicionarse a la mezcla 10-valente: serotipos 6A y 19A, 6A y 22F, 19A y 22F, 6A y 15B, 19A y 15B; r 22F y 15B; Una combinación 13-valente puede adicionarse a la mezcla 11-valente: serotipos

- 19A y 22F; 8 y 12F; 8 y 15B; 8 y 19A; 8 y 22F; 12F y 15B; 12F y 19A; 12F y 22F; 15B y 19A; 15B y 22F, etcétera. En ciertas modalidades, los antígenos de proteína se pueden seleccionar de una proteína identificada en WO98/18931, WO98/18930, Patente de los Estados Unidos 6.699.703, Patente de los Estados Unidos 6.800.744, WO97/43303, WO97/37026, WO 02/079241, WO 02/34773, WO 00/06737, WO 00/06738, WO 00/58475, WO 2003/082183, WO 00/37105, WO 02/22167, WO 02/22168, WO 2003/104272, WO 02/08426, WO 01/12219, WO 99/53940, WO 01/81380, WO 2004/092209, WO 00/76540, WO 2007/116322, Lemieux y col., Infect. Immun. (2006) 74:2453-2456, Hoskins y col., J. Bacteriol. (2001) 183:5709-5717, Adamou y col., Infect. Immun. (2001) 69 (2):949-958, Briles y col., J. Infect. Dis. (2000) 182:1694-1701, Talkington y col., Microb. Pathog. (1996) 21 (1):17-22, Bethe y col., FEMS Microbiol. Lett. (2001) 205 (1):99-104, Brown y col., Infect. Immun. (2001) 69:6702-6706, Whalen y col., FEMS Immunol. Med. Microbiol. (2005) 43:73-80, Jomaa y col., Vaccine (2006) 24(24):5133-5139. En otras modalidades, las proteínas de *Streptococcus pneumoniae* se pueden seleccionar a partir de la familia de tríada de poly histidina (PhtX), la familia de proteína de unión a colina (CbpX), truncados CbpX, familia LytX, truncados de LytX, proteínas quiméricas de truncados de CbpX-truncados de LytX, pneumolisina (Ply), PspA, PsaA, Sp128, Sp101, Sp130, Sp125, Sp133, subunidades de pilus pneumocócicas
- 5 15 *Streptococcus pyogenes* (Grupo A *Streptococcus*): Los antígenos del grupo A de *Streptococcus* incluyen, pero no se limitan a, una proteína identificada en WO 02/34771 o WO 2005/032582 (incluyendo GAS 40), fusiones de fragmentos de proteínas GAS M (incluyendo aquellas descritas en WO 02/094851, y Dale, Vaccine (1999) 17:193-200, y Dale, Vacinne 14(10):944-948), proteína de unión a fibronectina (Sfb1), proteína heme asociada Streptococcica (SHP, por sus siglas en inglés), y estreptolisina S (SagA).
- 20 25 *Moraxella catarrhalis*: Los antígenos *Moraxella* incluyen, pero no se limitan a, antígenos identificados en WO 02/18595 y WO 99/58562, antígenos de proteína de membrana exterior (HMW-OMP), C-antígeno, y/o LPS.
- Bordetella pertussis*: Los antígenos de Pertussis incluyen, pero no se limitan a, holotoxina de pertussis (PT) y hemaglutinina filamentosa (FHA, por sus siglas en inglés) de *B. pertussis*, opcionalmente también la combinación con pertactina y/o aglutinógenos 2 y 3.
- 30 35 40 *Burkholderia*: Los antígenos Burkholderia incluyen, pero no se limitan a, *Burkholderia mallei*, *Burkholderia pseudomallei* y *Burkholderia cepacia*.
- Staphylococcus aureus*: Los antígenos de Staph aureus incluyen, pero no se limitan a, un polisacárido y/o proteína de *S. aureus*. Los polisacáridos de *S. aureus* incluyen, pero no se limitan a, polisacáridos capsulares tipo 5 y tipo 8 (CP5 y CP8) opcionalmente conjugados a la exotoxina A de *Pseudomonas aeruginosa* recombinante no tóxica, tal como StaphVAX®, polisacáridos tipo 336 (336PS), adhesiones intercelulares de polisacárido (PIA, también conocidas como PNAG). Proteínas de *S. aureus* incluyen, pero no se limitan a, antígenos obtenidos a partir de proteínas de superficie, invasinas (leucocidina, cinasas, hialuronidasa), factores de superficie que inhiben la emgulición fagocítica (cápsula, proteína A), carotenoides, producción de catalasa, proteína A, coagulasa, factor de coagulación, y/o toxinas que dañan la membrana (opcionalmente destoxicificada) que lisan las membranas de células eucariotas (hemolisinas, leucotoxina, leucocidina). En ciertas modalidades, los antígenos de *S. aureus* se pueden seleccionar de una proteína identificada en WO 02/094868, WO 2008/019162, WO 02/059148, WO 02/102829, WO 03/011899, WO 2005/079315, WO 02/077183, WO 99/27109, WO 01/70955, WO 00/12689, WO 00/12131, WO 2006/032475, WO 2006/032472, WO 2006/032500, WO 2007/113222, WO 2007/113223, WO 2007/113224. En otras modalidades, los antígenos de *S. aureus* se pueden seleccionar a partir de IsdA, IsdB, IsdC, SdrC, SdrD, SdrE, ClfA, ClfB, SasF, SasD, SasH (AdsA), Spa, EsaC, EsxA, EsxB, Emp, HlaH35L, CP5, CP8, PNAG, 336PS.
- 45 50 55 *Staphylococcus epidermidis*: Los antígenos de *S. epidermidis* incluyen, pero no se limitan a, antígeno asociado a limo (SAA, por sus siglas en inglés).
- Clostridium tetani* (Tetanus): Los antígenos de tétano incluyen, pero no se limitan a, toxido de tétano (TT). En ciertas modalidades, estos antígenos se usan como una proteína portadora en unión/conjugados con las composiciones inmunogénicas proporcionadas en el presente documento.
- Clostridium perfringens*: Los antígenos incluyen, pero no se limitan a, toxina épsilon de *Clostridium perfringen*.
- Clostridium botulinum* (Botulismo): Los antígenos botulismo incluyen, pero no se limitan a, aquellos obtenidos a partir de *C. botulinum*.
- 50 55 *Corynebacterium diphtheriae* (Difteria): Los antígenos de difteria incluyen, pero no se limitan a, toxina de difteria, preferentemente destoxicificada, tal como CRM₁₉₇. Adicionalmente, los antígenos capaces de modular, inhibir o que están asociados con la ribosilación de ADP se contemplan para la combinación/co-administración/conjugación con las composiciones inmunogénicas proporcionadas en el presente documento. En ciertas modalidades, los toxoides de difteria se usan como proteínas portadoras.
- Haemophilus influenzae* B (Hib): Los antígenos de Hib incluyen, pero no se limitan a, un antígeno de sacárido de Hib.

Pseudomonas aeruginosa: Los antígenos de Pseudomonas incluyen, pero no se limitan a, endotoxina A, proteína Wzz, LPS de *P. aeruginosa*, LPS aislado de PAO1 (serotipo O5), y/o Proteínas de Membrana Exterior, incluyendo Proteínas F de Membrana Exterior (OprF).

Legionella pneumophila. Los antígenos bacterianos obtenidos a partir de *Legionella pneumophila*.

5 *Coxiella burnetii*. Los antígenos bacterianos obtenidos a partir de *Coxiella burnetii*.

Brucella. Antígenos bacterianos obtenido a partir de *Brucella*, incluyendo pero no limitado a, *B. abortus*, *B. canis*, *B. melitensis*, *B. neotomae*, *B. ovis*, *B. suis* y *B. pinnipediae*.

Francisella. Antígenos bacterianos obtenido a partir de *Francisella*, incluyendo pero no limitado a, *F. novicida*, *F. philomiragia* y *F. tularensis*.

10 *Streptococcus agalactiae* (*Grupo B Atreptococcus*): Los antígenos del grupo B de *Streptococcus* incluyen, pero no se limitan a, un antígeno de proteína o sacárido identificado en WO 02/34771, WO 03/093306, WO 04/041157, o WO 2005/002619 (incluyendo proteínas EGB 80, EGB 104, EGB 276 y EGB 322, e incluyendo antígenos de sacárido derivados de los serotipos Ia, Ib, Ia/c, II, III, IV, V, VI, VII y VIII).

15 *Neisseria gonorrhoeae*: Los antígenos Gonorrhoeae incluyen, pero no se limitan a, proteína Por (o porina), tal como PorB (ver Zhu y col., Vaccine (2004) 22:660-669), una proteína de unión transferencia, tal como TbpA y TbpB (Ver Price y col., Infection and Immunity (2004) 71(1):277-283), una proteína de opacidad (tal como Opa), una proteína modificable por reducción (Rmp), y preparaciones de vesícula de membrana exterior (OMV, por sus siglas en inglés) (ver el Plante y col., J. Infectious Disease (2000) 182:848-855), ver también, por ejemplo, WO99/24578, WO99/36544, WO99/57280, WO02/079243).

20 *Chlamydia trachomatis*: Los antígenos de *Chlamydia trachomatis* incluyen, pero no se limitan a, antígenos derivados de serotipos A, B, Ba y C (agentes de trachoma, una causa de ceguera), serotipos L₁, L₂ y L₃ (asociados con Lymphogranuloma venerum), y serotipos, D-K. En ciertas modalidades, los antígenos de chlamydia trachomas incluyen, pero no se limitan a, un antígeno identificado en WO 00/37494, WO 03/049762, WO 03/068811, o WO 05/002619, incluyendo PepA (CT045), LcrE (CT089), ArtJ (CT381), DnaK (CT396), CT398, tipo OmpH (CT242), L7/L12 (CT316), OmcA (CT444), AtosS (CT467), CT547, Eno (CT587), HrtA (CT823), y MurG (CT761).

Treponema pallidum (Sífilis): Los antígenos de sífilis incluyen, pero no se limitan a, el antígeno TmpA.

Haemophilus ducreyi (que provoca chancreoide): los antígenos Ducreyi incluyen, pero no se limitan a, proteína de membrana exterior (Dsra).

30 *Enterococcus faecalis* o *Enterococcus faecium*: Los antígenos incluyen, pero no se limitan a, una repetición de trisacárido u otros antígenos derivados de *Enterococcus*.

Helicobacter pylori: Los antígenos H pilori incluyen, pero no se limitan a, Cag, Vac, Nap, HopX, HopY y/o ureasa.

Staphylococcus saprophyticus: Los antígenos incluyen, pero no se limitan a, la hemaglutinina de 160 kDa del antígeno de *S. saprophyticus*.

Yersinia enterocolitica: Los antígenos incluyen, pero no se limitan a, LPS.

35 *E. coli*: Los antígenos de *E. coli* se pueden derivar de *E. coli* enterotoxigénico (ETEC), *E. coli* (enteroagregativo EAggEC), *E. coli* difusamente adherente (DAEC), *E. coli* enteropatógeno (EPEC), *E. coli* patógeno extraintestinal (ExPEC) y/o *E. coli* enterohemorrágico (EHEC). Los antígenos de ExPEC incluyen, pero no se limitan a, factor de colonización auxiliar (orf3526), orf353, proteína de dominio tipo Ig bacteriana (grupo 1) (orf405), orf1364, transportador de eflujo de membrana exterior-factor de lipoproteína de la familia NodT (orf1767), gspK (orf3515), gspJ (orf3516), receptor de sideróforo dependiente de tonB (orf3597), proteína fimbrial (orf3613), upec-948, upec-1232, un precursor de cadena de la proteína de fimbrial tipo 1 (upec-1875), homólogo de yap H (upec-2820), y hemolisina A (recp-3768).

40 *Bacillus anthracis* (ántrax): Los antígenos *B. anthracis* incluyen, pero no se limitan a, componentes A (factor letal (LF, por sus siglas en inglés) y factor de edema (FE, por sus siglas en inglés)), ambos de los cuales puede compartir un componente B común conocido como antígeno protector (PA, por sus siglas en inglés). En ciertas modalidades, los antígenos de *B. anthracis* están opcionalmente desintoxicados.

45 *Yersinia pestis* (plaga): Los antígenos de Plaga incluyen, pero no se limitan a, antígeno capsular F1, LPS, antígeno V de *Yersinia pestis*.

50 *Mycobacterium tuberculosis*: Los antígenos de tuberculosis incluyen, pero no se limitan a, lipoproteínas, LPS, antígenos de BCG, una proteína de fusión del antígeno 85B (Ag85B), ESAT-6 opcionalmente formulado en vesículas de lípidos catiónicos, antígenos asociados a isocitrato deshidrogenasa de *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb), y antígenos MPT51.

Rickettsia: Loa antígenos incluyen, pero no se limitan a, proteínas de membrana exterior, que incluyen la proteína A y/o B de membrana exterior (OmpB), LPS, y antígeno de proteína superficial (SPA, por sus siglas en inglés).

Listeria monocytogenes: Los antígenos bacterianos incluyen, pero no se limitan a, aquellos derivados de *Listeria monocytogenes*.

5 *Chlamydia pneumoniae*: Los antígenos incluyen, pero no se limitan a, aquellos identificados en WO 02/02606.

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

10 *Salmonella typhi* (Fiebre tifoidea): Los antígenos incluyen, pero no se limitan a, polisacáridos capsulares preferentemente conjugados (Vi, es decir, vax-TyVi).

Borrelia burgdorferi (enfermedad de Lyme): Los antígenos incluyen, pero no se limitan a, lipoproteínas (tal como OspA, OspB, Osp C y Osp D), y otras proteínas de superficie tal como proteínas relacionada a OspE (Erps), proteínas de unión a decorina (tal como DbpA), y proteínas antigénicamente variables VI, tal como antígenos asociados con P39 y P13 (una proteína de membrana integral, Proteína de variación antigénica V1sE).

15 *Porphyromonas gingivalis*: Los antígenos incluyen, pero no se limitan a, proteína de membrana exterior de *P. gingivalis* (OMP).

Klebsiella: Los antígenos incluyen, pero no se limitan a, una OMP, incluyendo OMP A, o un polisacárido opcionalmente conjugado con toxoide de tétano.

20 Otros antígenos bacterianos usados en las composiciones inmunogénicas proporcionadas en el presente documento incluyen, pero no se limitan a, antígenos capsulares, antígenos de polisacárido o antígenos de proteína de cualquiera de los anteriores. Otros antígenos bacterianos usados en las composiciones inmunogénicas proporcionadas en el presente documento incluyen, pero no se limitan a, una preparación de vesícula de membrana exterior (OMV, por sus siglas en inglés). Adicionalmente, otros antígenos bacterianos usados en las composiciones inmunogénicas proporcionadas en el presente documento incluyen, pero no se limitan a, versiones vivas, atenuadas

25 y/o purificadas de cualquiera de las bacterias mencionadas. En ciertas modalidades, los antígenos bacterianos usados en las composiciones inmunogénicas proporcionadas en el presente documento se derivan de bacterias gram-negativas, en tanto que en otras modalidades se derivan de bacterias gram-positivas. En ciertas modalidades, los antígenos bacterianos usados en las composiciones inmunogénicas proporcionadas en el presente documento se derivan de bacterias aeróbicas, en tanto que en otras modalidades se derivan de bacterias anaeróbicas.

30 En ciertas modalidades, cualquiera de los sacáridos anteriores derivados de bacterias (polisacáridos, LPS, LOS u oligosacáridos) se conjugan a otro agente o antígeno, tal como una proteína portadora (por ejemplo CRM₁₉₇). En ciertas modalidades, estas conjugaciones son conjugaciones directas efectuadas por aminación reductiva de porciones de carbonilo en el sacárido a grupos amino en la proteína. En otras modalidades, los sacáridos se conjugan a través de un ligador, tal como, con enlaces de succinamida u otros proporcionados en *Bioconjugate Techniques*, 1996 and CRC, *Chemistry of Protein Conjugation and Cross-Linking*, 1993.

35 En ciertas modalidades útiles para el tratamiento o prevención de infección por *Neisseria* y enfermedades y trastornos relacionados, las proteínas recombinantes de *N. meningitidis* para el uso en las composiciones inmunogénicas proporcionados en el presente documento se pueden encontrar en los documentos WO99/24578, WO99/36544, WO99/57280, WO00/22430, WO96/29412, WO01/64920, WO03/020756, WO2004/048404 y

40 WO2004/032958. Estos antígenos se pueden usar solos o en combinaciones. Cuando se combinan múltiples proteínas purificadas después es útil usar una mezcla de 10 o menos (por ejemplo 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2) antígenos purificados.

45 Una combinación particularmente útil de antígenos para el uso en las composiciones inmunogénicas proporcionadas en el presente documento, se desvelan en Giuliani y col. (2006) *Proc Natl Acad Sci E U A* 103(29):10834-9 y WO2004/032958, y de este modo una composición inmunogénica puede incluir 1, 2, 3, 4 o 5 de f: (1) una proteína 'NadA' (aka GNA1994 y NMB1994); (2) una proteína 'fHBP' (aka '741', LP2086, GNA1870 y NMB1870); (3) una proteína '936' (aka GNA2091 y NMB2091); (4) una proteína '953' (aka GNA1030 y NMB1030); y (5) una proteína '287' (aka GNA2132 y NMB2132). Otras posibles combinaciones de antígenos pueden comprender una proteína de unión a transferrina (por ejemplo TbpA y/o TbpB) y un antígeno Hsf. Otros posibles antígenos purificados para el uso

50 en las composiciones inmunogénicas proporcionadas en el presente documento incluyen proteínas que comprenden una de las siguientes secuencias de aminoácido: SEQ ID NO: 650 de WO99/24578; SEQ ID NO: 878 de WO99/24578; SEQ ID NO: 884 de WO99/24578; SEQ ID NO: 4 de WO99/36544; SEQ ID NO: 598 de WO99/57280; SEQ ID NO: 818 de WO99/57280; SEQ ID NO: 864 de WO99/57280; SEQ ID NO: 866 de WO99/57280; SEQ ID NO:

55 1196 de WO99/57280; SEQ ID NO: 1272 de WO99/57280; SEQ ID NO: 1274 de WO99/57280; SEQ ID NO: 1640 de WO99/57280; SEQ ID NO: 1788 de WO99/57280; SEQ ID NO: 2288 de WO99/57280; SEQ ID NO: 2466 de WO99/57280; SEQ ID NO: 2554 de WO99/57280; SEQ ID NO: 2576 de WO99/57280; SEQ ID NO: 2606 de WO99/57280; SEQ ID NO: 2608 de WO99/57280; SEQ ID NO: 2616 de WO99/57280; SEQ ID NO: 2668 de

WO99/57280; SEQ ID NO: 2780 de WO99/57280; SEQ ID NO: 2932 de WO99/57280; SEQ ID NO: 2958 de WO99/57280; SEQ ID NO: 2970 de WO99/57280; SEQ ID NO: 2988 de WO99/57280 (cada una de las secuencias anteriores de aminoácidos se incorpora de este modo como referencia a partir del documento citado), o un polipéptido que comprende una secuencia de aminoácidos que: (a) tiene 50 % o más de identidad (por ejemplo, 5 60 %, 70 %, 80 %, 90 %, 95 %, 99 % o más) a las secuencias, y/o (b) comprende un fragmento de al menos n aminoácidos consecutivos de estas secuencias, cuando n es 7 o más (por ejemplo, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 25, 30, 35, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 150, 200, 250 o más). Los fragmentos preferidos para (b) comprenden un epítopo de la secuencia pertinente. Más de una (por ejemplo, 2, 3, 4, 5, 6) de estos polipéptidos se pueden incluir en las composiciones inmunogénicas.

10 El antígeno fHBP cae en las tres distintas variantes (WO2004/048404). Una vacuna del serogrupo de *N. meningitidis* basada en las composiciones inmunogénicas desveladas en el presente documento que utiliza uno de los compuestos desvelados en el presente documento puede incluir una variante de fHBP individual, pero de forma útil incluirá un fHBP de cada una de las dos o tres variantes. De esta manera, la composición inmunogénica puede incluir una combinación de dos o tres diferentes fHBP purificados, seleccionados de: (a) una primera proteína, que 15 comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos una a % de identidad de secuencia a SEQ ID NO: 1 y/o que comprende una secuencia de aminoácidos que consiste de un fragmento que tiene al menos x aminoácidos contiguos de SEQ ID NO: 1; (b) una segunda proteína, que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos b % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 2 y/o que comprende una secuencia de aminoácidos que consiste de un fragmento de al menos y aminoácidos contiguos de SEQ ID NO: 2, y/o (c) una tercera proteína, que 20 comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos c % de identidad de secuencia % a SEQ ID NO: 3 y/o que comprende una secuencia de aminoácidos que consiste de un fragmento de al menos z aminoácidos contiguos de SEQ ID NO: 3.

SEQ ID NO: 1

VAADIGAGLADALTAPLDHKDKGLQSLTLDQSVRKNEKLKAAQGAEKTYGNGDSLNT
TGKLKNDKVSRFDFIRQIEVDGQLITLESGEFQVYKQSHSALTAFQTEQIQDSEHSGKMOV
AKRQFRIGDIAGEHTSFKLPEGGRATYRGTAFGSDDAGGKLTYTIDFAAKQGNGKIEH
LKSPELNVDLAAADIKPDKRHAVISGSVLYNQAEGSYSLGIFGGKAQEVAEVKT
VNGIRHIGLAAKQ

25 **SEQ ID NO: 2**

VAADIGAGLADALTAPLDHKDKSLQSLTLDQSVRKNEKLKAAQGAEKTYGNGDSLNT
GKLKNDKVSRFDFIRQIEVDGQLITLESGEFQIYKQDHSAVVALQIEKINNPDKIDS LINQ
RSFLVSGLGGEHTAFNQLPDGKAELYHGKAFSSDDAGGKLTYTIDFAAKQGHGKIEHLKT
PEQNVELAAAELKADEKSHAVILGDTRYGSEEKGTYHLALFGDRAQEIAGSATVKIGEK
VHEIGIAGKQ

SEQ ID NO: 3

VAADIGTGLADALTAPLDHKDKGLKSLTLEDSIPQNGTLTLQAQGAETFKAGDKDNSLN
NTGKLKNDKISRFDFVQKIEVDGQTITLASGEFQIYKQNHSAVVALQIEKINNPDKTDLSI
NQRSFLVSGLGGEHTAFNQLPGGKAELYHGKAFSSDDPNGRLHYSIDFTKKQGYGRIEHL
KTLEQNVELAAAELKADEKSHAVILGDTRYGSEEKGTYHLALFGDRAQEIAGSATVKIG
EKVHEIGIAGKQ.

30 El valor de a es al menos de 85, por ejemplo, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 99,5, o más. El valor de b es al menos 85, por ejemplo, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 99,5, o más. El valor de c es al menos 85, por ejemplo, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 99,5, o más. Los valores de a, b y c no se relacionan de manera intrínseca entre sí.

35 El valor de x es al menos 7, por ejemplo, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 35, 40, 45, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 120, 140, 160, 180, 200, 225, 250). El valor de y es al menos 7, por ejemplo, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 35, 40, 45, 50, 60, 70,

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

5 En algunas modalidades, las composiciones inmunogénicas como se desvelan en el presente documento incluirán proteínas de fHBP que se lipidan, por ejemplo, en una cisteína N-terminal. En otras modalidades no se lipidarán.

Una composición inmunogénica útil como se desvelan en el presente documento incluye proteínas purificadas que comprenden una mezcla de: (i) un primer polipéptido que tiene la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO: 4, (ii) un segundo polipéptido que tiene la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO: 5, y (iii) un tercer polipéptido que tiene la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO: 6. Ver Giuliani y col. (2006) *Proc Natl Acad Sci E U A* 103(29):10834-9 y

10 WO2004/032958. Una composición inmunogénico útil como se desvela en el presente documento incluye proteínas purificadas que comprenden una mezcla de: (i) un primer polipéptido que tiene al menos una a % de identidad de secuencia a la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO: 4, (ii) un segundo polipéptido que tiene al menos b % de identidad de secuencia a la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO: 5, y (iii) un tercer polipéptido que tiene al menos a % de identidad de secuencia a la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO: 6.

SEQ ID NO: 4

MASPDVKSADTLSKPAAPVVSEKETEAKEDAPQAGSQGQGAPS AQGGQDMAAVSEEN
TGNGGAAATDKPKNEDEGAQNNDMPQNAADTDSLTPNHTPASNMPAGNMENQAPDAG
ESEQPANQPDMANTADGMQGDDPSAGGENAGNTAAQGTNQAENNQTAGSQNPASST
NPSATNSGGDFGRNVGNSSVIDGPSQNITLTHCKGDSCSGNNFLDEEVQLKSEFEKLSD
ADKISNYKKDGKNDGKNDKFVGLVADSVQMKGINQYIIFYKPKPTS FARFRRSARSRRS
LPAEMPLIPVNQADTLIVDGEAVSLTGHSGNIFAPEGNYRYLTYGAEKLPGGSYALRVQ
GEPSKGEMLAGTAVYNGEVLHFHTENGRPSRGRFAAKVDFGSKSVDGIIDSGDGLH
MGTQKFKAIDGNGFKGTWTENGGDVSGKFYGPAGEEVAGKYSYRPTDAEKGGFGV
FAGKKEQDGSGGGATYKVDEYHANARFAIDHFNTSTNVGGFYGLTGSVEFDQAKRD
GKIDITIPVANLQSGSQHFTDHLKSADIFDAAQYPDIRFVSTKFNFNGKKLVSDGNLTM
HGKTAPVKLKAEKFN CYQSPMAKTEVC GGDFSTTIDRTKWGV DYL VN VGMTK SVRIDI
QIEAAKQ

SEQ ID NO: 5

MVSAVIGSAAVGAKSAVDRRTGAQTDDNVMALRIETTARSYLRQNNQTGYTPQISV
VGYNRHLLLQVATEGEKQFVGQIARSEQAAEGVNYITVASLPRTAGDIAGDTWNT
SKVRATLLGISPATQARVKIVTYGNVTYVMGILTPEEQAQITQKVSTTVGVQKVITLYQN
YVQRGSGGGVAADIGAGLADALTAPLDHKDKGLQSLTLDQSVRKNEKLKLAAGAE
KTYNGDSLNTGKLNDKVS RFDFIRQIEVDGQLITLESGEFQVYKQSHSALTA FQTEQI
QDSEHSGKMVAKRQFRIGDIAGEHTSF DKLPEGGRATYRGTAFGSDDAGGKLTYTIDFA
AKQGNGKIEHLKSP ELNVDLAAADI KPDGKRHA VISGSVLYNQAEKGSY SLGIFGGKAQ
EVAGSAEVKTVNGIRHIGLAAKQ

SEQ ID NO: 6

ATNDDDVKAATVAIAAAYNNGQEINGKAGETIYDIDEDGTITKKDATAADVEADDF
 KGLGLKKVVTNLTKTVNENKQNVDAKVAAESEIEKLTTKLADTDAALADTDAALDA
 TTNALNKLGENITTFAEETKTNIVKIDEKLEAVADTVDKHAEAFNDIADSLDETNTKADE
 AVKTANEAKQTAETKQNVDAKVAAETAAGKAEAAAGTANTAADKAEAVAAKVTD
 IKADIATNKDNIACKANSADVYTREESDSKFVRIDGLNATTEKLDTRLASAEKSIADHDT
 RLNGLDKTVSDLRKETRQGLAEQAALSGLFQPYNVG.

Antígenos de Vesícula Bacteriana

- 5 Las composiciones inmunogénicas como se desvelan en el presente documento pueden incluir vesículas de membrana exterior. Estas vesículas de membrana exterior se pueden obtener de una amplia variedad de bacterias patógenas y se usan como componentes antigenicos de las composiciones inmunogénicas como se desvelan en el presente documento. Las vesículas para el uso como componentes antigenicos de estas composiciones inmunogénicas incluyen cualquier vesícula proteoliposómica obtenida al romper una membrana exterior bacteriana para formar vesículas de la misma que incluyen componentes de proteína de la membrana exterior. De esta manera, el término incluye OMV (referido algunas veces como "vesículas"), microvesículas (MV, ver, por ejemplo, WO02/09643) y 'OMV nativas' ('NOMV' ver, por ejemplo, Katial y col. (2002) *Infect. Immun.* 70:702-707). Las composiciones inmunogénicas como se desvela en el presente documento que incluyen vesículas de una o más bacterias patógenas se pueden usar en el tratamiento o prevención de infección por estas bacterias patógenas y enfermedades y trastornos relacionados.
- 10 15 Las MV y NOMV son vesículas de membrana que se presentan de forma natural que se forman espontáneamente durante el crecimiento bacteriano y se liberan en el medio de cultivo. Las MV se pueden obtener al cultivar bacterias tal como *Neisseria* en medio de cultivo en caldo, separando células enteras de las MV más pequeñas en el medio de cultivo en caldo (por ejemplo, por filtración o por centrifugación a baja velocidad para sedimentar sólo las células y no las vesículas pequeñas), y después recolectar las MV del medio agotado de células (por ejemplo, por filtración, por precipitación diferencial o agregación de las MV, por centrifugación a alta velocidad para sedimentar las MV). Las cepas para el uso en la producción de las MV se pueden seleccionar en general en base a la cantidad de MV producidas en cultivo (ver, por ejemplo, Patente de los Estados Unidos 6.180.111 y WO01/34642 que describe *Neisseria* que tiene alta producción de MV).
- 20 25 30 35 Las OMV se preparan artificialmente de bacterias, y se pueden preparar usando tratamiento con detergente (por ejemplo, con desoxicolato), o por medios no detergentes (ver, por ejemplo, WO04/019977). Los procedimientos para obtener preparaciones adecuadas de OMV son bien conocidos en la técnica. Las técnicas para formas OMV incluyen tratar las bacterias con un detergente de sal de ácido biliar (por ejemplo, sales de ácido litocólico, ácido quenodesoxicólico, ácido ursodesoxicólico, ácido desoxicólico, ácido cólico, ácido ursocólico, etcétera, con desoxicolato de sodio (EP0011243 y Fredriksen y col. (1991) *NIPH Ann.* 14(2):67-80), que se prefieren para tratar *Neisseria* a un pH suficientemente alto para no precipitar el detergente (ver, por ejemplo, WO01/91788). Otras técnicas se pueden realizar sustancialmente en la ausencia de detergente (ver, por ejemplo, WO04/019977) usando técnicas tal como tratamiento con ultrasonido, homogeneización, microfluidización, cavitación, choque osmótico, molienda, prensa francesa, mezclado, etcétera. Los procedimientos que no usan detergente o usan poco detergente pueden retener los antígenos útiles, tal como NspA en las OMV de *Neisseria*. De esta manera, un procedimiento puede usar un amortiguador de extracción de OMV con aproximadamente 0,5 % de desoxicolato o menor, por ejemplo, de aproximadamente 0,2 %, aproximadamente el 0,1 %, <0,05 % o cero.
- 40 Un procedimiento útil para la preparación de OMV se describe en WO05/004908 y comprende la ultrafiltración de las OMV en bruto, en lugar de centrifugación de alta velocidad. El procedimiento puede comprender el paso de ultracentrifugación después de que tome la ultrafiltración.
- 45 50 Se pueden preparar vesículas de cualquier cepa patógena tal como *Neisseria meningitidis* para el uso con la invención. Las vesículas del serogrupo B de *Neisseria meningitidis* pueden ser de cualquier serotipo (por ejemplo, 1, 2a, 2b, 4, 14, 15, 16, etcétera), cualquier serosubtipo, y cualquier inmunotipo (por ejemplo, L1; L2; L3; L3,3,7; L10; etcétera). Los meningococos pueden ser de cualquier linaje adecuado, que incluyen linajes hiperinvasivos e hipervirulentos, por ejemplo, cualquiera de los siguientes siete linajes hipervirulentos: subgrupo I; subgrupo III; subgrupo IV 1; complejo ET 5; complejo ET 37; agregación A4; linaje 3. Estos linajes se han definido por electroforesis enzimática de multilocus (MLEE, por sus siglas en inglés), pero también se ha usado tipificación de secuencia multilocus (MLST, por sus siglas en inglés) para clasificar los meningococos, por ejemplo, el complejo ET 37 es el complejo ST 11 por MLST, el complejo ET 5 es ST-32 (ET-5), el linaje es 3 ST 41/44, etcétera. Se pueden preparar vesículas de cepas que tienen uno de los siguientes subtipos: P1,2; P1,2,5; P1,4; P1,5; P1,5,2; P1,5,c; P1,5,c,10; P1,7,16; P1,7,16b; P1,7,h,4; P1,9; P1,15; P1,9,15; P1,12,13; P1,13; P1,14; P1,21,16; P1,22,14.

Las vesículas incluidas en las composiciones inmunogénicas desveladas en el presente documento se pueden preparar de cepas patógenas de tipo silvestre tal como cepas de *N. meningitidis* o de cepas mutantes. A manera de ejemplo, el WO98/56901 desvela preparaciones de vesículas obtenidas de *N. meningitidis* con un gen *fur* modificado. El WO02/09746 enseña que la expresión de *nspA* se puede favorecer con supresión concomitante de *porA* y *cps*. Los mutantes adicionales con supresión de *N. meningitidis* para la producción de OMV se desvelan en WO02/0974, WO02/062378 y WO04/014417. El WO06/081259 desvela vesículas en las cuales se favorece la expresión de *fHBP*. Claassen y col. (1996) 14(10):1001-8, desvela la construcción de las vesículas de cepas modificadas para expresar seis subtipos diferentes de *porA*. También se puede usar *Neisseria* mutante con bajos niveles de endotoxina, lograda por supresión de las enzimas comprendidas en la biosíntesis de LPS, (ver, por ejemplo, WO99/10497 y Steeghs y col. (2001)i20:6937-6945). Estos u otros mutantes se pueden usar todos con la invención.

Por lo tanto, las cepas del serogrupo B de *N. meningitidis* incluidas en las composiciones inmunogénicas desvela en el presente documento pueden expresar en algunas modalidades más de un subtipo de *PorA*. Se han construido previamente cepas de *PorA* seis-valentes y nueve-valentes. La cepa puede expresar 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 o 9 de los subtipos de *PorA*: P1,7, 16; P1,5-1,2-2; P1,19,15-1; P1,5-2,10; P1,12 1,13; P1,7-2,4; P1,22,14; P1,7-1,1 y/o 1-P1,18,3,6. En otras modalidades una cepa se puede haber reducido para la expresión de *PorA*, por ejemplo, en la cual se ha reducido la cantidad de *PorA* por al menos un 20 % (por ejemplo, >30 %, >40 %, >50 %, >60 %, >70 %, >80 %, >90 %, > 95 %, etcétera), o aún suprimido, con relación a los niveles tipo silvestre (por ejemplo, con relación a la cepa H44/76, como se desvela en WO03/105890).

En algunas modalidades, las cepas del serogrupo de *N. meningitidis* pueden expresar (con relación a la cepa correspondiente tipo silvestre) ciertas proteínas. Por ejemplo, las cepas pueden sobreexpresar NspA, proteína 287 (WO01/52885 - también referida como NMB2132 y GNA2132), uno o más fHBP (WO06/081259 y Publicación de Patente de los Estados Unidos 2008/0248065 - también referida como proteína 741, NMB1870 y GNA1870), TbpA y/o TbpB (WO00/25811), Cu, Zn-superóxido-dismutasa (WO00/25811), etc.

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

Cuando se usa una cepa mutante, en algunas modalidades, puede tener una o más, o todas, las siguientes características: (i) LgtB y/o GalE reducido en expresión o suprimido para truncar el LOS meningocóclico, (ii) TbpA favorecido en expresión, (iii) Hsf favorecido en expresión, (iv) Omp85 favorecido en expresión, (v) LbpA favorecido en expresión, (vi) NspA favorecido en expresión, (vii) PorA suprimido; (viii) FrpB favorecido en expresión o suprimido; (ix) Opa favorecido en expresión o suprimido; (x) Opc favorecido en expresión o suprimido; (xii) complejo del gen cps suprimido. Un LOS truncado puede ser uno no incluya un epítopo de sialil-lacto-N-neotetraosa, por ejemplo, pude ser un LOS de deficiente de galactosa. El LOS puede no tener cadena α.

Si está presente LOS en una vesícula después es posible tratar la vesícula para enlazar su LOS y componentes de proteína (conjugación "intra-ampolla" (WO04/014417)).

Las composiciones inmunogénicas como se desvela en el presente documento pueden incluir mezclas de vesículas de diferentes cepas. A manera de ejemplo, el WO03/105890 desvela vacunas que comprenden composiciones de vesículas meningococales multivalentes, que comprenden una primera vesícula derivada de una cepa meningocócica con un serosubtipo prevalente en un país de uso, y una segunda vesícula derivada de una cepa que no necesita tener un serosubtipo prevalente en un país de uso. El WO06/024946 desvela combinaciones útiles de diferentes vesículas. Una combinación de vesículas de las cepas en cada uno de los inmunotipos L2 y L3 se puede usar en algunas modalidades.

Los antígenos basados en vesículas se pueden preparar a partir de los serogrupos de *N. meningitidis* diferentes del serogrupo B (por ejemplo, WO01/91788 desvela un procedimiento para el serogrupo A). Las composiciones inmunogénicas desveladas en el presente documento pueden incluir por consiguiente vesículas preparadas de serogrupos diferentes del B (por ejemplo A, C, W135 y/o Y) y de patógenos bacterianos diferentes de *Neisseria*.

Antígenos Virales

Los antígenos virales adecuados para el uso en las composiciones inmunogénicas proporcionadas en el presente documento incluyen, pero no se limitan a, virus inactivados (o aniquilados), virus atenuados, formulaciones de virus divididos, formulaciones de subunidades purificadas, proteínas virales que se pueden aislar, purificar o derivar de un virus, y partículas tipo virus (VLP, por sus siglas en inglés). En ciertas modalidades, los antígenos virales se derivan de virus propagados en cultivo celular u otro sustrato. En otras modalidades, los antígenos virales se expresan de forma recombinante. En ciertas modalidades, los antígenos virales incluyen de manera preferente epítopos que

están expuestos en la superficie del virus durante al menos una etapa de su ciclo de vida. De manera preferente los antígenos virales están conservados a través de múltiples serotipos o aislados. Los antígenos virales adecuados para el uso en las composiciones inmunogénicas proporcionadas en el presente documento incluyen, pero no se limitan a, antígenos derivados de uno o más de los virus expuestos más adelante así como los ejemplos de antígenos específicos identificados más adelante.

Orthomyxovirus: Los antígenos virales incluyen, pero no se limitan a, aquellos derivados de un Orthomixovirus, tal como Influenza A, B y C. En ciertas modalidades, los antígenos de ortomixovirus se seleccionan de una o más de las proteínas virales, que incluyen hemaglutinina (HA), neuraminidasa (NA), nucleoproteína (NP), proteína de matriz (M1), proteína de membrana (M2), uno o más de los componentes de transcriptasa (PB1, PB2 y PA). En ciertas modalidades el antígeno viral incluyen HA y NA. En ciertas modalidades, los antígenos de influenza se derivan de cepas de gripe interpandémicas (anuales), en tanto que en otras modalidades, los antígenos de influenza se derivan de cepas con el potencial de provocar una epidemia pandémica (es decir, cepas de influenza con nueva hemaglutinina en comparación a la hemaglutinina en las cepas actualmente en circulación, o cepas de influenza que son patógenas en sujetos aviares y tienen el potencial de ser transmitidas de manera horizontal en la población humana, o cepas de influenza que son patógenas a humanos).

Virus Paramyxoviridae: Los antígenos virales incluyen, pero no se limitan a, aquellos derivados de virus de Paramyxoviridae, tal como Pneumovirus (RSV), Paramixovirus (PIV), Metapneumovirus y Morbillivirus (Sarampión).

Pneumovirus: Los antígenos virales incluyen, pero no se limitan a, aquellos derivados de un Pneumovirus, tal como virus sincitial Respiratorio (RSV, por sus siglas en inglés), virus sincitial respiratorio bovino, virus de Pneumonia de ratones, y virus de rinotraqueitis de Pavo. De manera preferente el Pneumovirus es RSV. En ciertas modalidades, los antígenos de pneumovirus se seleccionan de una o más de las siguientes proteínas, que incluyen proteínas de superficie, Fusión (F), Glicoproteína (G) y proteína Hidrófoba Pequeña (SH, por sus siglas en inglés), proteína de matriz M y M2, proteínas de nucleocápsida N, P y L y proteínas no estructurales NS1 y NS2. En otras modalidades, los antígenos de pneumovirus incluyen F, G y M. En ciertas modalidades, los antígenos de pneumovirus también se formulan en o se derivan de virus químéricos, tal como, sólo a manera de ejemplo, virus químéricos de RSV/PIV que comprenden componentes tanto de RSV como de PIV.

Paramyxovirus: Los antígenos virales incluyen, pero no se limitan a, aquellos derivados de un Paramixovirus, tal como virus de Parainfluenza tipos 1 - 4 (PIV), Paperas, virus de Sendai, virus Simiesco 5, virus de parainfluenza Bovina, Nipahvirus, Henipavirus y virus de enfermedad de Newcastle. En ciertas modalidades, los Paramixovirus son PIV o Paperas. En ciertas modalidades, los antígenos de paramixovirus se seleccionan de una o más de las siguientes proteínas: Hemaglutinina-Neuraminidasa (HN), proteínas de Fusión F1 y F2, Nucleoproteína (NP), Fosfoproteína (P), Proteína Grande (L), y proteína de Matriz (M). En otras modalidades, las proteínas de paramixovirus incluyen HN, F1 y F2. En ciertas modalidades, los antígenos de paramixovirus también se formulan en o se derivan de virus químéricos, tal como, sólo a manera de ejemplo, virus químéricos de RSV/PIV que comprenden componentes tanto de RSV como de PIV. Las vacunas de paperas comercialmente disponibles incluyen virus de paperas atenuados vivos, en ya sea una forma monovalente o en combinación con vacunas de sarampión y rubeola (M®). En otras modalidades, el Paramixovirus es Nipahvirus o Henipavirus y los antígenos se seleccionan de una o más de las siguientes proteínas: proteína de Fusión (F), proteína de Glicoproteína (G), proteína de Matriz (M), proteína de Nucleocápsida (N), proteína Grande (L) y Fosfoproteína (P).

Poxviridae: Los antígenos virales incluyen, pero no se limitan a, aquellos derivados de *Orthopoxvirus* tal como *Variola vera*, que incluyen, pero no limitado a, *Variola major* y *Variola minor*.

Metapneumovirus: Los antígenos virales incluyen, pero no se limitan a, Metapneumovirus, tal como metapneumovirus humano (hMPV) y metapneumovirus aviares (aMPV). En ciertas modalidades, los antígenos de metapneumovirus se seleccionan de una o más de las siguientes proteínas, incluyendo proteínas de superficie, de Fusión (F), de Glicoproteína (G) y proteína Hidrófoba Pequeña (SH), proteínas de matriz M y M2, proteínas de nucleocápsida N, P y L. En otras modalidades, los antígenos de metapneumovirus incluyen F, G y M. En ciertas modalidades, los antígenos de metapneumovirus también se formulan en o derivan de virus químéricos.

Morbillivirus: Los antígenos virales incluyen, pero no se limitan a, aquellos derivados de un Morbillivirus, tal como Sarampión. En ciertas modalidades, los antígenos de morbillivirus se seleccionan de una o más de las siguientes proteínas: hemaglutinina (H), Glicoproteína (G), factor de Fusión (F), proteína Grande (L), Nucleoproteína (NP), fosfoproteína de Polimerasa (P), y Matriz (M). Las vacunas de sarampión comercialmente disponibles incluyen virus de sarampión atenuados vivos, típicamente en combinación con paperas y rubeola (MMR).

Picornaviruses: Los antígenos virales incluyen, pero no se limitan a, aquellos derivados de Picornavirus, tal como Enterovirus, Rinovirus, Heparnavirus, Cardiovirus y Aftovirus. En ciertas modalidades, los antígenos se derivan de Enterovirus, en tanto que en otras modalidades el enterovirus es Poliovirus. En aún otras modalidades, los antígenos se derivan de Rinovirus. En ciertas modalidades, los antígenos se formulan en partículas tipo virus (VLP).

Enterovirus: Los antígenos virales incluyen, pero no se limitan a, aquellos derivados de Enterovirus, tal como Poliovirus tipos 1, 2 o 3, virus de Coxsackie A tipos 1 a 22 y 24, virus de Coxsackie B tipos 1 a 6, Ecovirus (ECHO)

virus) tipos 1 a 9, 11 a 27 y 29 a 34 y Enterovirus 68 a 71. En ciertas modalidades, los antígenos se derivan de Enterovirus, en tanto que en otras modalidades el enterovirus es Poliovirus. En ciertas modalidades, los antígenos de enterovirus se seleccionan de una o más de las siguientes proteínas de Cápsida VP0, VP1, VP2, VP3 y VP4. Las vacunas de polio comercialmente disponibles incluyen Vacuna de Polio Inactivado (IPV, por sus siglas en inglés) y vacunas de poliovirus Orales (OPV, por sus siglas en inglés). En ciertas modalidades, los antígenos se formulan en partículas tipo virus.

Bunyavirus: Los antígenos virales incluyen, pero no se limitan a, aquellos derivados de un *Orthobunyavirus*, tal como virus de encefalitis de California, un *Phlebovirus*, tal como virus de Fiebre del Valle de Rift, o un *Nairovirus*, tal como virus de fiebre hemorrágica de *Crimean-Congo*.

10 **Rhinovirus:** Los antígenos virales incluyen, pero no se limitan a, aquellos derivados de rinovirus. En ciertas modalidades, los antígenos de rinovirus se seleccionan de una o más de las siguientes proteínas de Cápsida: VP0, VP1, VP2, VP3 y VP4. En ciertas modalidades, los antígenos se formulan en partículas tipo virus (VLP).

15 **Heparnavirus:** Los antígenos virales incluyen, pero no se limitan a, aquellos derivados de un Heparnavirus, tal como, sólo a manera de ejemplo, virus de Hepatitis A (HAV, por sus siglas en inglés). Las vacunas de HAV comercialmente disponibles incluyen vacuna de HAV inactivado.

20 **Togavirus:** Los antígenos virales incluyen, pero no se limitan a, aquellos derivados de un Togavirus, tal como a Rubivirus, un Alfavírus, o un Arterivirus. En ciertas modalidades, los antígenos se derivan de Rubivirus, tal como sólo a manera de ejemplo, virus de Rubeola. En ciertas modalidades, los antígenos de togavirus se seleccionan de E1, E2, E3, C, NSP-1, NSP-2, NSP-3 o NSP-4. En ciertas modalidades, los antígenos de togavirus se seleccionan de E1, E2 o E3. Los virus de rubeola comercialmente disponibles incluyen un virus adaptado al frío, vivo, típicamente en combinación con vacunas de paperas y sarampión (MMR, por sus siglas en inglés).

25 **Flavivirus:** Los antígenos virales incluyen, pero no se limitan a, aquellos derivados de un Flavivirus, tal como virus de encefalitis transmitida por garrafa (TBE, por sus siglas en inglés), virus de Dengue (tipos 1, 2, 3 o 4), virus de Fiebre Amarilla, virus de encefalitis Japonesa, virus de Bosque de Kyasanur, virus de encefalitis del Oeste del Nilo, virus de encefalitis de St. Louis, virus de encefalitis de primavera-verano Ruso, virus de encefalitis de Powassan. En ciertas modalidades, los antígenos de flavivirus se seleccionan de PrM, M, C, E, NS-1, NS-2a, NS2b, NS3, NS4a, NS4b, y NS5. En ciertas modalidades, los antígenos de flavivirus se seleccionan de PrM, M y E. La vacuna de TBE comercialmente disponible incluye vacunas de virus inactivados. En ciertas modalidades, los antígenos se formulan en partículas tipo virus (VLP).

30 **Pestivirus:** Los antígenos virales incluyen, pero no se limitan a, aquellos derivados de un Pestivirus, tal como diarrea viral Bovina (BVDV, por sus siglas en inglés), fiebre porcina Clásica (CSFV, por sus siglas en inglés) o enfermedad de la Frontera (BDV, por sus siglas en inglés).

35 **Hepadnavirus:** Los antígenos virales incluyen, pero no se limitan a, aquellos derivados de un Hepadnavirus, tal como virus de Hepatitis B. En ciertas modalidades, los antígenos de hepadnavirus se seleccionan de antígenos de superficie (L, M y S), antígenos de núcleo (HBc, HBe). Las vacunas de HBV comercialmente disponibles incluyen vacunas de subunidades que comprenden la proteína de antígeno S de superficie.

40 **Virus de Hepatitis C:** Los antígenos virales incluyen, pero no se limitan a, aquellos derivados de un virus de Hepatitis C (HCV, por sus siglas en inglés). En ciertas modalidades, los antígenos de HCV se seleccionan de uno o más de la poliproteína E1, E2, E1/E2, NS345, poliproteína de núcleo NS 345, núcleo, y/o péptidos de las regiones no estructurales. En ciertas modalidades, los antígenos de virus de Hepatitis C incluyen uno o más de lo siguiente: proteína E1 y/o E2 de HCV proteínas, complejos de heterodímero E1/E2, proteínas de núcleo y proteínas no estructurales, o fragmentos de estos antígenos, en los que las proteínas no estructurales se pueden modificar adicionalmente para remover la actividad enzimática pero retienen la inmunogenicidad. En ciertas modalidades, los antígenos se formulan en partículas tipo virus (VLP).

45 **Rhabdovirus:** Los antígenos virales incluyen, pero no se limitan a, aquellos derivados de un Rabdovirus, tal como un Lyssavirus (virus de Rabia) y Vesiculovirus (VSV). Los antígenos de Rabdovirus se pueden seleccionar de glicoproteína (G), nucleoproteína (N), proteína grande (L), proteínas no estructurales (NS, por sus siglas en inglés). La vacuna de virus de rabia comercialmente disponible comprende virus aniquilados cultivados en células diploides humanas o células pulmonares de rhesus fetal.

50 **Caliciviridae:** Los antígenos virales incluyen, pero no se limitan a, aquellos derivados de Calciviridae, tal como virus de Norwalk, y Virus tipo Norwalk, tal como Virus de Hawaii y Virus de Montaña Nevada. En ciertas modalidades, los antígenos se formulan en partículas tipo virus (VLP).

55 **Coronavirus:** Los antígenos virales incluyen, pero no se limitan a, aquellos derivados de un Coronavirus, SARS, coronavirus Respiratorio humano, Bronquitis infecciosa aviar (IBV, por sus siglas en inglés), virus de hepatitis de Ratón (MHV, por sus siglas en inglés), y virus de gastroenteritis transmisible porcina (TGEV, por sus siglas en inglés). En ciertas modalidades, los antígenos de coronavirus se seleccionan de glicoproteína de espiga (S), de envoltura (E), de matriz (M), de nucleocápsida (N), y de Hemaglutinina-esterasa (HE). En ciertas modalidades, el

antígeno de coronavirus se deriva de un virus de SARS. En ciertas modalidades, el coronavirus se deriva de un antígeno viral de SARS descrito en WO 04/92360.

Retrovirus: Los antígenos virales incluyen, pero no se limitan a, aquellos derivados de un Retrovirus, tal como un Oncovirus, un Lentivirus o un Espumavirus. En ciertas modalidades, los antígenos de oncovirus se derivan de HTLV-1, HTLV-2 o HTLV-5. En ciertas modalidades, los antígenos de lentivirus se derivan de VIH-1 o VIH-2. En ciertas modalidades, los antígenos se derivan de los subtipos de VIH-1 (o clades), que incluyen, pero no limitado a, los subtipos (o clades) A, B, C, D, F, G, H, J, K, O de VIH-1. En otras modalidades, los antígenos se derivan de las formas recombinantes en circulación (CRF, por sus siglas en inglés) de VIH-1, que incluyen, pero no se limitan a, A/B, A/E, A/G, A/G/I, etc. En ciertas modalidades, los antígenos de retrovirus se seleccionan a partir de gag, pol, env, tax, tat, rex, rev, nef, vif, vpu, y vpr. En ciertas modalidades, los antígenos de VIH se seleccionan a partir de gag (p24gag y p55gag), env (gp160 y gp41), pol, tat, nef, rev vpu, miniproteínas, (preferentemente p55 gag y gp140v suprimir). En ciertas modalidades, los antígenos de VIH se derivan de una o más de las siguientes cepas: VIH_{IIIb}, VIH_{SF2}, VIH_{LAV}, VIH_{LAI}, VIH_{MN}, VIH-1_{CM235}, VIH-1_{US4}, VIH-1_{SF162}, VIH-1_{TV1}, VIH-1_{MJ4}. En ciertas modalidades, los antígenos se derivan de los retrovirus humanos endógenos, que incluyen, pero no se limitan a, HERV-K (HERV-K "antiguo" y HERV-K "nuevo").

Reovirus: Los antígenos virales incluyen, pero no se limitan a, aquellos derivados de un Reovirus, tal como un Ortoareovirus, un Rotavirus, un Orbivirus, o un Coltivirus. En ciertas modalidades, los antígenos de reovirus se seleccionan de proteínas estructurales λ1, λ2, λ3, μ1, μ2, σ1, σ2, o σ3, o proteínas no estructurales σNS, μNS, o σ1s. En ciertas modalidades, los antígenos de reovirus se derivan de un Rotavirus. En ciertas modalidades, los antígenos de rotavirus se seleccionan de VP1, VP2, VP3, VP4 (o el producto escindido VP5 y VP8), NSP 1, VP6, NSP3, NSP2, VP7, NSP4, o NSP5. En ciertas modalidades, los antígenos de rotavirus incluyen VP4 (o el producto escindido VP5 y VP8), y VP7.

Parvovirus: Los antígenos virales incluyen, pero no se limitan a, aquellos derivados de un Parvovirus, tal como Parvovirus B19. En ciertas modalidades, los antígenos de Parvovirus se seleccionan de VP-1, VP-2, VP-3, NS-1 y NS-2. En ciertas modalidades, el antígeno de Parvovirus es la proteína de cápsida VP1 o VP-2. En ciertas modalidades, los antígenos se formulan en partículas tipo virus (VLP).

Virus de hepatitis Delta (HDV, por sus siglas en inglés): Los antígenos virales incluyen, pero no se limitan a, aquellos derivados de HDV, particularmente δ-antígeno de HDV.

Virus de Hepatitis E (HEV, por sus siglas en inglés): Los antígenos virales incluyen, pero no se limitan a, aquellos derivados de HEV.

Virus de Hepatitis G (HGV, por sus siglas en inglés): Los antígenos virales incluyen, pero no se limitan a, aquellos derivados de HGV.

Herpesvirus Humano: Los antígenos virales incluyen, pero no se limitan a, aquellos derivados de un Herpesvirus Humano, tal como, sólo a manera de ejemplo, Virus de Herpes Simplex (HSV), virus de Varicela-zoster (VZV), virus de Epstein-Barr (EBV), Citomegalovirus (CMV), Herpesvirus Humano 6 (HHV6), Herpesvirus Humano 7 (HHV7), y Herpesvirus Humano 8 (HHV8). En ciertas modalidades, los antígenos de Herpesvirus Humano se seleccionan de proteínas tempranas inmediatas (α), proteínas tempranas (β), y proteínas tardías (γ). En ciertas modalidades, los antígenos de HSV se derivan de las cepas de HSV-1 o HSV-2. En ciertas modalidades, los antígenos de HSV se seleccionan de glicoproteínas gB, gC, gD y gH, proteína de fusión (gB), o proteínas de inmunoescape (gC, gE, o gI). En ciertas modalidades, los antígenos de VZV se seleccionan de proteínas de núcleo, de nucleocápsida, de tegumento, o de envoltura. Una vacuna de VZV atenuada viva está comercialmente disponible. En ciertas modalidades, los antígenos de EBV se seleccionan de las proteínas de antígeno temprano (EA, por sus siglas en inglés), antígeno de cápsida viral (VCA), y glicoproteínas de antígeno de membrana (MA, por sus siglas en inglés). En ciertas modalidades, los antígenos de CMV se seleccionan de proteínas de cápsida, glicoproteínas de envoltura (tal como gB y gH), y proteínas tegumento. En otras modalidades, los antígenos de CMV se pueden seleccionar de una o más de las siguientes proteínas: pp65, IE1, gB, gD, gH, gL, gM, gN, gO, UL128, UL129, gUL130, UL150, UL131, UL33, UL78, US27, US28, RL5A, RL6, RL10, RL11, RL12, RL13, UL1, UL2, UL4, UL5, UL6, UL7, UL8, UL9, UL10, UL11, UL14, UL15A, UL16, UL17, UL18, UL22A, UL38, UL40, UL41A, UL42, UL116, UL119, UL120, UL121, UL124, UL132, UL147A, UL148, UL142, UL144, UL141, UL140, UL135, UL136, UL138, UL139, UL133, UL135, UL148A, UL148B, UL148C, UL148D, US2, US3, US6, US7, US8, US9, US10, US11, US12, US13, US14, US15, US16, US17, US18, US19, US20, US21, US29, US30 y US34A. Los antígenos de CMV también pueden ser fusiones de una o más proteínas de CMV, tal como, sólo a manera de ejemplo, pp65/IE1 (Reap y col., Vaccine (2007) 25:7441-7449). En ciertas modalidades, los antígenos se formulan en partículas tipo virus (VLP).

Papovavirus: Los antígenos incluyen, pero no se limitan a, aquellos derivados de Papovavirus, tal como virus de papiloma y virus de Polioma. En ciertas modalidades, los virus de Papiloma incluyen los serotipos 1, 2, 4, 5, 6, 8, 11, 13, 16, 18, 31, 33, 35, 39, 41, 42, 47, 51, 57, 58, 63 y 65 de HPV. En ciertas modalidades, los antígenos de HPV se derivan de serotipos 6, 11, 16 o 18. En ciertas modalidades, los antígenos de HPV se seleccionan de proteínas de cápsida (L1) y (L2), o E1 - E7, o fusiones de las mismas. En ciertas modalidades, los antígenos de HPV se formulan en partículas tipo virus (VLP). En ciertas modalidades, los virus de Poliomavirus incluyen virus de BK y virus de JK.

En ciertas modalidades, los antígenos de Poliomavirus se seleccionan de VP1, VP2 o VP3.

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

Adicionalmente se proporcionan antígenos, composiciones, procedimientos, y microbios incluidos en *Vaccines*, 4th Edition (Plotkin y Orenstein ed. 2004); *Medical Microbiology* 4th Edition (Murray y col. ed. 2002); *Virology*, 3rd Edition (W.K. Joklik ed. 1988); *Fundamental Virology*, 2nd Edition (B.N. Fields y D.M. Knipe, eds. 1991), que se completan en unión con las composiciones inmunogénicas proporcionadas en el presente documento.

10 Antígenos Fúngicos

Los antígenos fúngicos para el uso en las composiciones inmunogénicas proporcionadas en el presente documento incluyen, pero no se limitan a, aquellos derivados de uno o más de los hongos expuestos a continuación.

Los antígenos fúngicos se obtienen a partir de Dermatophytes, que incluyen: *Epidermophyton floccusum*, *Microsporum audouini*, *Microsporum canis*, *Microsporum distortum*, *Microsporum equinum*, *Microsporum gypseum*, *Microsporum nanum*, *Trichophyton concentricum*, *Trichophyton equinum*, *Trichophyton gallinae*, *Trichophyton gypseum*, *Trichophyton megnini*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Trichophyton quinckeanum*, *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton schoenleinii*, *Trichophyton tonsurans*, *Trichophyton verrucosum*, *T. verrucosum* var. album, var. discoides, var. ochraceum, *Trichophyton violaceum*, y/o *Trichophyton faviforme*; y

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

En ciertas modalidades, el procedimiento para producir una proteína fúngica incluye un procedimiento en el que una fracción solubilizada extraída y separada de una fracción insoluble obtenible de células fúngicas de las cuales se ha removido sustancialmente la pared celular o al menos se ha removido parcialmente, caracterizado en que el procedimiento comprende el paso de: obtener células fúngicas vivas; obtener células fúngicas de las cuales se ha removido sustancialmente o al menos se ha removido parcialmente la pared celular; rafaguear las células fúngicas de las cuales se ha removido sustancialmente o se ha removido parcialmente la pared celular; obtener una fracción insoluble; y extraer y separar una fracción solubilizada de la fracción insoluble.

40 Antígenos/Patógenos de Protazoarios

Los antígenos/patógenos de Protazoarios para el uso en las composiciones inmunogénicas proporcionadas en el presente documento incluyen, pero no se limitan a, aquellos obtenidos a partir de uno o más de los siguientes protozoarios: *Entamoeba histolytica*, *Giardia lamblia*, *Cryptosporidium parvum*, *Cyclospora cayatanensis* y *Toxoplasma*.

45 Antígenos/Patógenos Vegetales

Los antígenos/patógenos vegetales para el uso en las composiciones inmunogénicas proporcionadas en el presente documento incluyen, pero no se limitan a, aquellos obtenidos a partir de *Ricinus communis*.

Antígenos de STD

En ciertas modalidades, las composiciones inmunogénicas proporcionadas en el presente documento incluyen uno o más antígenos derivados de una enfermedad de transmisión sexual (STD, por sus siglas en inglés). En ciertas modalidades, estos antígenos proporcionan la profilaxis para las STD tal como clamidia, herpes genital, hepatitis (tal como HCV), verrugas genitales, gonorrea, sífilis y/o cancroide. En otras modalidades, estos antígenos proporcionan terapia para estas STD tal como clamidia, herpes genital, hepatitis (tal como HCV), verrugas genitales, gonorrea, sífilis y/o cancroide. Estos antígenos se derivan de una o más STD virales o bacterianas. En ciertas modalidades, los antígenos de STD virales se derivan de VIH, virus de herpes simplex (HSV-1 y HSV-2), virus del papiloma humano (HPV, por sus siglas en inglés), y hepatitis (HCV). En ciertas modalidades, los antígenos de STD bacterianos se

derivan de *Neisseria gonorrhoeae*, *Chlamydia trachomatis*, *Treponema pallidum*, *Haemophilus ducreyi*, *E. coli*, y *Streptococcus agalactiae*. Los ejemplos de antígenos específicos obtenidos a partir de estos patógenos se describen anteriormente.

Antígenos Respiratorios

- 5 En ciertas modalidades, las composiciones inmunogénicas proporcionadas en el presente documento incluyen uno o más antígenos derivados de un patógeno que provoca enfermedad respiratoria. Sólo a manera de ejemplo, estos antígenos respiratorios se derivan de un virus respiratorio tal como Ortomixovirus (influenza), Pneumovirus (RSV), Paramixovirus (PIV), Morbillivirus (sarampión), Togavirus (Rubeola), VZV, y Coronavirus (SARS). En ciertas modalidades, los antígenos respiratorios se derivan de una bacteria que provoca enfermedad respiratoria tal como, a 10 manera de ejemplo únicamente, *Streptococcus pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bordetella pertussis*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydia pneumoniae*, *Bacillus anthracis*, y *Moraxella catarrhalis*. Los ejemplos de antígenos específicos obtenidos a partir de estos patógenos se describen anteriormente.

Antígenos de Vacunas Pediátricas

- 15 En ciertas modalidades, las composiciones inmunogénicas proporcionadas en el presente documento incluyen uno o más antígenos adecuados para el uso en sujetos pediátricos. Los sujetos pediátricos típicamente son menores de aproximadamente 3 años de edad, o menores de aproximadamente 2 años de edad, o menos de aproximadamente 1 año de edad. Los antígenos pediátricos se administran múltiples veces durante el transcurso de 6 meses, 1, 2 o 3 años. Los antígenos pediátricos se derivan de un virus que puede tener como objetivo poblaciones pediátricas y/o un 20 virus del cual son susceptibles a infección las poblaciones pediátricas. Los antígenos virales pediátricos incluyen, pero no se limitan a, antígenos derivados de uno o más de Ortomixovirus (influenza), Pneumovirus (RSV), Paramixovirus (PIV y Paperas), Morbillivirus (sarampión), Togavirus (Rubeola), Enterovirus (polio), HBV, Coronavirus (SARS), y virus de Varicela-zoster (VZV), virus de Epstein Barr (EBV). Los antígenos bacterianos pediátricos incluyen antígenos derivados de uno o más de *Streptococcus pneumoniae*, *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pyogenes* (Estreptococo de Grupo A), *Moraxella catarrhalis*, *Bordetella pertussis*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium tetani* (Tétanos), *Corynebacterium diphtheriae* (Difteria), *Haemophilus influenzae B* (Hib), *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus agalactiae* (Estreptococo de Grupo B), y *E. coli*. Los ejemplos de antígenos específicos obtenidos a partir de estos patógenos se describen anteriormente.

Antígenos Adecuados Para el Uso en Individuos de Edad Avanzada o Inmunocomprometidos

- 30 En ciertas modalidades, las composiciones inmunogénicas proporcionadas en el presente documento incluyen uno o más antígenos adecuados para el uso en individuos de edad avanzada o inmunocomprometidos. Estos individuos pueden necesitar ser vacunados más frecuentemente, con mayores dosis o con formulaciones con adyuvante para mejorar su respuesta inmunitaria a los antígenos que se dirigen como objetivo. Los antígenos que se dirigen como objetivo para el uso en individuos de edad avanzada o inmunocomprometidos incluyen antígenos derivados de uno o más de los siguientes patógenos: *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes* (Estreptococo Grupo A), *Moraxella catarrhalis*, *Bordetella pertussis*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Clostridium tetani* (Tétano), *Corynebacterium diphtheriae* (Difteria), *Haemophilus influenzae B* (Hib), *Pseudomonas aeruginosa*, *Legionella pneumophila*, *Streptococcus agalactiae* (Estreptococo Grupo B), *Enterococcus faecalis*, *Helicobacter pylori*, *Chlamydia pneumoniae*, Ortomixovirus (influenza), Pneumovirus (RSV), Paramixovirus (PIV y Paperas), Morbillivirus (sarampión), Togavirus (Rubeola), Enterovirus (polio), HBV, Coronavirus (SARS), virus de Varicela-zoster (VZV), virus de Epstein Barr (EBV), Citomegalovirus (CMV). Los ejemplos de antígenos específicos obtenidos a partir de estos patógenos se describen anteriormente.

Antígenos Adecuados para el Uso en Vacunas de Adolescentes

- 45 En ciertas modalidades, las composiciones inmunogénicas proporcionadas en el presente documento incluyen uno o más antígenos adecuados para el uso en sujetos adolescentes. Los adolescentes están en necesidad de un refuerzo de un antígeno pediátrico previamente administrado. Los antígenos pediátricos que son adecuados para el uso en adolescentes se describen anteriormente. Adicionalmente, se seleccionan como objetivo a los adolescentes para recibir antígenos derivados de un patógeno de STD a fin de asegurar inmunidad protectora o terapéutica antes de empezar la actividad sexual. Los antígenos de STD que son adecuados para el uso en adolescentes se describen 50 anteriormente.

Antígenos Tumorales

- 55 En ciertas modalidades, se usa un antígeno tumoral o antígeno de cáncer en unión con las composiciones inmunogénicas proporcionadas en el presente documento. En ciertas modalidades, los antígenos tumorales son un antígeno tumoral que contiene péptidos, tal como un antígeno tumoral de polipéptido o antígenos tumorales de glicoproteína. En ciertas modalidades, el antígeno tumoral es un antígeno tumoral que contiene sacárido, tal como un antígeno tumoral de glicolípido o un antígeno tumoral de gangliósido. En ciertas modalidades, el antígeno tumoral es un antígeno tumoral que contiene polinucleótido que expresa un antígeno tumoral que contiene polipéptido como por ejemplo, una construcción de vector de ARN o una construcción de vector de ADN, tal como ADN de plásmido.

Los antígenos tumorales apropiados para el uso en unión con las composiciones inmunogénicas proporcionadas en el presente documento abarcan una amplia variedad de moléculas, tal como (a) antígenos tumorales que contienen polipéptidos, que incluyen polipéptidos (que pueden variar, por ejemplo, de 8-20 aminoácidos de longitud, aunque también son comunes longitudes fuera de este intervalo), lipopolipéptidos y glicoproteínas, (b) antígenos tumorales que contienen sacáridos, que incluyen polisacáridos, mucinas, gangliósidos, glicolípidos y glicoproteínas, y (c) polinucleótidos que expresan polipéptidos antigenicos.

En ciertas modalidades, los antígenos tumorales son, por ejemplo, (a) moléculas de longitud completa asociadas con células de cáncer, (b) homólogos y formas modificadas de los mismos, que incluyen moléculas con porciones suprimidas, adicionadas y/o sustituidas, y (c) fragmentos de los mismos. En ciertas modalidades, los antígenos tumorales se proporcionan en forma recombinante. En ciertas modalidades, los antígenos tumorales incluyen, por ejemplo, antígenos restringidos a la clase I reconocidos por los linfocitos CD8+ o antígenos restringidos a la clase II reconocidos por linfocitos CD4+.

En ciertas modalidades, los antígenos tumorales incluyen, pero no se limitan a, (a) antígenos de cáncer de testículos tal como los polipéptidos de la familia NY-ESO-1, SSX2, SCP1 así como RAGE, BAGE, GAGE y MAGE, por ejemplo, GAGE-1, GAGE-2, MAGE-1, MAGE-2, MAGE-3, MAGE-4, MAGE-5, MAGE-6, y MAGE-12 (que se pueden usar, por ejemplo, para afrontar tumores de melanoma, de pulmón, de cabeza y cuello, NSCLC, de mama, gastrointestinales, y de vejiga), (b) antígenos mutados, por ejemplo, p53 (asociados con varios tumores sólidos, por ejemplo, cáncer colorectal, de pulmón y de cabeza y cuello), p21/Ras (asociado con, por ejemplo, melanoma, cáncer pancreático y cáncer colorectal), CDK4 (asociado con, por ejemplo, melanoma), MUM1 (asociado con, por ejemplo, melanoma), caspasa-8 (asociado con, por ejemplo, cáncer de cabeza y cuello), CIA 0205 (asociado con, por ejemplo, cáncer de vejiga), HLA-A2-R1701, beta-catenina (asociado con, por ejemplo, melanoma), TCR (asociado con, por ejemplo, linfoma no de Hodgkins de células T), BCR-abl (asociado con, por ejemplo, leucemia mielógena crónica), triosefósfato-isomerasa, KIA 0205, CDC-27, y LDLR-FUT, (c) antígenos sobreexpresados, por ejemplo, Galectina 4 (asociada con, por ejemplo, cáncer colorectal), Galectina 9 (asociado con, por ejemplo, enfermedad de Hodgkin), proteína 3 (asociada con, por ejemplo, leucemia mielógena crónica), WT 1 (asociado con, por ejemplo, varias leucemias), anhidrasa carbónica (asociada con, por ejemplo, cáncer renal), aldolasa A (asociada con, por ejemplo, cáncer de pulmón), PRAME (asociada con, por ejemplo, melanoma), HER-2/neu (asociada con, por ejemplo, cáncer de mama, colon, pulmón y ovario), alfa-fetoproteína (asociada con, por ejemplo, hepatoma), KSA (asociada con, por ejemplo, cáncer colorectal), gastrina (asociada con, por ejemplo, cáncer pancreático y gástrico), 30 proteína catalítica de telomerasa, MUC-1 (asociada con, por ejemplo, cáncer de mama y ovario), G-250 (asociada con, por ejemplo, carcinoma de células renales), p53 (asociado con, por ejemplo, cáncer de mama, de colon), y antígeno carcinoembriónico (asociado con, por ejemplo, cáncer de mama, cáncer de pulmón, y cánceres del tracto gastrointestinal tal como cáncer colorectal), (d) antígenos compartidos, por ejemplo, antígenos de diferenciación de melanoma-melanocito tal como MART-1/Melan A, gp100, MC1R, receptor de hormona estimuladora de melanocitos, tirosinasa, proteína-1 relacionada tirosinasa/TRP1 y proteína-2 relacionada a tirosinasa/TRP2 (asociada con, por ejemplo, melanoma), (e) antígenos asociados a próstata tal como PAP, PSA, PSMA, PSH-P1, PSM-P1, PSM-P2, asociados con por ejemplo, cáncer de próstata, (f) idiotipos de inmunoglobulina (asociados con mieloma y linfomas de células B, a manera de ejemplo), y (g) otros antígenos tumorales, tal como antígenos que contienen polipéptidos y sacáridos que incluyen (i) glicoproteínas tal como sialil Tn y sialil Le^x (asociadas con, por ejemplo, cáncer de mama y colorectal) así como varias mucinas; las glicoproteínas se acoplan a una proteína portadora (por ejemplo, MUC-1 se acopla a KLH); (ii) lipopolipéptidos (por ejemplo, MUC-1 enlazado a una porción de lípido); (iii) polisacáridos (por ejemplo, hexasacárido sintético Globo H), que se acoplan a proteínas portadoras (por ejemplo, a KLH), (iv) gangliósidos tal como GM2, GM12, GD2, GD3 (asociados con, por ejemplo, cáncer de cerebro, cáncer de pulmón, melanoma), que también se acoplan a proteínas portadoras (por ejemplo, KLH).

En ciertas modalidades, los antígenos tumorales incluyen, pero no se limitan a, p15, Hom/Mel-40, H-Ras, E2A-PRL, H4-RET, IGH-IGK, MYL-RAR, antígenos de virus de Epstein Barr, EBNA, antígenos de virus del papiloma humano (HPV), incluyendo E6 y E7, antígenos de virus de hepatitis B y C, antígenos de virus linfotróficos de células T humanas, TSP-180, p185erbB2, p180erbB-3, c-met, mn-23H1, TAG-72-4, CA 19-9, CA 72-4, CAM 17,1, NuMa, K-ras, p16, TAGE, PSCA, CT7, 43-9F, 5T4, 791 Tgp72, beta-HCG, BCA225, BTAA, CA 125, CA 15-3 (CA 27,29\BCAA), CA 195, CA 242, CA-50, CAM43, CD68\KP1, CO-029, FGF-5, Ga733 (EpCAM), HTgp-175, M344, MA-50, MG7-Ag, MOV18, NB/70K, NY-CO-1, RCAS1, SDCCAG16, TA-90 (proteína de unión a Mac-2\proteína asociada a ciclofilina C), TAAL6, TAG72, TLP, TPS, y similares.

Los antígenos que contienen polinucleótidos usados en unión con las composiciones inmunogénicas proporcionadas en el presente documento incluyen polinucleótidos que codifican para antígenos de cáncer de polipéptido tal como aquellos listados anteriormente. En ciertas modalidades, los antígenos que contienen polinucleótidos incluyen, pero no se limitan a, construcciones de vector de ADN o ARN, tal como vectores de plásmido (por ejemplo, pCMV), que son capaces de expresar antígenos de cáncer de polipéptido *in vivo*.

En ciertas modalidades, los antígenos tumorales se derivan de componentes celulares mutados o alterados. Después de la alteración, los componentes celulares no realizan por más tiempo sus funciones reguladoras, y por lo tanto la célula puede experimentar crecimiento descontrolado. Los ejemplos representativos de componentes celulares alterados incluyen, pero no se limitan a, ras, p53, Rb, proteína alterada codificada por el gen tumoral de Wilms, ubiquitina, mucina, proteína codificada por los genes DCC, APC, y MCC, así como receptores o estructuras

tipo receptor tal como neu, receptor de hormona tiroide, receptor de factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF, por sus siglas en inglés), receptor de insulina, receptor de factor de crecimiento epidérmico (EGF, por sus siglas en inglés), y receptor de factor estimulador de colonia (CSF, por sus siglas en inglés).

- 5 Adicionalmente, los antígenos bacterianos y virales, se usan en unión con las composiciones inmunogénicas proporcionadas en el presente documento para el tratamiento de cáncer. En ciertas modalidades, las proteínas portadoras, tal como CRM₁₉₇, toxoide de tétano, o antígeno de *Salmonella typhimurium* se usan en unión/conjugación con compuestos proporcionados en el presente documento para el tratamiento de cáncer. Las terapias de combinación de antígeno de cáncer mostrarán eficiencia incrementada y biodisponibilidad en comparación con las terapias existentes.
- 10 En ciertas modalidades, las composiciones inmunogénicas que contienen al menos un compuesto de la Fórmula (I) incluyen sacáridos capsulares de al menos dos de los serogrupos A, C, W135 y Y de *Neisseria meningitidis*. En otras modalidades, estas vacunas comprenden adicionalmente un antígeno de uno o más de lo siguiente: (a) N. meningitidis de serogrupo B; (b) *Haemophilus influenzae* tipo B; y/o (c) *Streptococcus pneumoniae*.
- 15 En ciertas modalidades las composiciones inmunogénicas que contienen al menos un compuesto de la Fórmula (I) incluyen los serogrupos C, W135 & Y de N. meningitidis. En ciertas modalidades las composiciones inmunogénicas que contienen al menos un compuesto de la Fórmula (I) incluyen los serogrupos A, C, W135 & Y de N. meningitidis. En ciertas modalidades las composiciones inmunogénicas que contienen al menos un compuesto de la Fórmula (I) incluyen los serogrupos B, C, W135 & Y de N. meningitidis. En ciertas modalidades las composiciones inmunogénicas que contienen al menos un compuesto de la Fórmula (I) incluyen los serogrupos A, B, C, W135 & Y de N. meningitidis. En ciertas modalidades las composiciones inmunogénicas que contienen al menos un compuesto de la Fórmula (I) incluyen H. influenzae tipo B y los serogrupos C, W135 & Y de N. meningitidis. En ciertas modalidades las composiciones inmunogénicas que contienen al menos un compuesto de la Fórmula (I) incluyen H. influenzae tipo B y los serogrupos A, C, W135 & Y de N. meningitidis. En ciertas modalidades las composiciones inmunogénicas que contienen al menos un compuesto de la Fórmula (I) incluyen H. influenzae tipo B y serogrupos B, C, W135 & Y de N. meningitidis. En ciertas modalidades las composiciones inmunogénicas que contienen al menos un compuesto de la Fórmula (I) incluyen H. influenzae tipo B y serogrupos A, B, C, W135 & Y de N. meningitidis. En ciertas modalidades las composiciones inmunogénicas que contienen al menos un compuesto de la Fórmula (I) incluyen S. pneumoniae y serogrupos C, W135 & Y de N. meningitidis. En ciertas modalidades las composiciones inmunogénicas que contienen al menos un compuesto de la Fórmula (I) incluyen S. pneumoniae y serogrupos A, C, W135 & Y de N. meningitidis. En ciertas modalidades las composiciones inmunogénicas que contienen al menos un compuesto de la Fórmula (I) incluyen S. pneumoniae y serogrupos B, C, W135 & Y de N. meningitidis. En ciertas modalidades las composiciones inmunogénicas que contienen al menos un compuesto de la Fórmula (I) incluyen S. pneumoniae y serogrupos A, B, C, W135 & Y de N. meningitidis. En ciertas modalidades las composiciones inmunogénicas que contienen al menos un compuesto de la Fórmula (I) incluyen H. influenzae tipo B, S. pneumoniae y serogrupos C, W135 & Y de N. meningitidis. En ciertas modalidades las composiciones inmunogénicas que contienen al menos un compuesto de la Fórmula (I) incluyen H. influenzae tipo B, S. pneumoniae y serogrupos A, C, W135 & Y de N. meningitidis. En ciertas modalidades las composiciones inmunogénicas que contienen al menos un compuesto de la Fórmula (I) incluyen H. influenzae tipo B, S. pneumoniae y serogrupos B, C, W135 & Y de N. meningitidis. En ciertas modalidades las composiciones inmunogénicas que contienen al menos un compuesto de la Fórmula (I) incluyen H. influenzae tipo B, S. pneumoniae y serogrupos A, B, C, W135 & Y de N. meningitidis. En ciertas modalidades las composiciones inmunogénicas que contienen al menos un compuesto de la Fórmula (I) incluyen H. influenzae tipo B, S. pneumoniae y serogrupos A, B, C, W135 & Y de N. meningitidis.

5. Composiciones Farmacéuticas y Administración

En otro aspecto, la presente invención proporciona una composición farmacéutica que comprende la suspensión homogénea de SMIP, y puede comprender adicionalmente uno o más portadores, diluyentes o excipientes farmacéuticamente aceptables.

- 45 Las composiciones farmacéuticas proporcionadas en el presente documento se pueden administrar de manera individual o en combinación con uno o más agentes terapéuticos adicionales. El procedimiento de administración incluye, pero no se limita a, administración oral, administración rectal, administración parenteral, administración intravenosa, administración intravitrreal, administración intramuscular, inhalación, administración intranasal, administración tópica, administración oftálmica o administración ótica.
- 50 La cantidad terapéuticamente efectiva de una SMIP variará dependiendo de, entre otras cosas, la enfermedad indicada, la severidad de la enfermedad, la edad y la salud relativa del sujeto, la potencia del compuesto administrado, el modo de administración y el tratamiento deseado.

55 En otras modalidades, la suspensión homogénea descrita en el presente documento, la composición inmunogénica descrita en el presente documento, o una composición farmacéutica de la misma, se administra en combinación con uno o más agentes terapéuticos adicionales. Los agentes terapéuticos adicionales pueden incluir, pero no se limitan a antibióticos o agentes antibacterianos, agentes antieméticos, agentes antifúngicos, agentes antiinflamatorios, agentes antivirales, agentes inmunomoduladores, citocinas, antidepresivos, hormonas, agentes de alquilación, antimetabolitos, antibióticos antitumorales, agentes antimitóticos, inhibidores de topoisomerasa, agentes citostáticos, agentes anti-invasión, agentes anti-angiogénicos, inhibidores de la función del factor de crecimiento de replicación

viral, inhibidores de enzimas virales, agentes anti-cáncer, α -interferones, β -interferones, ribavirina, hormonas, y otros moduladores de receptores tipo Toll, inmunoglobulinas (Ig), y anticuerpos que modulan la función de Ig (tal como anti-IgE (omalizumab)).

En ciertas modalidades, las composiciones farmacéuticas proporcionadas en el presente documento se usan en el tratamiento de enfermedades infecciosas que incluyen, pero no se limitan a, enfermedades virales tal como verrugas genitales, verrugas comunes, verrugas plantares, virus sincitial respiratorio (RSV), hepatitis B, hepatitis C, virus de Dengue, virus de herpes simplex (sólo a manera de ejemplo, HSV-I, HSV-II, CMV, o VZV), molusco contagioso, vaccinia, viruela, lentivirus, virus de inmunodeficiencia humana virus (VIH), virus de papiloma humano (HPV), citomegalovirus (CMV), virus de varicela zoster (VZV), rinovirus, enterovirus, adenovirus, coronavirus (por ejemplo, SARS), influenza, para-influenza, virus de paperas, virus de sarampión, papovavirus, hepadnavirus, flavivirus, retrovirus, arenavirus (sólo a manera de ejemplo, LCM, virus de Junin, virus de Machupo, virus de Guanarito y Fiebre Lassa) y filovirus (sólo a manera de ejemplo, virus de ébola o virus de marbug).

En ciertas modalidades, las composiciones farmacéuticas proporcionadas en el presente documento se usan en el tratamiento de infecciones bacterianas, fúngicas y protozoarias que incluyen, pero no se limitan a tuberculosis y mycobacterium avium, lepra; pneumocystis carni, criptosporidiosis, histoplasmosis, toxoplasmosis, infección por tripanosoma, leishmaniasis, infecciones provocadas por bacterias de los géneros *Escherichia*, *Enterobacter*, *Salmonella*, *Staphylococcus*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Streptococcus*, y *Chlamydia*, e infecciones fúngicas tal como *candidiasis*, *aspergillosis*, *histoplasmosis*, *cryptococcal meningitis*.

En ciertas modalidades, las composiciones inmunogénicas proporcionadas en el presente documento se usan en el tratamiento de enfermedades y/o trastornos respiratorios, trastornos dermatológicos, enfermedades y/o trastornos oculares, enfermedades y/o trastornos genitourinarios que incluyen, rechazo de aloinjerto, cáncer autoinmunitario y alérgico, o piel dañada o envejecida tal como cicatrización y arrugas.

En otro aspecto, la invención proporciona un procedimiento para generar una respuesta inmunitaria en un sujeto en necesidad de la misma, tal como un mamífero, que comprende administrar una cantidad efectiva de una composición inmunogénica como se desvela en el presente documento. La respuesta inmunitaria es preferentemente protectora y comprende de manera preferente anticuerpos y/o inmunidad mediada por células. El procedimiento puede formular una respuesta de refuerzo.

En otros aspectos, las suspensiones homogéneas y/o composiciones inmunogénicas proporcionadas en el presente documento se usan para inducir o potenciar una respuesta inmunitaria, por ejemplo, en el tratamiento de infecciones bacterianas, fúngicas y protozoarias que incluyen, pero no se limitan a, meningococcemia, meningitis, neumonía meningocócica, pericarditis meningocócica, miocarditis meningocócica, faringitis meningocócica, conjuntivitis meningocócica, osteomielitis meningocócica, endoftalmatitis meningocócica, uretritis meningococcal, infección por *Neisseria meningitidis*, tuberculosis y *mycobacterium avium*, lepra; *pneumocystis carni*, criptosporidiosis, histoplasmosis, toxoplasmosis, infección por tripanosoma, leishmaniasis, infecciones provocadas por bacterias de los géneros *Escherichia*, *Enterobacter*, *Salmonella*, *Staphylococcus*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Streptococcus*, y *Chlamydia*, e infecciones fúngicas tal como *candidiasis*, *aspergillosis*, *histoplasmosis*, *cryptococcal meningitis*.

En ciertas modalidades, las suspensiones homogéneas y/o composiciones inmunogénicas proporcionadas en el presente documento se usan para inducir o potenciar una respuesta inmunitaria, por ejemplo, en el tratamiento de enfermedades y/o trastornos respiratorios (por ejemplo, RSV), enfermedad meningocócica (por ejemplo, meningococcemia, meningitis, neumonía meningocócica, pericarditis meningocócica, miocarditis meningocócica, faringitis meningocócica, conjuntivitis meningocócica, osteomielitis meningocócica, endoftalmitis meningocócica, uretritis meningococcal) trastornos dermatológicos, enfermedades y/o trastornos oculares, enfermedades y/o trastornos genitourinarios que incluyen rechazo de aloinjerto, cáncer autoinmunitario y alérgico, o piel envejecida o dañada tal como cicatrización y arrugas.

En algunas modalidades preferidas, las suspensiones homogéneas y/o composiciones inmunogénicas proporcionadas en el presente documento se usan para inducir o potenciar una respuesta inmunitaria, por ejemplo, una respuesta inmunitaria protectora, contra RSV, Ébola, o *N. meningitidis*.

En algunas modalidades, la invención proporciona un procedimiento para generar o potenciar una respuesta inmunitaria, que comprende administrar una cantidad efectiva de una composición inmunogénica o una suspensión homogénea, como se describe en el presente documento, a un sujeto en necesidad de esto. La respuesta inmunitaria puede ser una respuesta inmunitaria que se presenta de forma natural, o una respuesta inmunitaria inducida, por ejemplo, inducida por inmunización.

Cuando una suspensión homogénea del compuesto de benzonafiridina de la fórmula I y II se administra para potenciar una respuesta inmunitaria inducida, se prefiere que se administre sustancialmente al mismo tiempo como el agente que induce la respuesta inmunitaria. Por ejemplo, se puede administrar una cantidad efectiva de una suspensión homogénea concurrentemente con una composición o vacuna inmunogénica, o administrar dentro de un período de aproximadamente 1 día antes o después de que se administre la composición o vacuna inmunogénica.

En ciertas modalidades, si se usa un adyuvante que contiene aluminio, puede ser deseable envasar el antígeno adsorbido en alumbre y la suspensión homogénea del compuesto de Benzoanftiridina de la fórmula I y II de forma separada. Los dos componentes se pueden combinar, por ejemplo, en el espacio de aproximadamente 72 horas antes de la administración, de modo que se reduce la adsorción del antígeno del adyuvante que contiene aluminio.

- 5 Por ejemplo, el antígeno adsorbido en alumbre y la suspensión homogénea se pueden combinar al lado de la cama del paciente. De manera preferente, el antígeno adsorbido en alumbre y la suspensión homogénea se combinan en el espacio de aproximadamente 72 horas, aproximadamente 48 horas, aproximadamente 24 horas, aproximadamente 12 horas, aproximadamente 10 horas, aproximadamente 9 horas, aproximadamente 8 horas, aproximadamente 7 horas, aproximadamente 6 horas, aproximadamente 5 horas, aproximadamente 4 horas, aproximadamente 3 horas, aproximadamente 2 horas, aproximadamente 1 hora, aproximadamente 45 minutos, aproximadamente 30 minutos, aproximadamente 15 minutos, aproximadamente 10 minutos o aproximadamente 5 minutos antes de la administración.

En ciertas modalidades, las composiciones inmunogénicas desveladas en el presente documento se pueden usar como un medicamento, por ejemplo, para el uso en aumento o mejora de una respuesta inmunitaria en un sujeto en necesidad de lo mismo, tal como un mamífero.

En ciertas modalidades, las composiciones inmunogénicas desveladas en el presente documento se pueden usar en la fabricación de un medicamento para aumentar una respuesta inmune en un sujeto que lo necesite, tal como un mamífero. La invención también proporciona un dispositivo de suministro precargado con una composición inmunogénica desvelada en el presente documento.

20 El mamífero es preferentemente un humano, pero puede ser, por ejemplo, una vaca, un cerdo, un pollo, un gato o un perro, puesto que los patógenos cubiertos en el presente documento pueden ser problemáticos a través de una amplia variedad de especies. Cuando la vacuna es para el uso profiláctico, el humano es preferentemente un niño (por ejemplo, un niño pequeño o infante) o un adolescente; cuando la vacuna es para uso terapéutico, el humano es preferentemente un adolescente o un adulto. Una vacuna propuesta para niños también se puede administrar a adultos, por ejemplo, para valorar la seguridad, dosis, inmunogenicidad, etc.

Una manera de verificar la eficiencia del tratamiento terapéutico comprende monitorizar la infección del patógeno después de la administración de las composiciones inmunogénicas desveladas en el presente documento. Una manera para verificar la eficiencia del tratamiento profiláctico comprende monitorizar las respuestas inmunitarias, de manera sistémica (tal como monitorizando el nivel de la producción de IgG1 e IgG2a) y/o de manera mucosa (tal como monitorizando el nivel de la producción de IgA), contra los antígenos incluidos en o administrados en unión con las composiciones inmunogénicas desveladas en el presente documento después de la administración de la composición inmunogénica (y el antígeno si se administran de manera separada). Típicamente, las respuestas de anticuerpos en suero específicos del antígeno se determinan después de la inmunización pero antes de la estimulación en tanto que las respuestas de anticuerpos mucosos específicos del antígeno se determinan después de la inmunización y después de la estimulación.

40 Otra manera para valorar la inmunogenicidad de las composiciones inmunogénicas desveladas en el presente documento cuando el antígeno es una proteína, es expresar las proteínas de manera recombinante para examinar sueros de pacientes o secreciones mucosas por inmunotransferencia y/o micro-arreglos. Una reacción positiva entre la proteína y la muestra de paciente indica que el paciente ha montado una respuesta inmunitaria a la proteína en cuestión. Este procedimiento también se puede usar para identificar antígenos y/o epítopos inmunodominantes dentro de los antígenos de proteína.

La eficiencia de las composiciones inmunogénicas también se puede determinar *in vivo* al estimular modelos animales apropiados de la infección del patógeno de interés.

45 La dosis puede ser por cualquier programa de dosis individual o de múltiples dosis. Se pueden usar múltiples dosis en un programa de inmunización primaria y/o en un programa de inmunización de refuerzo. En un programa de múltiples dosis, las varias dosis se pueden dar por la misma o diferente ruta, por ejemplo, una cebadura parenteral y refuerzo mucoso, una cebadura mucosa y refuerzo parenteral, etc. Las múltiples dosis se administrarán típicamente al menos con una semana de separación (por ejemplo aproximadamente 2 semanas, aproximadamente 3 semanas, aproximadamente 4 semanas, aproximadamente 6 semanas, aproximadamente 8 semanas, aproximadamente 10 semanas, aproximadamente 12 semanas, aproximadamente 16 semanas, etc.).

55 Las composiciones inmunogénicas desveladas en el presente documento que incluyen uno o más antígenos o se usan en unión con uno o más antígenos se pueden usar para tratar tanto niños como adultos. De esta manera, un sujeto humano puede ser de menos de 1 año de edad, de 1-5 años de edad, de 5-15 años de edad, de 15-55 años de edad, o al menos de 55 años de edad. Los sujetos preferidos para recibir estas composiciones inmunogénicas son los de edad avanzada (*por ejemplo*, >50 años de edad, >60 años de edad, y de manera preferente >65 años), los jóvenes (*por ejemplo*, <5 años de edad), pacientes hospitalizados, trabajadores de cuidado de la salud, personal militar y de servicio armado, mujeres embarazadas, los pacientes crónicamente enfermos o inmunodeficientes. Las composiciones inmunogénicas no son únicamente adecuadas para estos grupos, sin embargo, y se pueden usar de manera más general en una población.

Las composiciones inmunogénicas desveladas en el presente documento que incluyen uno o más antígenos o se usan en unión con uno o más antígenos se pueden administrar a pacientes sustancialmente al mismo tiempo como (por ejemplo, durante la misma consulta médica o visita a un centro de vacunación o profesional de cuidado de la salud) que otras vacunas, *por ejemplo*, sustancialmente al mismo tiempo como una vacuna de sarampión, una

- 5 vacuna de paperas, una vacuna de rubeola, una vacuna de M®, una vacuna de varicela, una vacuna de M®V, una vacuna de difteria, una vacuna de tétano, una vacuna de pertussis, una vacuna de DTP, una vacuna de *H. influenzae* tipo b conjugada, una vacuna de poliovirus inactivado, una vacuna de virus de hepatitis B, una vacuna de conjugado meningocócico (tal como una vacuna tetravalente A C W135 Y), una vacuna de virus sincitial respiratorio, etc.

10 **6. Equipos**

La invención también proporciona equipos o kits que comprenden una suspensión homogénea y una composición que comprende un antígeno en recipientes separados. Por ejemplo, el kit puede contener un primer recipiente que comprende una suspensión homogénea, y un segundo recipiente que comprende una composición que comprende un antígeno. La composición que comprende un antígeno puede estar en forma líquida o puede estar en forma 15 sólida (por ejemplo, liofilizada), como pueden ser los antígenos individuales. Los recipientes adecuados para las composiciones incluyen, por ejemplo, botellas, frascos, jeringas, y tubos de ensayo. Los recipientes se pueden formar de una variedad de materiales, que incluyen vidrio o plástico. Un recipiente puede tener un orificio de acceso estéril (por ejemplo, el recipiente puede ser una bolsa de solución intravenosa o un frasco que tiene un tapón perforable por una aguja de inyección hipodérmica).

- 20 El equipo puede comprender adicionalmente un tercer recipiente que comprende un amortiguador farmacéuticamente aceptable, tal como solución salina amortiguada con fosfato, solución de Ringer, o solución de dextrosa. También puede contener otros materiales útiles al usuario final, incluyendo otras soluciones de formulación farmacéuticamente aceptables tal como amortiguadores, diluyentes, filtros, agujas, y jeringas u otro dispositivo de administración. El equipo puede incluir adicionalmente un cuarto recipiente que comprende un adyuvante (tal como 25 un adyuvante que contiene aluminio o MF59).

El equipo también puede comprender una inserción de envase que contiene instrucciones escritas para los procedimientos para inducir inmunidad o para tratar infecciones. La inserción del envase puede ser una inserción de envase redactada no aprobada o puede ser una inserción de envase aprobada por la administración de aientos y fármacos (FDA, por sus siglas en inglés) u otro cuerpo regulador.

30 **Ejemplificación**

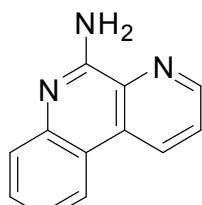
La invención que ahora se describe en general, se entenderá más fácilmente por referencia a los siguientes ejemplos, que se incluyen solamente para propósitos de ilustración de ciertos aspectos y modalidades del presente documento invención, y no se propone que limiten la invención.

Ejemplo (I): Preparación de análogos de benzo[f][1,7] naftiridin-5-amina seleccionados

- 35 Los siguientes ejemplos ilustran procedimientos para preparar ciertos compuestos útiles en las composiciones y procedimientos de la invención. La persona experta será capaz de hacer una amplia variedad de otros compuestos para el uso en los presentes procedimientos en base a estos ejemplos.

Ejemplo 1

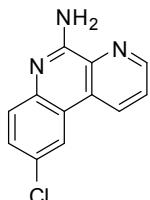
Benzo[f][1,7]naftiridin-5-amina



- 40 Una solución de ácido 2-(*terc*-butoxicarbonilamino)fenilborónico (1,0 equiv.) y 3-bromopicolino-nitrilo (1,0 equiv.) en tolueno (0,44 M) se mezcló con *tetraquis*(trifenil-fosfina)paladio (5 % en mol) y solución acuosa de carbonato de potasio 2 N (2,0 equiv.). La reacción se calentó a 100 °C y se agitó durante la noche. Después del enfriamiento a temperatura ambiente, el contenido de la reacción se diluyó con metanol al 2 % en diclorometano y agua. Las dos fases se separaron, y la capa acuosa se extrajo dos veces con metanol al 2 % en diclorometano. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO₄ anhídrico y se concentraron al vacío. El material en bruto se purificó por cromatografía instantánea en un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando acetato de etilo al 0-80 % en hexano para dar un sólido de color blanco. RMN ¹H (acetona *d*-6): δ 9,04 (d, 1H), 8,91 (d, 1H), 8,45 (d, 1H), 7,86 (dd, 1H), 7,53-7,62 (m, 2H), 7,35 (t, 1H), 6,65 (a, 2H). LRMS [M+H]⁺ = 196,1

Ejemplo 3

9-clorobenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina

Paso 1: 2-bromo-4-clorofenilcarbamato de *terc*-butilo

- 5 A una solución de 2-bromo-4-cloroanilina (1,0 equiv.) en tetrahidrofurano (0,2 M) a 0 °C en atmósfera de N₂ se le añadió gota a gota NaHMDS 1 M (2,5 equiv.). La reacción se agitó durante 15 minutos a 0 °C, y se añadió una solución de dicarbonato de di-*terc*-butilo en tetrahidrofurano. La reacción se calentó a temperatura ambiente durante la noche. El disolvente se evaporó, y el residuo resultante se detuvo con solución acuosa de HCl 0,1 N. La suspensión acuosa se extrajo dos veces con acetato de etilo. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO₄ anhídrico, y se concentraron al vacío. El material en bruto se purificó por cromatografía instantánea en un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando acetato de etilo al 0-5 % en hexano para dar el producto como un aceite de color amarillo claro.

Paso 2: 4-Cloro-2-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenil-carbamato de *terc*-butilo

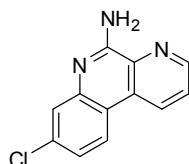
- 15 Se mezclaron 2-bromo-4-clorofenilcarbamato de *terc*-butilo (del paso 1) (1,0 equiv.), 4,4,4',4',5,5,5',5'-octa-metil-2,2'-bi(1,3,2-dioxaborolano) (1,5 equiv.), dicloro-[1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno]paladio (II) (5 %), y acetato de sodio (4,5 equiv.) se mezclaron en dioxano (0,2 M) en atmósfera de N₂. La reacción se calentó a 100 °C y se agitó durante la noche. La suspensión resultante se enfrió a temperatura ambiente, se diluyó con éter, se filtró a través de celite, y el filtrado se concentró al vacío. La mezcla en bruto se purificó por cromatografía instantánea en un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando acetato de etilo al 0-10 % en hexano para dar 4-cloro-2-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenil-carbamato de *terc*-butilo.

Paso 3: 9-clorobenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina

- Una solución de 4-cloro-2-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenil-carbamato de *terc*-butilo (del paso 2) (1,0 equiv.) y 3-bromopicolino-nitrilo (1,0 equiv.) en tolueno (0,44 M) se mezcló con *tetraquis*(trifenil-fosfina)paladio (5 % en mol) y solución acuosa de carbonato de potasio 2 N (2,0 equiv.). La reacción se calentó a 100 °C y se agitó durante la noche. Despues del enfriamiento a temperatura ambiente, el contenido de la reacción se diluyó con metanol al 2 % en diclorometano y agua. Las dos fases se separaron, y la capa acuosa se extrajo dos veces con metanol al 2 % en diclorometano. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO₄ anhídrico, y se concentraron al vacío. El producto en bruto se purificó por cromatografía instantánea en un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando acetato de etilo al 0-50 % en hexano y después se repurificó usando metanol al 0-5 % en diclorometano para dar un sólido. RMN ¹H (acetona d-6): δ 9,08 (d, 1H), 8,96 (d, 1H), 8,45 (s, 1H), 7,86-7,89 (dd, 1H), 7,60 (d, 1H), 7,54 (d, 1H), 6,78 (a, 2H). LRMS [M+H]⁺ = 230,1

Ejemplo 4

8-clorobenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina

Paso 1: 2-bromo-5-clorofenilcarbamato de *terc*-butilo

- 35 A una solución de 2-bromo-5-cloroanilina (1,0 equiv.) en tetrahidrofurano (0,2 M) a 0 °C en atmósfera de N₂ se le añadió gota a gota NaHMDS 1 M (2,5 equiv.). La reacción se agitó durante 15 minutos a 0 °C, y se añadió una solución de dicarbonato de di-*terc*-butilo en tetrahidrofurano. La reacción se calentó a temperatura ambiente durante la noche. El disolvente se evaporó, y el residuo resultante se detuvo con solución acuosa de HCl 0,1 N. La suspensión acuosa se extrajo dos veces con acetato de etilo. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO₄ anhídrico, y se concentraron al vacío. El material en bruto se purificó por cromatografía instantánea en un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando acetato de etilo al 0-5 % en hexano para dar el producto como un aceite de color amarillo claro.

Paso 2: 5-cloro-2-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenil-carbamato de *terc*-butilo

Se mezclaron 2-bromo-5-clorofenilcarbamato de *terc*-butilo (del paso 1) (1,0 equiv.), 4,4,4',4',5,5,5',5'-octa-metil-2,2'-bi(1,3,2-dioxaborolano) (1,5 equiv.), dicloro-[1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno]paladio (II) (5 %), y acetato de sodio (4,5 equiv.) en dioxano (0,2 M) en atmósfera de N₂. La reacción se calentó a 100 °C y se agitó durante la noche.

5 La suspensión resultante se enfrió a temperatura ambiente, se diluyó con éter, se filtró a través de celite, y el filtrado se concentró al vacío. La mezcla en bruto se purificó por cromatografía instantánea en un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando acetato de etilo al 0-5 % en hexano para dar 5-cloro-2-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenil-carbamato de *terc*-butilo.

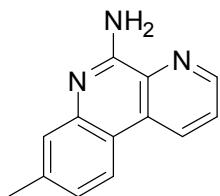
Paso 3: 8-clorobenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina

10 Una solución de 5-cloro-2-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenil-carbamato de *terc*-butilo (del paso 2) (1,0 equiv.) y 3-bromopicolino-nitrilo (1,0 equiv.) en tolueno (0,44 M) se mezcló con *tetraakis*(trifenil-fosfina)-paladio (5 % en mol) y solución acuosa de carbonato de potasio 2 N (2,0 equiv.). La reacción se calentó a 100 °C y se agitó durante la noche. Después del enfriamiento a temperatura ambiente, el contenido de la reacción se diluyó con metanol al 2 % en diclorometano y agua. Las dos fases se separaron, y la capa acuosa se extrajo dos veces con metanol al 2 % en diclorometano. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO₄ anhidro, y se concentraron al vacío. El producto en bruto se purificó por cromatografía instantánea en un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando metano al 0-5 % en diclorometano para dar un sólido semipuro, que

15 después se agitó en acetato de etilo caliente al 10 % en hexano, se filtró y se secó para dar un sólido puro. RMN ¹H (acetona d-6): δ 9,03 (d, 1H), 8,93 (d, 1H), 8,46 (d, 1H), 7,85-7,88 (dd, 1H), 7,57 (s, 1H), 7,32 (d, 1H), 6,94 (a, 2H).
20 LRMS [M+H] = 230,1

Ejemplo 5

8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina

Paso 1: 2-bromo-5-metilfenilcarbamato de *terc*-butilo

25 A una solución de 2-bromo-5-metilanilina (1,0 equiv.) en tetrahidrofurano (0,2 M) a 0 °C en atmósfera de N₂ se añadió gota a gota NaHMDS 1 M (2,5 equiv.). La reacción se agitó durante 15 minutos a 0 °C, y se añadió una solución de dicarbonato de di-*terc*-butilo en tetrahidrofurano. La reacción se calentó a temperatura ambiente durante la noche. El disolvente se evaporó, y el residuo resultante se detuvo con solución acuosa de HCl 0,1 N. La suspensión acuosa se extrajo dos veces con acetato de etilo. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO₄ anhidro, y se concentraron al vacío. El material en bruto se purificó por cromatografía instantánea en un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando acetato de etilo al 0-5 % en hexano para dar el producto como un aceite de color amarillo claro.

Paso 2: 5-metil-2-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenilcarbamato de *terc*-butilo

35 Se mezclaron 2-bromo-5-metilfenilcarbamato de *terc*-butilo (del paso 1) (1,0 equiv.), 4,4,4',4',5,5,5',5'-octa-metil-2,2'-bi(1,3,2-dioxaborolano) (1,5 equiv.), dicloro-[1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno]paladio (II) (5 %) y acetato de sodio (4,5 equiv.) en dioxano (0,2 M) en atmósfera de N₂. La reacción se calentó a 100 °C y se agitó durante la noche. La suspensión resultante se enfrió a temperatura ambiente, se diluyó con éter, se filtró a través de celite, y el filtrado se concentró al vacío. El material en bruto se purificó por cromatografía instantánea en un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando éter al 0-8 % en hexano para dar 5-metil-2-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenil-carbamato de *terc*-butilo.

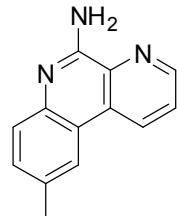
Paso 3: 8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina

45 Una solución de 5-metil-2-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenilcarbamato de *terc*-butilo (del paso 2) (1,0 equiv.) y 3-bromopicolino-nitrilo (1,0 equiv.) en tolueno (0,44 M) se mezcló con *tetraakis*(trifenil-fosfina)-paladio (5 % en mol) y solución acuosa de carbonato de potasio 2 N (2,0 equiv.). La reacción se calentó a 100 °C y se agitó durante la noche. Después del enfriamiento a temperatura ambiente, el contenido de la reacción se diluyó con metanol al 2 % en diclorometano y agua. Las dos fases se separaron, y la capa acuosa se extrajo dos veces con metanol al 2 % en diclorometano. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO₄ anhidro, y se concentraron al vacío. El producto en bruto se purificó por cromatografía instantánea en un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando acetato de etilo al 0-40 % en tolueno para dar un sólido puro. RMN ¹H (acetona d-6): δ 8,98 (d, 1H), 8,87 (d, 1H), 8,32 (d, 1H), 7,79-7,82 (dd, 1H), 7,42 (s, 1H), 7,18 (d, 1H), 6,6 (a, 2H),

2,45 (s, 3H). LRMS [M+H] = 210,1

Ejemplo 6

9-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina



5 Paso 1: 2-bromo-4-metilfenilcarbamato de *terc*-butilo

A una solución de 2-bromo-4-metilanilina (1,0 equiv.) en tetrahidrofurano (0,2 M) a 0 °C en atmósfera de N₂ se añadió gota a gota NaHMDS 1 M (2,5 equiv.). La reacción se agitó durante 15 minutos a 0 °C, y se añadió una solución de dicarbonato de di-*terc*-butilo en tetrahidrofurano. La reacción se calentó a temperatura ambiente durante la noche. El disolvente se evaporó, y el residuo resultante se detuvo con solución acuosa de HCl 0,1 N. La suspensión acuosa se extrajo dos veces con acetato de etilo. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO₄ anhidro, y se concentraron al vacío. El material en bruto se purificó por cromatografía instantánea en un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando acetato de etilo al 0-5 % en hexano para dar el producto como un aceite de color amarillo claro.

Paso 2: 4-metil-2-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenilcarbamato de *terc*-butilo

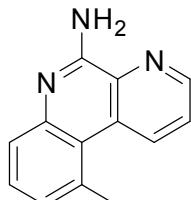
15 Se mezclaron 2-bromo-4-metilfenilcarbamato de *terc*-butilo (del paso 1) (1,0 equiv.), 4,4,4',4',5,5,5',5'-octa-metil-2,2'-bí(1,3,2-dioxaborolano) (1,5 equiv.), dicloro[1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno]paladio (II) (5 %), y acetato de sodio (4,5 equiv.) se mezclaron en dioxano (0,2 M) en atmósfera de N₂. La reacción se calentó a 100 °C y se agitó durante la noche. La suspensión resultante se enfrió a temperatura ambiente, se diluyó con éter, se filtró a través de celite, y el filtrado se concentró al vacío. El material en bruto se purificó por cromatografía instantánea en un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando éter al 0-8 % en hexano para dar 4-metil-2-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenilcarbamato de *terc*-butilo.

Paso 3: 9-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina

Una solución de 4-metil-2-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenilcarbamato de *terc*-butilo (del paso 2) (1,0 equiv.) y 3-bromopicolino-nitrilo (1,0 equiv.) en tolueno (0,44 M) se mezcló con *tetraakis*(trifenil-fosfina)-paladio (5 % en mol) y solución acuosa de carbonato de potasio 2 N (2,0 equiv.). La reacción se calentó a 100 °C y se agitó durante la noche. Después del enfriamiento a temperatura ambiente, el contenido de la reacción se diluyó con metanol al 2 % en diclorometano y agua. Las dos fases se separaron, y la capa acuosa se extrajo dos veces con metanol al 2 % en diclorometano. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO₄ anhidro, y se concentraron al vacío. El producto en bruto se purificó por cromatografía instantánea en un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando metanol al 0-5 % en diclorometano para dar un sólido semipuro, que después se arremolinó en acetato de etilo caliente, se filtró, y se secó para dar un sólido puro. RMN ¹H (acetona *d*-6): δ 9,02 (d, 1H), 8,89 (d, 1H), 8,25 (s, 1H), 7,80-7,84 (dd, 1H), 7,52 (d, 1H), 7,40 (d, 1H), 6,5 (a, 2H), 2,48 (s, 3H). LRMS [M+H] = 210,2

Ejemplo 7

35 10-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina



Paso 1: 2-bromo-3-metilfenilcarbamato de *terc*-butilo

A una solución de 2-bromo-3-metilanilina (1,0 equiv.) en tetrahidrofurano (0,2 M) a 0 °C en atmósfera de N₂ se le añadió gota a gota NaHMDS 1 M (2,5 equiv.). La reacción se agitó durante 15 minutos a 0 °C, y se añadió una solución de dicarbonato de di-*terc*-butilo en tetrahidrofurano. La reacción se calentó a temperatura ambiente durante la noche. El disolvente se evaporó, y el residuo resultante se detuvo con solución acuosa de HCl 0,1 N. La

suspensión acuosa se extrajo dos veces con acetato de etilo. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre $MgSO_4$ anhidro, y se concentraron al vacío. El material en bruto se purificó por cromatografía instantánea en un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando acetato de etilo al 0-5 % en hexano para dar el producto como un aceite de color amarillo claro.

5 Paso 2: 3-metil-2-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenilcarbamato de terc-butilo

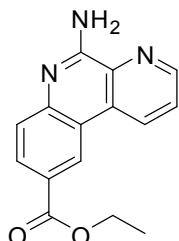
Se mezclaron 2-bromo-3-metilfenilcarbamato de *terc*-butilo (del paso 1) (1,0 equiv.), 4,4,4',4',5,5,5',5'-octa-metil-2,2'-bi(1,3,2-dioxaborolano) (1,5 equiv.), dicloro[1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno]paladio (II) (5 %), y acetato de sodio (4,5 equiv.) en dioxano (0,2 M) en atmósfera de N_2 . La reacción se calentó a 100 °C y se agitó durante la noche. La suspensión resultante se enfrió a temperatura ambiente, se diluyó con éter, se filtró a través de celite, y el filtrado se concentró al vacío. El material en bruto se purificó por cromatografía instantánea en un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando éter al 0-10 % en hexano a 3-metil-2-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenilcarbamato de *terc*-butilo.

Paso 3: 10-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina

Una solución de 3-metil-2-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenilcarbamato de *terc*-butilo (del paso 2) (1,0 equiv.) y 3-bromopicolino-nitrilo (1,0 equiv.) en tolueno (0,44 M) se mezcló con *tetraquis*(trifenil-fosfina)-paladio (5 % en mol) y solución acuosa de carbonato de potasio 2 N (2,0 equiv.). La reacción se calentó a 100 °C y se agitó durante la noche. Después del enfriamiento a temperatura ambiente, el contenido de la reacción se diluyó con metanol al 2 % en diclorometano y agua. Las dos fases se separaron, y la capa acuosa se extrajo dos veces con metanol al 2 % en diclorometano. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre $MgSO_4$ anhidro, y se concentraron al vacío. El producto en bruto se purificó por cromatografía instantánea en un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando acetato de etilo al 0-40 % en tolueno para dar un sólido semipuro, que después se arremolinó acetato de etilo en caliente al 10 % en hexano, se filtró, y se secó para dar un sólido puro. RMN 1H (acetona *d*-6): δ 9,22 (d, 1H), 8,90 (d, 1H), 7,82-7,85 (dd, 1H), 7,54 (d, 1H), 7,45 (t, 1H), 7,19 (d, 1H), 6,6 (a, 2H), 2,98 (s, 3H). LRMS [M+H] = 210,2.

25 **Ejemplo 8**

5-aminobenzo[f][1,7]naftiridina-9-carboxilato de etilo



Paso 1: 3-bromo-4-(terc-butoxicarbonilamino)benzoato de etilo

A una solución de 4-amino-3-bromobenzoato (1,0 equiv.) en tetrahidrofurano (0,2 M) a 0 °C en atmósfera de N_2 se le añadió gota a gota NahMDS 1 M (2,5 equiv.). La reacción se agitó durante 15 minutos a 0 °C, y se añadió una solución de dicarbonato de di-*terc*-butilo en tetrahidrofurano. La reacción se calentó a temperatura ambiente durante la noche. El disolvente se evaporó, y el residuo resultante se detuvo con solución acuosa de HCl 0,1 N. La suspensión acuosa se extrajo dos veces con acetato de etilo. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre $MgSO_4$ anhidro, y se concentraron al vacío. El material en bruto se purificó por cromatografía instantánea en un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando acetato de etilo al 0-5 % en hexano para dar el producto como un aceite de color amarillo claro.

Paso 2: 4-(terc-butoxicarbonilamino)-3-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)benzoato de etilo

Se mezclaron 3-bromo-4-(terc-butoxicarbonil-amino)-benzoato de etilo (del paso 1) (1,0 equiv.), 4,4,4',4',5,5,5',5'-octametil-2,2'-bi(1,3,2-dioxaborolano) (1,5 equiv.), dicloro[1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno]paladio (II) (5 %), y acetato de sodio (4,5 equiv.) en dioxano (0,2 M) en atmósfera de N_2 . La reacción se calentó a 100 °C y se agitó durante la noche. La suspensión resultante se enfrió a temperatura ambiente, se diluyó con éter, se filtró a través de celite, y el filtrado se concentró al vacío. El material en bruto se purificó por cromatografía instantánea en un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando éter al 0-10 % en hexano para dar 4-(terc-butoxicarbonilamino)-3-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)benzoato de etilo.

45 Paso 3: 5-aminobenzo[f][1,7]naftiridina-9-carboxilato de etilo

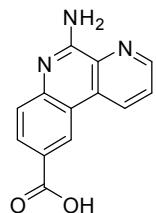
Una solución de 4-(terc-butoxicarbonilamino)-3-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)benzoato de etilo (del paso 2) (1,0 equiv.) y 3-bromopicolino-nitrilo (1,0 equiv.) en tolueno/etanol (10:1, 0,23 M) se mezcló con *tetraquis*(trifenil-

fosfina)paladio (5 % en mol) y carbonato de potasio anhidro (2,0 equiv.). La reacción se calentó a 100 °C y se agitó durante la noche. Después del enfriamiento a temperatura ambiente, el contenido de la reacción se diluyó con metanol al 2 % en diclorometano y agua. Las dos fases se separaron, y la capa acuosa se extrajo dos veces con metanol al 2 % en diclorometano. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre

5 MgSO_4 anhidro, y se concentraron al vacío. El material en bruto se purificó por cromatografía instantánea en un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando acetato de etilo al 0-40 % en tolueno para dar un sólido semipuro, que después se arremolinó en acetato de etilo caliente al 10 % en hexano, se filtró, y se secó para dar un sólido puro. RMN ^1H (acetona d_6): δ 9,11 (d, 1H), 9,05 (s, 1H), 8,95 (d, 1H), 8,14 (d, 1H), 7,89-7,92 (dd, 1H), 7,63 (d, 1H), 4,38 (q, 2H), 1,40 (t, 3H). LRMS [M+H] = 268,2.

10 Ejemplo 9

ácido 5-aminobenzo[f][1,7]naftiridina-9-carboxílico

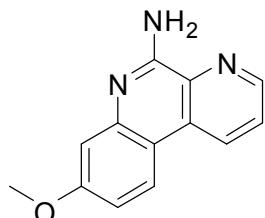


Se mezcló 5-aminobenzo[f][1,7]naftiridina-9-carboxilato de etilo (Ejemplo 8) (1,0 equiv.) con NaOH 1 N (2,0 equiv.) en etanol (0,12 M). La reacción se calentó a 80 °C y se agitó durante 36 horas. El disolvente se retiró al vacío. El

15 residuo se suspendió en agua, y el pH se ajustó a neutral usando solución acuosa de ácido cítrico al 5 %. La suspensión se centrifugó (2500 rpm, 5 min) y se retiró el sobrenadante. Los sólidos resultantes se resuspendieron en agua por vórtice, se centrifugaron (2500 rpm, 5 min), y el sobrenadante se retiró. Los pasos de resuspensión, centrifugación, y la retirada de sobrenadante se repitieron con metanol caliente, acetato de etilo caliente, y éter para dar un sólido puro. RMN ^1H (DMSO): δ 12,86 (s, 1H), 9,15 (d, 1H), 9,00 (s, 1H), 8,97 (d, 1H), 8,07 (d, 1H), 7,88-7,91 (dd, 1H), 7,56-7,59 (m, 3H). LRMS [M+H] = 240,1

20 Ejemplo 10

8-metoxibenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina



Paso 1: 2-bromo-5-metoxianilina

25 Una solución de 1-bromo-4-metoxi-2-nitrobenceno (1,0 equiv.), polvo de hierro (3,0 equiv.), y HCl concentrado (1,04 equiv.) se mezcló conjuntamente en etanol (0,64 M) y se calentó a refljo. La reacción se agitó durante 24 horas y el disolvente se evaporó. El residuo resultante se diluyó con acetato de etilo y solución acuosa saturada de cloruro de amonio. La capa acuosa se extrajo tres veces con acetato de etilo, y las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua, salmuera, se secaron sobre MgSO_4 anhidro, y se concentraron al vacío. El material en bruto se purificó por cromatografía instantánea en un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando acetato de etilo al 0-15 % en hexano para dar el producto como aceite.

Paso 2: 2-bromo-5-metoxifenilcarbamato de terc-butilo

35 A una solución de 2-bromo-5-metoxianilina (1,0 equiv.) (del paso 1) en tetrahidrofurano (0,2 M) a 0 °C en atmósfera de N_2 se añadió gota a gota NaHMDS 1 M (2,5 equiv.). La reacción se agitó durante 15 minutos a 0 °C, y se añadió una solución de dicarbonato de di-terc-butilo en tetrahidro-furano se añadió. La reacción se calentó a temperatura ambiente durante la noche. El disolvente se evaporó, y el residuo resultante se detuvo con solución acuosa de HCl 0,1 N. La suspensión acuosa se extrajo dos veces con acetato de etilo. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO_4 anhidro, y se concentraron al vacío. El material en bruto se purificó por cromatografía instantánea en un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando acetato de etilo al 0-5 % en hexano para dar el producto como un aceite de color amarillo claro.

Paso 3: 5-metoxi-2-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenilcarbamato de *terc*-butilo

Se mezclaron 2-bromo-5-metoxifenilcarbamato de *terc*-butilo (del paso 2) (1,0 equiv.), 4,4,4',4',5,5,5',5'-octa-metil-2,2'-bi(1,3,2-dioxaborolano) (1,5 equiv.), dicloro[1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno]paladio (II) (5 %), y acetato de sodio (4,5 equiv.) en dioxano (0,2 M) en atmósfera de N₂. La reacción se calentó a 100 °C y se agitó durante la noche.

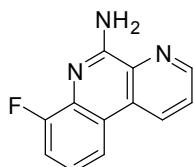
- 5 La suspensión resultante se enfrió a temperatura ambiente, se diluyó con éter, se filtró a través de celite, y el filtrado se concentró al vacío. El material en bruto se purificó por cromatografía instantánea en un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando éter al 0-15 % en hexano para dar 5-metoxi-2-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenilcarbamato de *terc*-butilo.

Paso 4: 8-metoxibenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina

- 10 Una solución de 5-metoxi-2-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenilcarbamato de *terc*-butilo (del paso 3) (1,0 equiv.) y 3-bromopicolino-nitrilo (1,0 equiv.) en tolueno/etanol (10:1, 0,23 M) se mezcló con *tetraquis*-(trifenil-fosfina)paladio (5 % en mol) y carbonato de potasio anhidro (2,0 equiv.). La reacción se calentó a 100 °C y se agitó durante la noche. Después del enfriamiento a temperatura ambiente, el contenido de la reacción se diluyó con metanol al 2 % en diclorometano y agua. Las dos fases se separaron, y la capa acuosa se extrajo dos veces con metanol al 2 % en diclorometano. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO₄ anhidro, y se concentraron al vacío. El producto en bruto se purificó por cromatografía instantánea en un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando metanol al 0-5 % en diclorometano para dar un sólido semipuro, que después se recristalizó en acetato de etilo, se filtró, y se secó para dar un sólido puro. RMN ¹H (acetona *d*-6): δ 8,91 (d, 1H), 8,82 (d, 1H), 8,33 (d, 1H), 7,76-7,79 (dd, 1H), 7,07 (s, 1H), 6,96 (d, 1H), 6,6 (a, 2H), 3,90 (s, 3H). LRMS [M+H] = 226,1
- 15
- 20

Ejemplo 11

7-fluorobenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina

Paso 1: 2-fluorofenilcarbamato de *terc*-butilo

- 25 A una solución de 2-fluoroanilina (1,0 equiv.) en tetrahidrofurano (0,2 M) a 0 °C en atmósfera de N₂ se añadió gota a gota NaHMDS 1 M (2,5 equiv.). La reacción se agitó durante 15 minutos a 0 °C, y se añadió una solución de dicarbonato de di-*terc*-butilo en tetrahidrofurano se añadió. La reacción se calentó a temperatura ambiente durante la noche. El disolvente se evaporó, y el residuo resultante se detuvo con solución acuosa de HCl 0,1 N. La suspensión acuosa se extrajo dos veces con acetato de etilo. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO₄ anhidro, y se concentraron al vacío. El material en bruto se purificó por cromatografía instantánea en un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando acetato de etilo al 0-5 % en hexano para dar el producto como un aceite de color amarillo claro.
- 30
- 35
- 40

Paso 2: ácido 2-(*terc*-butoxicarbonilamino)-3-fluorofenil-borónico

- A una solución de 2-fluorofenilcarbamato de *terc*-butilo (del paso 1) (1,0 equiv.) en tetrahidrofurano (0,25 M) a -78 °C en atmósfera de N₂ se le añadió gota a gota *terc*-butil-litio 1,7 M (2,4 equiv.). La reacción se calentó a -40 °C lentamente durante 2 horas, y se añadió borato de trimetilo puro (3,8 equiv.). La reacción se calentó a temperatura ambiente durante 30 minutos. Se añadió lentamente una solución acuosa de NaOH 1 N a la reacción y se agitó durante 15 minutos. La mezcla se vertió en acetato de etilo y se acidificó con HCl 3 N para disolver los sólidos. La capa acuosa se extrajo dos veces con acetato de etilo, y las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO₄ anhidro, y se concentraron al vacío. Los sólidos resultantes se agitaron en éter/hexano 1:1, se filtraron, y se secaron. Los sólidos se llevaron al siguiente paso sin purificación adicional.

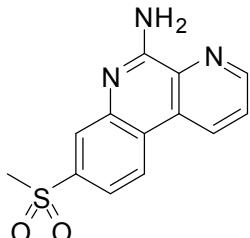
Paso 3: 7-fluorobenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina

- 45 Una solución de ácido 2-(*terc*-butoxicarbonilamino)-3-fluorofenilborónico (del paso 2) (1,0 equiv.) y 3-bromopicolino-nitrilo (1,0 equiv.) en tolueno (0,44 M) se mezcló con *tetraquis*-(trifenil-fosfina)paladio (5 % en mol) y solución acuosa de carbonato de potasio 2 N (2,0 equiv.). La reacción se calentó a 100 °C y se agitó durante la noche. Después del enfriamiento a temperatura ambiente, el contenido de la reacción se diluyó con metanol al 2 % en diclorometano y agua. Las dos fases se separaron, y la capa acuosa se extrajo dos veces con metanol al 2 % en diclorometano. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO₄ anhidro, y se concentraron al vacío. Despues del tratamiento, el producto en bruto se suspendió en tolueno caliente, se centrifugó (2500 rpm, 5 min), y el sobrenadante se retiró. Los pasos de suspensión, centrifugación y la retirada de sobrenadante se repitieron con acetato de etilo caliente, éter, y hexano para dar un sólido puro. RMN ¹H (DMSO): δ 9,04 (d, 1H), 8,96 (d, 1H), 8,27
- 50

(d, 1H), 7,86-7,90 (dd, 1H), 7,28-7,34 (m, 2H), 6,9 (a, 2H). LRMS [M+H] = 214,1

Ejemplo 12

8-(metilsulfonil)benzo[f][1,7]naftiridin-5-amina



5 Paso 1: 2-bromo-5-(metilsulfonil)anilina

Una solución de 1-bromo-4-(metilsulfonil)-2-nitrobenceno (1,0 equiv.), polvo de hierro (3,0 equiv.), y HCl concentrado (1,04 equiv.) se mezclaron conjuntamente en etanol (0,64 M) y se calentó a reflujo. La reacción se agitó durante 24 horas, y el disolvente se evaporó. El residuo resultante se diluyó con acetato de etilo y solución acuosa saturada de cloruro de amonio. La capa acuosa se extrajo tres veces con acetato de etilo, y las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua, salmuera, se secaron sobre MgSO₄ anhidro, y se concentraron al vacío. El material en bruto se purificó al triturar en hexano/éter 1:1 para dar un sólido de color amarillo claro.

10 Paso 2: 2-bromo-5-(metilsulfonil)fenilcarbamato de terc-butilo

A una solución de 2-bromo-5-(metilsulfonil)anilina (del paso 1) (1,0 equiv.) en tetrahidrofurano (0,2 M) a 0 °C en atmósfera de N₂ se añadió gota a gota NaHMDS 1 M (2,5 equiv.). La reacción se agitó durante 15 minutos a 0 °C, y se añadió una solución de dicarbonato de di-terc-butilo en tetrahidrofurano. La reacción se calentó a temperatura ambiente durante la noche. El disolvente se evaporó, y el residuo resultante se detuvo con solución acuosa de HCl 0,1 N. La suspensión acuosa se extrajo dos veces con acetato de etilo. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO₄ anhidro, y se concentraron al vacío. El material en bruto se purificó por cromatografía instantánea en un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando acetato de etilo al 0-5 % en hexano para dar 2-bromo-5-(metilsulfonil)fenilcarbamato de terc-butilo.

15 Paso 3: 5-(metilsulfonil)-2-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenilcarbamato de terc-butilo

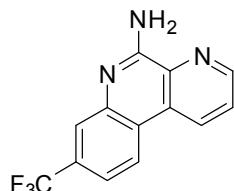
Se mezclaron 2-bromo-5-(metilsulfonil)fenil-carbamato de terc-butilo (del paso 2) (1,0 equiv.), 4,4,4',4',5,5,5',5'-octametil-2,2'-bi(1,3,2-dioxaborolano) (1,5 equiv.), dicloro[1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno]paladio (II) (5 %), y acetato de sodio (4,5 equiv.) en dioxano (0,2 M) en atmósfera de N₂. La reacción se calentó a 100 °C y se agitó durante la noche. La suspensión resultante se enfrió a temperatura ambiente, se diluyó con éter, se filtró a través de celite, y el filtrado se concentró al vacío. El material en bruto se purificó por cromatografía instantánea en un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando acetato de etilo al 0-50 % en hexano para dar un sólido que después se trituró en éter al 10 %/hexano para dar 5-(metilsulfonil)-2-(4,4,5,5-tetra-metil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenilcarbamato de terc-butilo como un sólido de color blanco.

20 Paso 4: 8-(metilsulfonil)benzo[f][1,7]naftiridin-5-amina

Una solución de 5-(metilsulfonil)-2-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenilcarbamato de terc-butilo (del paso 3) (1,0 equiv.) y 3-bromopicolino-nitrilo (1,0 equiv.) en tolueno (0,24 M) se mezcló con *tetraquis*(trifenil-fosfina)paladio (5 % en mol) y solución acuosa de carbonato de potasio 2 N (4,0 equiv.). La reacción se calentó a 100 °C y se agitó durante la noche. Despues del enfriamiento a temperatura ambiente, el contenido de la reacción se diluyó con metanol al 2 % en diclorometano y agua. Las dos fases se separaron, y la capa acuosa se extrajo dos veces con metanol al 2 % en diclorometano. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO₄ anhidro, y se concentraron al vacío. El material en bruto se purificó por cromatografía instantánea en un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando metanol al 0-5 % en diclorometano para dar un sólido que después se trituró en hexano/acetato de etilo 1:1 para dar 8-(metilsulfonil)benzo[f][1,7]naftiridin-5-amina. RMN ¹H (acetona-*d*-6): δ 9,16 (d, 1H), 9,03 (d, 1H), 8,71 (d, 1H), 8,11 (s, 1H), 7,93-7,96 (dd, 1H), 7,81 (d, 1H), 7,0 (a, 2H), 3,19 (s, 3H). LRMS [M+H] = 274,1

Ejemplo 13

8-(trifluorometil)benzo[f][1,7]naftiridin-5-amina

Paso 1: 2-bromo-5-(trifluorometil)fenilcarbamato de *terc*-butilo

- 5 A una solución de 2-bromo-5-(trifluorometil)-anilina (1,0 equiv.) en tetrahidrofurano (0,2 M) a 0 °C en atmósfera de N₂ se le añadió gota a gota NaHMDS 1 M (2,5 equiv.). La reacción se agitó durante 15 minutos a 0 °C, y se añadió una solución de dicarbonato de di-*terc*-butilo en tetrahidrofurano. La reacción se calentó a temperatura ambiente durante la noche. El disolvente se evaporó, y el residuo resultante se detuvo con solución acuosa de HCl 0,1 N. La suspensión acuosa se extrajo dos veces con acetato de etilo. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO₄ anhidro, y se concentraron al vacío. El material en bruto se purificó por cromatografía instantánea en un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando acetato de etilo al 0-5 % en hexano para dar el producto como un aceite de color amarillo claro.

Paso 2: 2-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-5-(trifluorometil)fenilcarbamato de *terc*-butilo

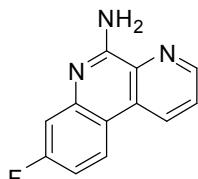
- 15 Se mezclaron 2-bromo-5-(trifluorometil)fenil-carbamato de *terc*-butilo (del paso 1) (1,0 equiv.), 4,4,4',4',5,5,5',5'-octametil-2,2'-bi(1,3,2-dioxaborolano) (1,5 equiv.), dicloro[1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno]paladio (II) (5 %), y acetato de sodio (4,5 equiv.) en dioxano (0,2 M) en atmósfera de N₂. La reacción se calentó a 100 °C y se agitó durante la noche. La suspensión resultante se enfrió a temperatura ambiente, se diluyó con éter, se filtró a través de celite, y el filtrado se concentró al vacío. El material en bruto se purificó por cromatografía instantánea en un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando éter al 0-10 % en hexano para dar un producto impuro que se llevó al siguiente paso sin purificación adicional.

Paso 3: 8-(trifluorometil)benzo[f][1,7]naftiridin-5-amina

- 25 Una solución de 2-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-5-(trifluorometil)fenilcarbamato de *terc*-butilo (del paso 2) (1,0 equiv.) y 3-bromopicolino-nitrilo (1,0 equiv.) en tolueno (0,24 M) se mezcló con *tetraquis*(trifenil-fosfina)paladio (5 % en mol) y solución acuosa de carbonato de potasio 2 N (4,0 equiv.). La reacción se calentó a 100 °C y se agitó durante la noche. Después del enfriamiento a temperatura ambiente, el contenido de la reacción se diluyó con metanol al 2 % en diclorometano y agua. Las dos fases se separaron, y la capa acuosa se extrajo dos veces con metanol al 2 % en diclorometano. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO₄ anhidro, y se concentraron al vacío. El producto en bruto se purificó por cromatografía instantánea en un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando acetato de etilo al 0-40 % en tolueno para dar un sólido que después se trituró en acetato de etilo al 10 % en hexano para dar 8-(trifluorometil)benzo[f][1,7]naftiridin-5-amina. RMN ¹H (acetona *d*-6): δ 9,13 (d, 1H), 9,00 (d, 1H), 8,67 (d, 1H), 7,91-7,94 (dd, 1H), 7,86 (s, 1H), 7,58 (d, 1H), 6,9 (a, 2H). LRMS [M+H]⁺ = 264,1

Ejemplo 14

8-fluorobenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina



- 35
- 40 A una solución de 2-bromo-5-fluoroanilina (1,0 equiv.) en tetrahidrofurano (0,2 M) a 0 °C en atmósfera de N₂ se le añadió gota a gota NaHMDS 1 M (2,5 equiv.). La reacción se agitó durante 15 minutos a 0 °C, y se añadió una solución de dicarbonato de di-*terc*-butilo en tetrahidrofurano. La reacción se calentó a temperatura ambiente durante la noche. El disolvente se evaporó, y el residuo resultante se detuvo con solución acuosa de HCl 0,1 N. La suspensión acuosa se extrajo dos veces con acetato de etilo. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO₄ anhidro, y se concentraron al vacío. El material en bruto se purificó por cromatografía instantánea en un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando acetato de etilo al 0-5 % en hexano para

dar el producto como un aceite de color amarillo claro.

Paso 2: 5-fluoro-2-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenilcarbamato de terc-butilo

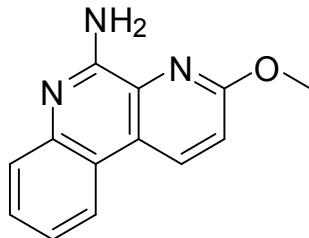
Se mezclaron 2-bromo-5-fluorofenilcarbamato de *terc*-butilo (del paso 1) (1,0 equiv.), 4,4,4',4',5,5,5',5'-octametil-2,2'-bi(1,3,2-dioxaborolano) (1,5 equiv.), dicloro-[1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno]paladio (II) (5 %), y acetato de sodio (4,5 equiv.) en dioxano (0,2 M) en atmósfera de N₂. La reacción se calentó a 100 °C y se agitó durante la noche. La suspensión resultante se enfrió a temperatura ambiente, se diluyó con éter, se filtró a través de celite, y el filtrado se concentró al vacío. El material en bruto se purificó por cromatografía instantánea en un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando éter al 0-5 % en hexano para dar el producto como un sólido de color amarillo.

Paso 3: 8-fluorobenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina

- 10 Una solución de 5-fluoro-2-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenilcarbamato de *terc*-butilo (del paso 2) (1,0 equiv.) y 3-bromopicolino-nitrilo (1,0 equiv.) en tolueno (0,24 M) se mezcló con *tetraquis*(trifenil-fosfina)-paladio (5 % en mol) y solución acuosa de carbonato de potasio 2 N (4,0 equiv.). La reacción se calentó a 100 °C y se agitó durante la noche. Después del enfriamiento a temperatura ambiente, el contenido de la reacción se diluyó con metanol al 2 % en diclorometano y agua. Las dos fases se separaron, y la capa acuosa se extrajo dos veces con metanol al 2 % en diclorometano. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO₄ anhidro, y se concentraron al vacío. El producto en bruto se purificó por cromatografía instantánea en un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando acetato de etilo al 0-40 % en tolueno para dar un sólido que después se trituró en acetato de etilo al 10 % en hexano para dar 8-fluorobenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina. RMN ¹H (acetona *d*-6): δ 9,00 (d, 1H), 8,90 (d, 1H), 8,46-8,50 (dd, 1H), 7,83-7,87 (dd, 1H), 7,26 (d, 1H), 7,15 (t, 1H), 6,9 (a, 2H). LRMS [M+H] = 214,1

Ejemplo 16

3-metoxibenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina



Paso 1: 3-bromo-6-metoxipicolonitrilo

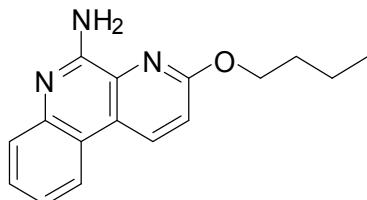
- 25 Una solución de 3-bromo-6-oxo-1,6-dihidropiridina-2-carbonitrilo (del ejemplo 15/paso 2) (1,0 equiv.), carbonato de plata (1,3 equiv.), y yodometano (1,2 equiv.) en tolueno (0,2 M) se agitó en la oscuridad a temperatura ambiente durante la noche. El disolvente se concentró al vacío, y el residuo resultante se purificó por un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando acetato de etilo al 0-80 % en hexano para dar 3-bromo-6-metoxipicolonitrilo.

Paso 2: 3-metoxibenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina

- 30 Una solución de ácido 2-(*terc*-butoxicarbonilamino)-fenilborónico (1,0 equiv.) y 3-bromo-6-metoxipicolonitrilo (del paso 1) (1,0 equiv.) en tolueno (0,44 M) se mezcló con *tetraquis*(trifenil-fosfina)-paladio (5 % en mol) y solución acuosa de carbonato de potasio 2 N (2,0 equiv.). La reacción se calentó a 100 °C y se agitó durante la noche. Después del enfriamiento a temperatura ambiente, el contenido de la reacción se diluyó con metanol al 2 % en diclorometano y agua. Las dos fases se separaron, y la capa acuosa se extrajo dos veces con metanol al 2 % en diclorometano. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO₄ anhidro, y se concentraron al vacío. El producto en bruto se purificó por cromatografía instantánea en un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando acetato de etilo al 0-50 % en hexano para dar 3-metoxibenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina como un sólido de color amarillo. RMN ¹H (acetona *d*-6): δ 8,91 (d, 1H), 8,34 (d, 1H), 7,63 (d, 1H), 7,51-7,53 (dd, 1H), 7,27-7,33 (m, 2H), 6,65 (a, 2H), 4,11 (s, 3H). LRMS [M+H] = 226,1

Ejemplo 17

3-butoxibenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina

Paso 1: 3-bromo-6-butoxipicolonitrilo

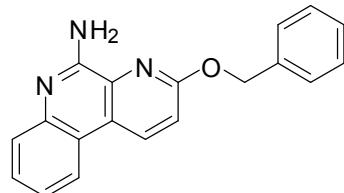
- 5 Una solución de 3-bromo-6-oxo-1,6-dihidropiridina-2-carbonitrilo (del ejemplo 15/Paso 2) (1,0 equiv.), carbonato de potasio (1,3 equiv.), y 1-yodobutano (1,2 equiv.) en acetona (0,3 M) se agitó durante a 70 °C durante la noche. El disolvente se concentró al vacío, y el residuo resultante se tomó en agua y acetato de etilo. La capa acuosa se extrajo con acetato de etilo tres veces. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO₄ anhidro, y se concentraron al vacío. El producto en bruto se purificó por un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando acetato de etilo al 0-30 % en hexano para dar un sólido incoloro.

Paso 2: 3-butoxibenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina

- Una solución de ácido 2-(terc-butoxicarbonilamino)-fenilborónico (1,0 equiv.) y 3-bromo-6-butoxipicolonitrilo (del paso 1) (1,0 equiv.) en tolueno (0,44 M) se mezcló con *tetraquis*(trifenil-fosfina)paladio (5 % en mol) y solución acuosa de carbonato de potasio 2 N (2,0 equiv.). La reacción se calentó a 100 °C y se agitó durante la noche.
- 15 Después del enfriamiento a temperatura ambiente, el contenido de la reacción se diluyó con metanol al 2 % en diclorometano y agua. Las dos fases se separaron, y la capa acuosa se extrajo dos veces con metanol al 2 % en diclorometano. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO₄ anhidro, y se concentraron al vacío. El producto en bruto se purificó por cromatografía instantánea en un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando acetato de etilo al 0-5 % en metanol para dar 3-butoxibenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina como un sólido de color blanco. RMN ¹H (acetona d-6): δ 8,91 (d, 1H), 8,34 (d, 1H), 7,61 (d, 1H), 7,48-7,52 (dd, 1H), 7,27-7,33 (m, 2H), 6,51 (a, 2H), 6,55 (t, 2H), 1,81- 1,88 (m, 2H), 1,50-1,59 (m, 2H), 1,00 (t, 3H). LRMS [M+H] = 268,1

Ejemplo 18

3-(benciloxi)benzo[f][1,7]naftiridin-5-amina

Paso 1: 6-(benciloxi)-3-bromopicolinonitrilo

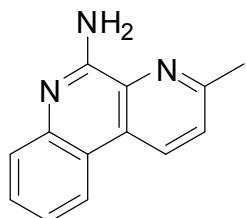
- Una solución de 3-bromo-6-oxo-1,6-dihidropiridina-2-carbonitrilo (de ejemplo 15/paso 2) (1,0 equiv.), carbonato de plata (1,3 equiv.), y bromuro de bencilo (1,2 equiv.) en tolueno (0,16 M) se agitó en la oscuridad a 50 °C durante la noche. El disolvente se concentró al vacío, y el residuo resultante se purificó por un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando acetato de etilo al 0-20 % en hexano para dar 6-(benciloxi)-3-bromopicolinonitrilo.

Paso 2: 3-(benciloxi)benzo[f][1,7]naftiridin-5-amina

- Una solución de ácido 2-(terc-butoxicarbonilamino)-fenilborónico (1,0 equiv.) y 6-(benciloxi)-3-bromopicolino-nitrilo (del paso 1) (1,0 equiv.) en tolueno (0,44 M) se mezcló con *tetraquis*(trifenil-fosfina)paladio (5 % en mol) y solución acuosa de carbonato de potasio 2 N (2,0 equiv.). La reacción se calentó a 100 °C y se agitó durante la noche.
- 35 Después del enfriamiento a temperatura ambiente, el contenido de la reacción se diluyó con metanol al 2 % en diclorometano y agua. Las dos fases se separaron, y la capa acuosa se extrajo dos veces con metanol al 2 % en diclorometano. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO₄ anhidro, y se concentraron al vacío. El producto en bruto se purificó por cromatografía instantánea en un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando acetato de etilo al 0-50 % en hexano para dar 3-(benciloxi)benzo[f][1,7]naftiridin-5-amina como un sólido de color amarillo. RMN ¹H (acetona d-6): δ 8,95 (d, 1H), 8,35 (d, 1H), 7,58-7,63 (m, 2H), 7,49-7,53 (dd, 1H), 7,30-7,44 (m, 5H), 6,61 (a, 2H), 5,64 (s, 2H). LRMS [M+H] = 302,1

Ejemplo 19

3-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina

Paso 1: 1-óxido de 5-bromo-2-metilpiridina

- 5 A una solución de 5-bromo-2-metilpiridina (1,0 equiv.) en cloroformo (0,38 M) se le añadió ácido metacloroperbenzoico al 77 % (mCPBA) (4,0 equiv.) y se calentó a 60 °C durante 20 horas. Después del enfriamiento a temperatura ambiente, se añadió Ca(OH)₂ (5,3 equiv.), y el precipitado resultante se agitó durante 30 minutos. El precipitado se filtró y se lavó con CHCl₃/metanol 3:1. El filtrado se concentró al vacío para dar un sólido, que se agitó en acetato de etilo al 30 % en hexano y se filtró para dar el N-óxido deseado. El filtrado se concentró al vacío, y el residuo se purificó por sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando acetato de etilo al 0-100 % en hexano para dar más del N-óxido deseado. Los dos lotes se combinaron y llevaron al siguiente paso.
- 10

Paso 2: 3-bromo-6-metilpicolinonitrilo

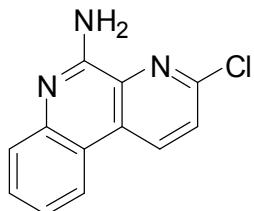
- 15 A una solución de 1-óxido de 5-bromo-2-metilpiridina (del paso 1) (1,0 equiv.) en acetonitrilo (0,2 M) se le añadió cianuro de trimetilsililo (TMSCN) (4,0 equiv.) y trietilamina (3,0 equiv.). La reacción se calentó a 100 °C durante la noche. Después del enfriamiento a temperatura ambiente, el disolvente se concentró al vacío, y el residuo se purificó por un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando acetato de etilo al 0-50 % en hexano para dar 3-bromo-6-metilpicolinonitrilo.

Paso 3: 3-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina

- 20 Una solución de ácido 2-(terc-butoxicarbonilamino)fenilborónico (1,0 equiv.) y 3-bromo-6-metilpicolinonitrilo (del paso 2) (1,0 equiv.) en tolueno (0,44 M) se mezcló con tetraquis(trifenil-fosfina)paladio (5 mol%) y solución acuosa de carbonato de sodio 2 N (2,0 equiv.). La reacción se calentó a 100 °C y se agitó durante la noche. Después del enfriamiento a temperatura ambiente, el contenido de la reacción se diluyó con metanol al 2 % en diclorometano y agua. Las dos fases se separaron, y la capa acuosa se extrajo dos veces con metanol al 2 % en diclorometano. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO₄ anhidro, y se concentraron al vacío.
- 25 El producto en bruto se purificó por cromatografía instantánea en un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando acetato de etilo al 0-70 % en hexano para dar 3-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina como un sólido de color amarillo. RMN ¹H (metanol d-4): δ 8,85 (d, 1H), 8,38 (d, 1H), 7,72 (d, 1H), 7,53-7,61 (m, 2H), 7,34-7,38 (dd, 1H), 2,76 (s, 3H). LRMS [M+H]⁺ = 210,1

Ejemplo 20

- 30 3-clorobenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina

Paso 1: 1-óxido de 5-bromo-2-cloropiridina

- 35 A una solución de 5-bromo-2-cloropiridina (1,0 equiv.) en cloroformo (0,38 M) se le añadió ácido metacloroperbenzoico al 77 % (mCPBA) (4,0 equiv.) y se calentó a 60 °C durante 20 horas. Después del enfriamiento a temperatura ambiente, se añadió Ca(OH)₂ (5,3 equiv.), y el precipitado resultante se agitó durante 30 minutos. El precipitado se filtró y se lavó con CHCl₃/metanol 3:1. El filtrado se concentró al vacío para dar un sólido, que se agitó en acetato de etilo al 30 % en hexano y se filtró para dar el N-óxido deseado. El filtrado se concentró al vacío, y el residuo se purificó por sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando acetato de etilo al 0-100 % en hexano para dar más del N-óxido deseado. Los dos lotes se combinaron y llevaron al siguiente paso.

Paso 2: 3-bromo-6-cloropicolinonitrilo

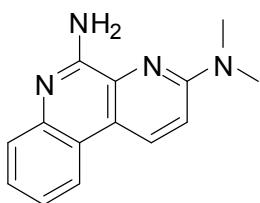
A una solución del 1-óxido de 5-bromo-2-cloropiridina (del paso 1) (1,0 equiv.) en acetonitrilo (0,2 M) se le añadió cianuro de trimetilsililo (TMSCN) (4,0 equiv.) y trietilamina (3,0 equiv.). La reacción se calentó a 100 °C durante la noche. Después del enfriamiento a temperatura ambiente, el disolvente se concentró al vacío, y el residuo se purificó por un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando acetato de etilo al 0-40 % en hexano para dar 3-bromo-6-cloropicolinonitrilo.

Paso 3: 3-clorobenzo[f][1,7]naftiridin-5-amino

Una solución de ácido 2-(terc-butoxicarbonilamino)fenilborónico (1,0 equiv.) y 3-bromo-6-cloropicolinonitrilo (del paso 2) (1,0 equiv.) en tolueno (0,44 M) se mezcló con *tetraquis*(trifenil-fosfina)palladio (5 mol%) y solución acuosa de carbonato de potasio 2 N (2,0 equiv.). La reacción se calentó a 100 °C y se agitó durante la noche. Después del enfriamiento a temperatura ambiente, el contenido de la reacción se diluyó con metanol al 2 % en diclorometano y agua. Las dos fases se separaron, y la capa acuosa se extrajo dos veces con metanol al 2 % en diclorometano. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO₄ anhídrico, y se concentraron al vacío. El producto en bruto se purificó por cromatografía instantánea en un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando acetato de etil al 0-50 % en hexano para dar un sólido, que después se trituró en acetato de etilo al 10 % en hexano para dar 3-clorobenzo[f][1,7]naftiridin-5-amino. RMN ¹H (acetona d-6): δ 9,10 (d, 1H), 8,45 (d, 1H), 7,89 (d, 1H), 7,58-7,65 (m, 2H), 7,35-7,39 (dd, 1H), 6,67 (a, 2H). LRMS [M+H] = 230,1

Ejemplo 21

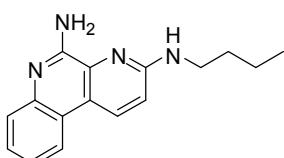
N³,N³-dimetilbenzo[f][1,7]naftiridina-3,5-diamina



Una solución de 3-clorobenzo[f][1,7]naftiridin-5-amino (Ejemplo 20) (1,0 equiv.) se disolvió en dimetilamina acuosa al 40 % (0,26 M) y se calentó en un reactor de microondas a 100 °C durante 30 minutos. La mezcla de reacción se concentró al vacío, y el residuo se purificó por un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando acetato de etilo al 0-90 % en hexano para dar N³,N³-dimetilbenzo[f][1,7]naftiridina-3,5-diamina. RMN ¹H (metanol d-4): δ 8,63 (d, 1H), 8,20 (d, 1H), 7,55 (d, 1H), 7,41-7,45 (dd, 1H), 7,29-7,33 (dd, 1H), 7,27 (d, 1H), 3,26 (s, 6H). LRMS [M+H] = 239,1

Ejemplo 22

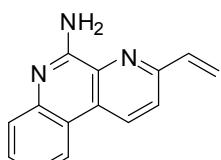
N³-butilbenzo[f][1,7]naftiridina-3,5-diamina



Una solución de 3-clorobenzo[f][1,7]naftiridin-5-amino (Ejemplo 20) (1,0 equiv.) se disolvió en *n*-butilamina (0,1 M) y se calentó a 110 °C durante la noche. La mezcla de reacción se concentró al vacío, y el residuo se purificó por sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando acetato de etilo al 0-90 % en hexano para dar N³-butilbenzo[f][1,7]naftiridina-3,5-diamina. RMN ¹H (metanol d-4): δ 8,42 (d, 1H), 8,13 (d, 1H), 7,53 (d, 1H), 7,38-7,42 (dd, 1H), 7,25-7,29 (dd, 1H), 6,96 (d, 1H), 3,48 (t, 2H), 1,63-1,71 (m, 2H), 1,43-1,52 (m, 2H), 0,99 (t, 3H). LRMS [M+H] = 267,2

Ejemplo 23

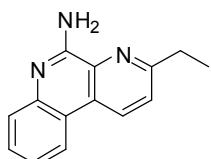
3-vinilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amino



Una solución de 3-clorobenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina (Ejemplo 20) (1,0 equiv.), 4,4,5,5-tetrametil-2-vinil-1,3,2-dioxaborolano (1,2 equiv.), *tetraquis*(trifenil-fosfina)paladio (5 mol%), y solución acuosa de carbonato de potasio 2 N (2,0 equiv.) en tolueno/etanol (4:1, 0,1 M) se calentó a 100 °C y se agitó durante la noche. Después del enfriamiento a temperatura ambiente, el contenido de la reacción se diluyó con acetato de etilo y agua. Las dos fases se separaron, y la capa acuosa se extrajo con acetato de etilo tres veces. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO₄ anhidro, y se concentraron al vacío. El material en bruto se purificó por cromatografía instantánea en un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando acetato de etilo al 0-50 % en hexano para dar un sólido, que después se trituró en acetato de etilo al 10 % en hexano para dar 3-vinilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina. RMN ¹H (acetona *d*-6): δ 8,99 (d, 1H), 8,42 (d, 1H), 8,01 (d, 1H), 7,53-7,62 (m, 2H), 7,30-7,35 (dd, 1H), 7,03-7,10 (dd, 1H), 6,77 (a, 2H), 6,56 (d, 1H), 5,66 (d, 1H). LRMS [M+H] = 222,1

Ejemplo 24

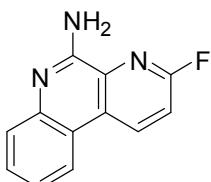
3-etilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina



A una solución de 3-vinilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina (Ejemplo 23) en acetato de etilo/etanol (1:1, 0,07 M) se añadió paladio al 10 % en peso en carbono (0,2 equiv.). Se introdujo gas hidrógeno mediante un globo, y la reacción se agitó durante la noche. La mezcla se filtró a través de una lecho de celite, lavando con diclorometano. El filtrado se concentró al vacío para dar 3-etilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina como un sólido de color blanco. RMN ¹H (acetona *d*-6): δ 8,93 (d, 1H), 8,41 (d, 1H), 7,76 (d, 1H), 7,61 (d, 1H), 7,51-7,55 (dd, 1H), 7,30-7,34 (dd, 1H), 6,55 (a, 2H), 6,03 (q, 2H), 1,41 (t, 3H). LRMS [M+H] = 224,1

Ejemplo 25

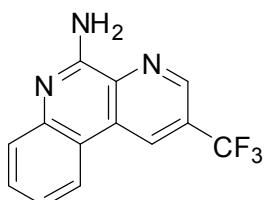
3-fluorobenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina



Una solución de 3-clorobenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina (Ejemplo 20) (1,0 equiv.), fluoruro de potasio (3,0 equiv.), y 18-corona-6 (0,2 equiv.) en N-metilpirrolidona (NMP) (0,4 M) se calentó en un reactor de microondas a 210 °C durante 80 minutos. Después del enfriamiento a temperatura ambiente, la mezcla de reacción en bruto se purificó por HPLC usando acetonitrilo al 10-50 % en agua para dar 3-fluorobenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina. RMN ¹H (acetona *d*-6): δ 11,40 (a, 2H), 9,38-9,42 (dd, 1H), 8,60 (d, 1H), 7,89-7,92 (dd, 1H), 7,81-7,83 (m, 2H), 7,59-7,66 (m, 1H). LRMS [M+H] = 214,1

Ejemplo 26

2-(trifluorometil)benzo[f][1,7]naftiridin-5-amina



Paso 1: oxima de 3-cloro-5-(trifluorometil)picolinaldehído

Una solución de 3-cloro-5-(trifluorometil)picolinaldehído (1,0 equiv.), clorhidrato de hidroxilamina (5,0 equiv.), y piridina (4,0 equiv.) en etanol se calentó a 95 °C y se agitó durante 1 hora. La reacción se enfrió a temperatura ambiente y se diluyó con acetato de etilo y agua. La capa orgánica se lavó con salmuera, agua, se secó sobre MgSO₄ anhidro, y se concentró al vacío para dar un sólido que se llevó al siguiente paso sin purificación adicional.

Paso 2: 3-cloro-5-(trifluorometil)picolinonitrilo

Una solución de oxima de 3-cloro-5-(trifluorometil)picolinaldehído (1,0 equiv.) y reactivo de Burgess (1,5 equiv.) en tetrahidrofuran (0,5 M) se calentó a 65 °C y se agitó durante 1 hora. La reacción se enfrió a temperatura ambiente y se diluyó con acetato de etilo y agua. La capa orgánica se lavó con agua, salmuera, se secó sobre MgSO₄ anhidro, y se concentró al vacío para dar un sólido que se llevó al siguiente paso sin purificación adicional.

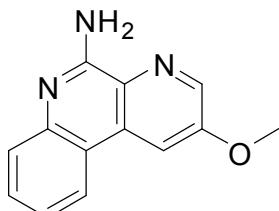
5

Paso 3: 2-(trifluorometil)benzo[f][1,7]naftiridin-5-amina

Una solución de ácido 2-(terc-butoxicarbonilamino)fenilborónico (1,0 equiv.) y 3-cloro-5-(trifluorometil)picolinonitrilo (del paso 2) (1,0 equiv.) en tolueno (0,44 M) se mezcló con *tetraquis*(trifenil-fosfina)paladio (5 mol%) y solución acuosa de carbonato de potasio 2 N (2,0 equiv.). La reacción se calentó a 100 °C y se agitó durante la noche. Después del enfriamiento a temperatura ambiente, el contenido de la reacción se diluyó con metanol al 2 % en diclorometano y agua. Las dos fases se separaron, y la capa acuosa se extrajo dos veces con metanol al 2 % en diclorometano. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO₄ anhidro, y se concentraron al vacío. El producto en bruto se purificó por cromatografía instantánea en un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando acetato de etilo al 0-50 % en hexano para dar 2-(trifluorometil)benzo[f][1,7]naftiridin-5-amina. RMN ¹H (acetona *d*-6): δ 9,44 (s, 1H), 9,20 (s, 1H), 8,65-8,63 (d, 1H), 7,70-7,61 (m, 2H), 7,44-7,36 (m, 1H), 6,84 (a, 2H). LRMS [M+H] = 264,2

Ejemplo 27

2-metoxibenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina



20

Paso 1: 3-cloro-5-metoxipicolinonitrilo

A una solución de 3,5-dicloropicolinonitrilo (1,0 equiv.) en dimetil formamida (DMF) (0,5 M) se le añadió metóxido de sodio (1,5 equiv.) y se calentó a 75 °C. Después de la agitación durante 14 horas, la reacción se diluyó con acetato de etilo y agua. La capa orgánica se lavó con NaHCO₃ acuoso saturado tres veces, dos veces con agua, se secó sobre MgSO₄ anhidro, y se concentró al vacío. El residuo en bruto se purificó por un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando acetato de etilo al 15 % en hexano para dar una mezcla de dos regiosímeros de metoxi, uno de los cuales fue el producto deseado. La mezcla se llevó al siguiente paso sin purificación adicional.

25

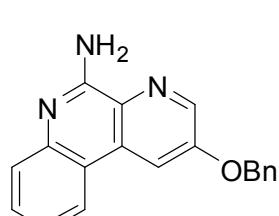
Paso 2: 2-metoxibenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina

Una solución de ácido 2-(terc-butoxicarbonilamino)fenilborónico (1,0 equiv.) y 3-cloro-5-metoxipicolinonitrilo (del paso 1) (1,0 equiv.) en tolueno (0,44 M) se mezcló con *tetraquis*(trifenil-fosfina)paladio (5 mol%) y solución acuosa de carbonato de potasio 2 N (2,0 equiv.). La reacción se calentó a 100 °C y se agitó durante la noche. Después del enfriamiento a temperatura ambiente, el contenido de la reacción se diluyó con metanol al 2 % en diclorometano y agua. Las dos fases se separaron, y la capa acuosa se extrajo dos veces con metanol al 2 % en diclorometano. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO₄ anhidro, y se concentraron al vacío. El producto en bruto se purificó por cromatografía instantánea en un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando acetato de etilo al 50-100 % en hexano para dar 2-metoxibenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina.

30

Ejemplo 28

2-(benciloxi)benzo[f][1,7]naftiridin-5-amina



Paso 1: 3-(benciloxi)-5-bromopiridina

Una solución de 5-bromopiridin-3-ol (1,0 equiv.), bromuro de bencilo (1,2 equiv.), y carbonato de plata (1,3 equiv.) en tolueno (0,1 M) se calentó a 50 °C y se agitó durante 18 horas. Después del enfriamiento a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se filtró, eluyendo con acetato de etilo. El filtrado se concentró al vacío en un residuo que se purificó por un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando acetato de etilo al 20 % en hexano para dar 3-(benciloxi)-5-bromopiridina.

Paso 2: 1-óxido de 3-(benciloxi)-5-bromopiridina

Una solución de 3-(benciloxi)-5-bromopiridina (del paso 1) (1,0 equiv.) y ácido meta-cloroperbenzoico (mCPBA) (4,0 equiv.) en diclorometano (0,1 M) se agitó a temperatura ambiente durante 18 horas. La reacción se detuvo con solución acuosa saturada de NaHCO₃ y se extrajo con diclorometano tres veces. Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre MgSO₄ anhidro y se concentraron al vacío. El residuo en bruto se purificó por un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando acetato de etilo al 0-100 % en hexano para dar 1-óxido de 3-(benciloxi)-5-bromopiridina.

Paso 3: 5-(benciloxi)-3-bromopicolinonitrilo

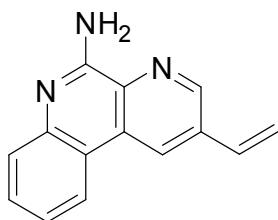
A una solución de 1-óxido de 3-(benciloxi)-5-bromopiridina (del paso 2) (1,0 equiv.) en acetonitrilo (0,2 M) se le añadieron cianuro de trimetilsililo (TMSCN) (4,0 equiv.) y trietilamina (3,0 equiv.). La reacción se calentó a 100 °C durante la noche. Después del enfriamiento a temperatura ambiente, el disolvente se concentró al vacío, y el residuo se purificó por sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando acetato de etilo al 0-40 % en hexano para dar una mezcla de dos regiosímeros de benzoxi, uno de los cuales fue el producto deseado. La mezcla se llevó al siguiente paso sin purificación adicional.

Paso 4: 2-(benciloxi)benzo[f][1,7]naftiridin-5-amina

Una solución de ácido 2-(terc-butoxicarbonilamino)fenilborónico (1,0 equiv.) y 5-(benciloxi)-3-bromopicolinonitrilo (del paso 3) (1,0 equiv.) en tolueno (0,44 M) se mezcló con *tetraquis*(trifenil-fosfina)paladio (5 mol%) y solución acuosa de carbonato de potasio 2 N (2,0 equiv.). La reacción se calentó a 100 °C y se agitó durante la noche. Después del enfriamiento a temperatura ambiente, el contenido de la reacción se diluyó con metanol al 2 % en diclorometano y agua. Las dos fases se separaron, y la capa acuosa se extrajo dos veces con metanol al 2 % en diclorometano. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO₄ anhidro, y se concentraron al vacío. El producto en bruto se purificó por cromatografía instantánea en un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando acetato de etilo al 50-100 % en hexano para dar 2-(benciloxi)benzo[f][1,7]naftiridin-5-amina. RMN ¹H (acetona *d*-6): δ 8,36 (s, 1H), 7,86 (s, 1H), 7,59-7,56 (d, 2H), 7,46-7,42 (dd, 2H), 7,40-7,37 (d, 1H), 7,20-7,15 (dd, 1H), 7,12-7,09 (d, 1H), 6,88-6,86 (d, 1H), 6,77-6,73 (dd, 1H), 5,51 (s, 2H), 4,74 (a, 2H). LRMS [M+H]⁺ = 302,3.

Ejemplo 29

2-vinilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina

Paso 1: 3-cloro-5-vinilpicolinonitrilo

Una solución de 3,5-dicloropicolinonitrilo (1,0 equiv.), 4,4,5,5-tetrametil-2-vinil-1,3,2-dioxaborolano (1,0 equiv.), *tetraquis*(trifenil-fosfina)paladio (5 mol%), y solución acuosa de carbonato de sodio 2 N (3,4 equiv.) en tolueno/etanol (2:1, 0,04 M) se agitó a 95 °C durante la noche. Después del enfriamiento a temperatura ambiente, el contenido de la reacción se diluyó con acetato de etilo y agua. Las dos fases se separaron, y la capa acuosa se extrajo dos veces con acetato de etilo. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO₄ anhidro, y se concentraron al vacío. El material en bruto se purificó por cromatografía instantánea en un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando acetato de etilo al 0-80 % en hexano para dar un sólido de color blanco.

Paso 2: 2-vinilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina

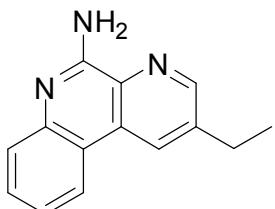
Una solución de ácido 2-(terc-butoxicarbonilamino)fenilborónico (1,0 equiv.) y 3-cloro-5-vinilpicolinonitrilo (del paso 1) (1,0 equiv.), *tetraquis*(trifenil-fosfina)paladio (5 mol%), y solución acuosa de carbonato de sodio 2 N (2,0 equiv.) en tolueno/etanol (2:1, 0,03 M) se agitó a 100 °C durante la noche. Después del enfriamiento a temperatura ambiente, el contenido de la reacción se diluyó con metanol. Los sólidos insolubles se retiraron por filtración, y el filtrado se

concentró al vacío para obtener un residuo en bruto. El material en bruto se purificó por cromatografía instantánea en un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando acetato de etilo al 0-80 % en hexano para dar 2-vinilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina como un sólido de color amarillo. RMN ¹H (metanol-d4 - CDCl₃): δ 8,87 (d, 1H), 8,69 (d, 1H), 8,28 (d, 1H), 7,49-7,58 (m, 2H), 7,32 (dt, 1H), 6,90 (dd, 1H), 6,09 (d, 1H), 5,54 (d, 1H). LRMS [M+H] = 222,1.

5

Ejemplo 30

2-etilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina

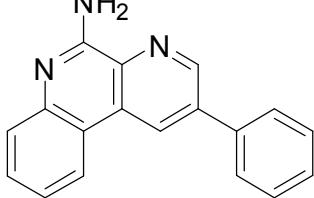


10 A una solución de 2-vinilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina (Ejemplo 29) en acetato de etilo/metanol (1:4, 0,05 M) se leañadió paladio al 10 % en peso en carbono (0,2 equiv.). Mediante un globo se introdujo gas hidrógeno, y la reacción se agitó durante 3 horas. La mezcla se filtró a través de una lecho de celite, lavando con diclorometano. El filtrado se concentró al vacío y se purificó por un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando acetato de etilo al 0-80 % en hexano para dar 2-etilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina como un sólido. RMN ¹H (metanol-d4): δ 8,78-8,81 (m, 2H), 8,45 (d, 1H), 7,55 - 7,63 (m, 2H), 7,35 - 7,40 (m, 1H), 2,97 (q, 2H), 1,43 (t, 2H). LRMS [M+H] = 224,1.

15

Ejemplo 31

2-fenilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina

Paso 1: 3-cloro-5-fenilpicolinonitrilo

20 Una solución de 3,5-dicloropicolinonitrilo (1,0 equiv.), 4,4,5,5-tetrametil-2-fenil-1,3,2-dioxaborolano (1,0 equiv.), tetraquis(trifenil-fosfina)paladio (5 mol%), y solución de carbonato de sodio acuosa 2 N (3,4 equiv.) en tolueno/etanol (2:1, 0,04 M) se agitó a 100 °C durante 2 horas, después a 80 °C durante 4 horas. Después del enfriamiento a temperatura ambiente, el contenido de la reacción se diluyó con acetato de etilo y agua. Las dos fases se separaron, y la capa acuosa se extrajo dos veces con acetato de etilo. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO₄ anhidro, y se concentraron al vacío. El material en bruto se purificó por cromatografía instantánea en un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando acetato de etilo al 0-80 % en hexano para dar un sólido de color blanco.

25

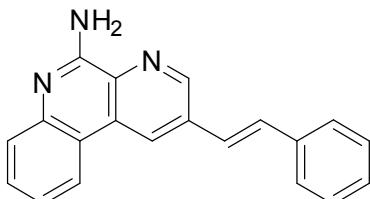
Paso 2: 2-fenilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina

30 Una solución de ácido 2-(terc-butoxicarbonilamino)fenilborónico (1,0 equiv.) y 3-cloro-5-fenilpicolinonitrilo (del paso 1) (1,0 equiv.), tetraquis(trifenil-fosfina)paladio (5 mol%), y solución acuosa de carbonato de sodio 2 N (2,0 equiv.) en tolueno/etanol (2:1, 0,03 M) se agitó a 100 °C durante la noche. Después del enfriamiento a temperatura ambiente, el contenido de la reacción se diluyó con metanol. Los sólidos insolubles se retiraron por filtración, y el filtrado se concentró al vacío para obtener un residuo en bruto. El producto en bruto se purificó por cromatografía instantánea en un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando acetato de etilo al 0-80 % en hexano para dar 2-fenilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina como un sólido de color blanco. RMN ¹H(dmso-d6): δ 9,13 (d, 1H), 9,03 (d, 1H), 8,56 (d, 1H), 7,98 (d, 2H), 7,43-7,56 (m, 5H), 7,27 (m, 1H), 7,13 (s a, 2H). LRMS [M+H] = 272,2.

35

Ejemplo 32

(E)-2-estirilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina

Paso 1: (E)-3-cloro-5-estirilpicolinonitrilo

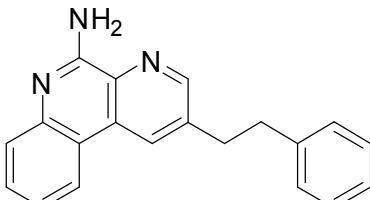
- 5 Una solución de 3,5-dicloropicolinonitrilo (1,0 equiv.), (E)-4,4,5,5-tetrametil-2-estiril-1,3,2-dioxaborolano (1,0 equiv.), *tetraquis*(trifenil-fosfina)paladio (5 mol%), y solución acuosa de carbonato de sodio 2 N (3,4 equiv.) en tolueno/etanol (2:1, 0,04 M) se agitó a 100 °C durante 2 horas, después a 80 °C durante 4 horas. Después del enfriamiento a temperatura ambiente, el contenido de la reacción se diluyó con acetato de etilo y agua. Las dos fases se separaron, y la capa acuosa se extrajo dos veces con acetato de etilo. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO₄ anhidro, y se concentraron al vacío. El producto en bruto se purificó por cromatografía instantánea en un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando acetato de etilo al 0-80 % en hexano para dar un sólido de color blanco.
- 10

Paso 2: (E)-2-estirilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina

- 15 Una solución de ácido 2-(terc-butoxicarbonilamino)fenilborónico (1,0 equiv.) y (E)-3-cloro-5-estirilpicolinonitrilo (del paso 1) (1,0 equiv.), *tetraquis*(trifenil-fosfina)paladio (5 mol%), y solución acuosa de carbonato de sodio 2 N (2,0 equiv.) en tolueno/etanol (2:1, 0,03 M) se agitó a 100 °C durante la noche. Después del enfriamiento a temperatura ambiente, el contenido de la reacción se diluyó con metanol. Los sólidos insolubles se retiraron por filtración, y el filtrado se concentró al vacío para obtener un residuo en bruto. El producto en bruto se purificó por cromatografía instantánea en un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando acetato de etilo al 0-80 % en hexano para dar (E)-2-estirilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina como un sólido de color pardo. RMN ¹H (dmso-d6): δ 9,22 (d, 1H), 9,06 (d, 1H), 8,51 (d, 1H), 7,78 (d, 1H), 7,66 (d, 2H), 7,46- 7,56 (m, 3H), 7,70 (t, 2H), 7,26- 7,32 (m, 2H), 7,08 (s a, 2H). LRMS [M+H] = 298,2.
- 20

Ejemplo 33

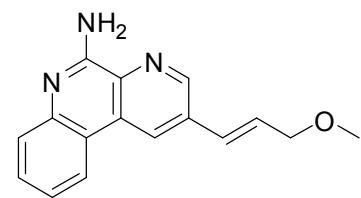
2-fenetylbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina



- 25 A una solución de (E)-2-estirilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina (Ejemplo 32) en acetato de etilo/metanol (1:4, 0,05 M) se le añadió paladio al 10 % en peso en carbono (0,2 equiv.). Mediante un globo se introdujo gas hidrógeno, y la reacción se agitó durante 3 horas. La mezcla se filtró a través de una lecho de celite, lavando con diclorometano. El filtrado se concentró al vacío y el producto en bruto se purificó por cromatografía instantánea en un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando acetato de etilo al 0-80 % en hexano para dar 2-fenetylbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina como un sólido de color amarillo. RMN ¹H (CDCl₃): δ 8,54 (d, 1H), 8,32 (d, 1H), 8,10 (dd, 1H), 7,63 (dd, 1H), 7,51 (m, 1H), 7,03 - 7,32 (m, 6H), 6,16 (s a, 2H), 3,11 (t, 2H), 2,97 (t, 2H). LRMS [M+H] = 300,1.
- 30

Ejemplo 34

(E)-2-(3-metoxiprop-1-enil)benzo[f][1,7]naftiridin-5-amina



35

Paso 1: (E)-3-cloro-5-(3-metoxiprop-1-enil)picolinonitrilo

Una solución de 3,5-dicloropicolinonitrilo (1,0 equiv.), (E)-2-(3-metoxiprop-1-enil)-4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolane (1,0 equiv.), *tetraquis*(trifenil-fosfina)paladio (5 mol%), y solución acuosa de carbonato de sodio 2 N (3,4 equiv.) en tolueno/etanol (2:1, 0,04 M) se agitó a 100 °C durante 2 horas, después a 80 °C durante 4 horas.

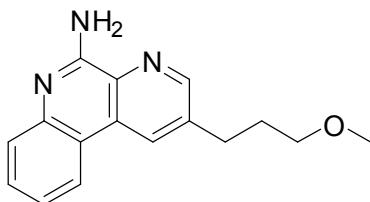
- 5 Después del enfriamiento a temperatura ambiente, el contenido de la reacción se diluyó con acetato de etilo y agua. Las dos fases se separaron, y la capa acuosa se extrajo dos veces con metanol al acetato de etilo. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO₄ anhídrico y se concentraron al vacío. El producto en bruto se purificó por cromatografía instantánea en un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando acetato de etilo al 0-80 % en hexano para dar (E)-3-cloro-5-(3-metoxiprop-1-enil)picolinonitrilo como un sólido de color blanco.

10 Paso 2: (E)-2-(3-metoxiprop-1-enil)benzo[f][1,7]naftiridin-5-amina

Una solución de ácido 2-(terc-butoxicarbonilamino)fenilborónico (1,0 equiv.) y (E)-3-cloro-5-(3-metoxiprop-1-enil)picolinonitrilo (del paso 1) (1,0 equiv.), *tetraquis*(trifenil-fosfina)paladio (5 mol%), y solución acuosa de carbonato de sodio 2 N (2,0 equiv.) en tolueno/etanol (2:1, 0,03 M) se agitó a 100 °C durante la noche. Después del enfriamiento a temperatura ambiente, el contenido de la reacción se diluyó con metanol. Los sólidos insolubles se retiraron por filtración, y el filtrado se concentró al vacío para obtener un residuo en bruto. El producto en bruto se purificó por cromatografía instantánea en un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando acetato de etilo al 0-80 % en hexano para dar (E)-2-(3-metoxiprop-1-enil)benzo[f][1,7]naftiridin-5-amina como un sólido de color amarillo. RMN ¹H (dmso-d6): δ 9,24 (d, 1H), 9,18 (d, 1H), 8,54 (d, 1H), 7,52- 7,58 (m, 2H), 7,31 (m, 1H), 7,11 (s a, 2H), 6,86 - 7,00 (m, 2H), 4,18 (d, 2H), 3,36 (s, 3H). LRMS [M+H] = 266,2.

20 **Ejemplo 35**

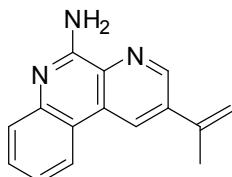
2-(3-metoxipropil)benzo[f][1,7]naftiridin-5-amina



A una solución de (E)-2-(3-metoxiprop-1-enil)benzo[f][1,7]naftiridin-5-amina (Ejemplo 34) en acetato de etilo/metanol (1:4, 0,05 M) se le añadió paladio al 10 % en peso en carbono (0,2 equiv.). Mediante un globo se introdujo gas hidrógeno, y la reacción se agitó durante 3 horas. La mezcla se filtró a través de una lecho de celite, lavando con diclorometano. El filtrado se concentró al vacío y el producto en bruto se purificó por cromatografía instantánea en un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando acetato de etilo al 0-80 % en hexano para dar 2-(3-metoxipropil)benzo[f][1,7]naftiridin-5-amina como un sólido de color blanco. RMN ¹H (CDCl₃): δ 8,64 (d, 1H), 8,46 (d, 1H), 8,19 (d, 1H), 7,66 (d, 1H), 7,53 (m, 1H), 7,31 (m, 1H), 6,56 (s a, 2H), 3,37 (t, 2H), 3,31 (s, 3H), 2,91 (t, 2H), 1,93 - 2,00 (m, 2H). LRMS [M+H] = 268,1.

Ejemplo 36

2-(prop-1-en-2-il)benzo[f][1,7]naftiridin-5-amina

Paso 1: 3-cloro-5-(prop-1-en-2-il)picolinonitrilo

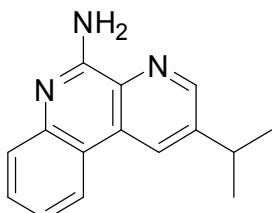
- 35 Una solución de 3,5-dicloropicolinonitrilo (1,0 equiv.), 4,4,5,5-tetrametil-2-(prop-1-en-2-il)-1,3,2-dioxaborolano (1,0 equiv.), *tetraquis*(trifenil-fosfina)paladio (5 mol%), y solución acuosa de carbonato de sodio 2 N (3,4 equiv.) en tolueno/etanol (2:1, 0,04 M) se agitó a 100 °C durante 2 horas, después a 80 °C durante 4 horas. Después del enfriamiento a temperatura ambiente, el contenido de la reacción se diluyó con acetato de etilo y agua. Las dos fases se separaron, y la capa acuosa se extrajo dos veces con acetato de etilo. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO₄ anhídrico, y se concentraron al vacío. El producto en bruto se purificó por cromatografía instantánea en un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando acetato de etilo al 0-80 % en hexano para dar 3-cloro-5-(prop-1-en-2-il)picolinonitrilo como un sólido de color blanco.

Paso 2: 2-(prop-1-en-2-il)benzo[f][1,7]naftiridin-5-amina

Una solución de ácido 2-(terc-butoxicarbonilamino)fenilborónico (1,0 equiv.) y 3-cloro-5-(prop-1-en-2-il)picolinonitrilo (del paso 1) (1,0 equiv.), tetraquis(trifenil-fosfina)paladio (5 mol%), y solución acuosa de carbonato de sodio 2 N (2,0 equiv.) en tolueno/etanol (2:1, 0,03 M) se agitó a 100 °C durante la noche. Después del enfriamiento a temperatura ambiente, el contenido de la reacción se diluyó con metanol. Los sólidos insolubles se retiraron por filtración, y el filtrado se concentró al vacío para obtener un residuo en bruto. El producto en bruto se purificó por cromatografía instantánea en un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando acetato de etilo al 0-80 % en hexano para dar 2-(prop-1-en-2-il)benzo[f][1,7]naftiridin-5-amina como un sólido de color blanco. RMN ¹H (dmso-d6): δ 9,03 (d, 1H), 8,96 (d, 1H), 8,55 (d, 1H), 7,47- 7,53 (m, 2H), 7,25 (m, 1H), 7,07 (s a, 2H) 5,80 (s, 1H), 5,36 (s, 1H), 2,27 (s, 3H). LRMS [M+H] = 236,2.

Ejemplo 37

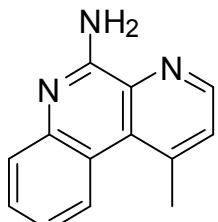
2-isopropilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina



A una solución de 2-(prop-1-en-2-il)benzo[f][1,7]naftiridin-5-amina (Ejemplo 36) en acetato de etilo/metanol (1:4, 0,05 M) se le añadió paladio al 10 % en peso en carbono (0,2 equiv.). Mediante un globo se introdujo gas hidrógeno, y la reacción se agitó durante 3 horas. La mezcla se filtró a través de una lecho de celite, lavando con diclorometano. El filtrado se concentró al vacío y el producto en bruto se purificó por cromatografía instantánea en un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando acetato de etilo al 0-80 % en hexano para dar 2-isopropilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina como un sólido de color amarillo. RMN ¹H (CDCl₃): δ 8,69 (d, 1H), 8,49 (d, 1H), 8,25 (dd, 1H), 7,65 (dd, 1H), 7,53 (m, 1H), 7,31 (m, 1H), 6,02 (s a, 2H), 3,15 (septet, 1H), 1,37 (d, 6H). LRMS [M+H] = 238,2.

Ejemplo 38

1-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina

Paso 1: 1-óxido de 5-bromo-2-cloro-4-metilpiridina

Una solución de 5-bromo-2-cloro-4-metilpiridina (1,0 equiv.) y ácido meta-cloroperbenzoico (mCPBA) (2,5 equiv.) en cloroformo (0,1 M) se agitó a 50 °C durante la noche. Después del enfriamiento a temperatura ambiente, se añadió Ca(OH)₂ (2,5 equiv.) a la mezcla de reacción. El precipitado se filtró y se lavó con 5 % metanol en diclorometano y acetato de etilo. El filtrado se lavó con solución acuosa saturada de Na₂S₂O₃ y solución acuosa saturada de NaHCO₃. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO₄, y se concentraron al vacío en un sólido pálido que se llevó al siguiente paso sin purificación adicional.

Paso 2: 3-bromo-6-cloro-4-metilpicolinonitrilo

A una solución de 1-óxido de 5-bromo-2-cloro-4-metilpiridina (del paso 1) (1,0 equiv.) en acetonitrilo (0,2 M) se añadió TMSCN (4,0 equiv.) y trietilamina (3,0 equiv.). La reacción se calentó a 100 °C durante la noche. Después del enfriamiento a temperatura ambiente, el disolvente se concentró al vacío, y el residuo se purificó por un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando acetato de etilo al 0-50 % en hexano para dar 3-bromo-6-cloro-4-metilpicolinonitrilo.

Paso 3: 3-cloro-1-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina

Una solución de ácido 2-(terc-butoxicarbonilamino)fenilborónico (1,0 equiv.) y 3-bromo-6-cloro-4-metilpicolinonitrilo (del paso 2) (1,0 equiv.), tetraquis(trifenil-fosfina)paladio (5 mol%), y solución acuosa de carbonato de sodio 2 N (2,0 equiv.) en tolueno/etanol (2:1, 0,03 M) se agitó a 100 °C durante la noche. Después del enfriamiento a temperatura ambiente, el contenido de la reacción se diluyó con metanol. Los sólidos insolubles se retiraron por

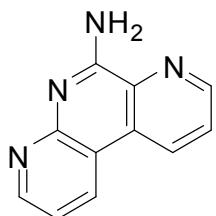
filtración, y el filtrado se concentró al vacío para obtener un residuo en bruto. El producto en bruto se purificó por cromatografía instantánea en un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando acetato de etilo al 0-80 % en hexano para dar 3-cloro-1-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina como un sólido de color blanco. RMN ¹H (dmso-d6): δ 8,44 (d, 1H), 7,83 (s, 1H), 7,50- 7,58 (m, 2H), 7,02 (s a, 2H), 2,98 (s, 3H). LRMS [M+H] = 244,1.

5 **Paso 4: 1-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina**

A una solución de 3-cloro-1-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina (del paso 3) en acetato de etilo/metanol (1:2, 0,03 M) se le añadió paladio al 10 % en peso en carbono (0,2 equiv.). El recipiente de reacción se agitó en un aparato Parr de hidrógeno en 344,74 Kpa (50 psi) de hidrógeno durante la noche. La mezcla se filtró a través de una lecho de celite, lavando con diclorometano. El filtrado se concentró al vacío y se purificó por un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando acetato de etilo al 0-80 % en hexano para dar 1-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina como un sólido de color blanco. RMN ¹H (CDCl₃): δ 8,63 (d, 1H), 8,44 (d, 1H), 7,71 (dd, 1H), 7,54 (m, 1H), 7,45 (d, 1H), 7,30 (m, 1H), 6,20 (s a, 2H), 3,01 (s, 3H). LRMS [M+H] = 210,1.

Ejemplo 40

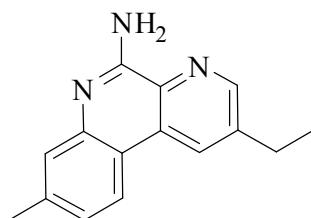
Pirido[3,2-f][1,7]naftiridin-6-amina



15 Una solución de 3-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)piridin-2-ilcarbamato de *terc*-butilo (1,0 equiv.) y 3-bromopicolinonitrilo (1,0 equiv.), *tetraquis*(trifenil-fosfina)paladio (5 mol%), y solución acuosa de carbonato de sodio 2 N (2,0 equiv.) en tolueno/etanol (2:1, 0,03 M) se agitó a 100 °C durante la noche. Después del enfriamiento a temperatura ambiente, el contenido de la reacción se diluyó con metanol. Los sólidos insolubles se retiraron por filtración, y el filtrado se concentró al vacío para obtener un residuo en bruto. El producto en bruto se purificó por cromatografía instantánea en un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando acetato de etilo al 0-80 % en hexano para dar pirido[3,2-f][1,7]naftiridin-6-amina como un sólido de color blanco. RMN ¹H (dmso-d6): δ 9,14 (dd, 1H), 8,98 (dd, 1H), 8,90 (dd, 1H), 7,93 (dd, 1H), 7,60 (s a, 2H), 7,30 (dd, 1H). LRMS [M+H] = 197.

Ejemplo 41

25 2-etil-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina



Paso 1: 8-metil-2-vinilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina

Una solución de 5-metil-2-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenilcarbamato de *terc*-butilo (del Ejemplo 5/paso 2) (1,0 equiv.) y 3-cloro-5-vinilpicolinonitrilo (del Ejemplo 29 / Paso 1) (1,0 equiv.), *tetraquis*(trifenil-fosfina)paladio (5 mol%), y solución acuosa de carbonato de sodio 2 N (2,0 equiv.) en tolueno/etanol (2:1, 0,03 M) se agitó a 100 °C durante la noche. Después del enfriamiento a temperatura ambiente, el contenido de la reacción se diluyó con metanol. Los sólidos insolubles se retiraron por filtración, y el filtrado se concentró al vacío para obtener un residuo en bruto. El material en bruto se purificó por cromatografía instantánea en un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando acetato de etilo al 0-80 % en hexano para dar 8-metil-2-vinilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina como un sólido de color amarillo.

Paso 2: 2-etil-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina

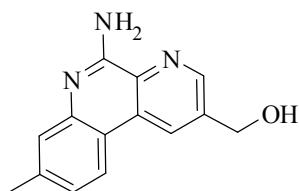
A una solución de 8-metil-2-vinilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina (del paso previo) en acetato de etilo/metanol (1:4, 0,05 M) se le añadió paladio al 10 % en peso en carbono (0,2 equiv.). Mediante un globo se introdujo gas hidrógeno, y la reacción se agitó durante 3 horas. La mezcla se filtró a través de un lecho de celite y se lavó con diclorometano. El filtrado se concentró al vacío y se purificó por un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando acetato de etilo al 0-80 % en hexano para dar 2-etil-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina como un sólido blanquecino. RMN ¹H (CDCl₃): δ

8,61 (d, 1H), 8,42 (d, 1H), 8,10 (d, 1H), 7,44 (s, 1H), 7,12 (dd, 1H), 6,00 (s a, 2H), 2,84 (q, 2H), 2,45 (s, 3H), 1,33 (t, 3H). LRMS [M+H] = 238,1.

Ejemplo 42

(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)metanol

5



Paso 1: 5-cloro-6-cianonicotinato de etilo

Una solución de 5,6-dicloronicotinato de etilo (1 equiv), cianuro de zinc (0,75 equiv) y *tetraquis*(trifenil-fosfina)palladio (0,10 equiv.) en DMF (0,3 M) se desgasificó después se calentó a 100 °C durante 3 horas. El disolvente se retiró al vacío para obtener un residuo en bruto. El material en bruto se purificó por cromatografía instantánea en un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando acetato de etilo al 0-80 % en hexano para dar 5-cloro-6-cianonicotinato de etilo como un sólido de color blanco.

Paso 2: 5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridina-2-carboxilato de etilo

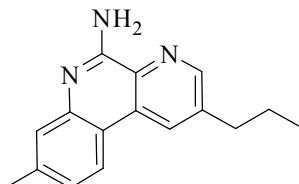
Una solución de 5-metil-2-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenilcarbamato de *terc*-butilo (del Ejemplo 5 /paso 2) (1,0 equiv.) y 5-cloro-6-cianonicotinato de etilo (del paso previo) (1,0 equiv.), *tetraquis*(trifenil-fosfina)palladio (5 mol%), y solución acuosa de carbonato de sodio 2 N (2,0 equiv.) en tolueno/etanol (2:1, 0,03 M) se agitó a 100 °C durante la noche. Después del enfriamiento a temperatura ambiente, el contenido de la reacción se diluyó con metanol. Los sólidos insolubles se retiraron por filtración, y el filtrado se concentró al vacío para obtener un residuo en bruto. El material en bruto se purificó por cromatografía instantánea en un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando acetato de etilo al 0-80 % en hexano para dar 5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridina-2-carboxilato de etilo.

20 Paso 3: 2-etil-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina

A una solución en agitación de 5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridina-2-carboxilato de etilo (del paso previo) en THF (0,2 M) enfriada en un baño de agua con hielo se le añadió solución 1 N de super hidruro en THF (10 equiv.). Al término de la reacción, la reacción se detuvo con HCl 1 N, y se extrajo con EtOAc. Los extractos orgánicos combinados se concentraron al vacío para obtener un residuo en bruto. El material en bruto se purificó por cromatografía instantánea en un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando acetato de etilo al 0-80 % en hexano para dar (5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)metanol como un sólido de color blanco. RMN ¹H (CDCl₃): δ 8,68 (d, 1H), 8,52 (d, 1H), 8,04 (d, 1H), 7,44 (s, 1H), 7,12 (dd, 1H), 6,00 (s a, 2H), 4,90 (s, 2H), 2,45 (s, 3H). LRMS [M+H] = 240,1

Ejemplo 43

30 8-metil-2-propilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina



Paso 1: (E)-3-cloro-5-(prop-1-enil)picolinonitrilo

Una solución de 3,5-dicloropicolinonitrilo (1,0 equiv.), (E)-4,4,5,5-tetrametil-2-(prop-1-enil)-1,3,2-dioxaborolano (1,0 equiv.), *tetraquis*(trifenil-fosfina)palladio (5 mol%), y solución acuosa de carbonato de sodio 2 N (3,4 equiv.) en tolueno/etanol (2:1, 0,04 M) se agitó a 95 °C durante la noche. Después del enfriamiento a temperatura ambiente, el contenido de la reacción se diluyó con acetato de etilo y agua. Las dos fases se separaron, y la capa acuosa se extrajo dos veces con acetato de etilo. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO₄ anhídrico, y se concentraron al vacío para obtener un residuo en bruto. El material en bruto se purificó por cromatografía instantánea en un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando acetato de etilo al 0-80 % en hexano para dar un sólido de color blanco (E)-3-cloro-5-(prop-1-enil)picolinonitrilo.

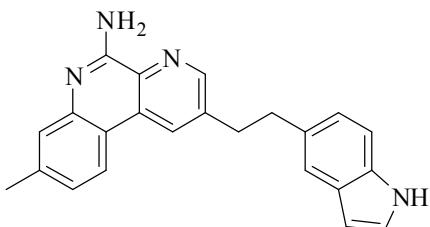
Paso 2: (E)-8-metil-2-(prop-1-enil)benzo[f][1,7]naftiridin-5-amina

Una solución de 5-metil-2-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenilcarbamato de *terc*-butilo (del Ejemplo 5 / Paso 2) (1,0 equiv.) y (E)-3-cloro-5-(prop-1-enil)picolinonitrilo (del paso previo) (1,0 equiv.), *tetraquis*(trifenilfosfina)paladio (5 mol%), y solución acuosa de carbonato de sodio 2 N (2,0 equiv.) en tolueno/etanol (2:1, 0,03 M) se

5 agitó a 100 °C durante la noche. Después del enfriamiento a temperatura ambiente, el contenido de la reacción se diluyó con metanol. Los sólidos insolubles se retiraron por filtración, y el filtrado se concentró al vacío para obtener un residuo en bruto. El material en bruto se purificó por cromatografía instantánea en un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando acetato de etilo al 0-80 % en hexano para dar (E)-8-metil-2-(prop-1-enil)benzo[f][1,7]naftiridin-5-amina como un sólido de color amarillo.

Paso 3: 8-metil-2-propilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina

A una solución de (E)-8-metil-2-(prop-1-enil)benzo[f][1,7]naftiridin-5-amina (del paso previo) en acetato de etilo/metanol (1:4, 0,05 M) se le añadió paladio al 10 % en peso en carbono (0,2 equiv.). Mediante un globo se introdujo gas hidrógeno, y la reacción se agitó durante 3 horas. La mezcla se filtró a través de una lecho de celite, lavando con diclorometano. El filtrado se concentró al vacío y se purificó por un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando acetato de etilo al 0-80 % en hexano para dar 8-metil-2-propilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina como un sólido blanquecino. RMN ¹H(CDCl₃): δ 8,59 (d, 1H), 8,41 (d, 1H), 8,10 (d, 1H), 7,43 (s, 1H), 7,13 (dd, 1H), 5,94 (s a, 2H), 2,78 (t, 2H), 2,44 (s, 3H), 1,75 (m, 2H), 0,95 (t, 3H). LRMS [M+H] = 252,1

Ejemplo 442-(2-(1H-indol-5-il)ethyl)-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina

20

Paso 1: 5-((triethylsilyl)etinil)-1H-indol

A un vial de escintilación se le añadieron -yodo-1H-indol (1,1 equiv.), triethyl(etinil)silano (1 equiv.), trietilamina (5 equiv.), y DMF anhidra (0,2 M). Se sometió a vacío y se enjuagó con nitrógeno tres veces. Se añadieron Cul (0,1 equiv.) y bis(trifenilfosfina)dicloro-paladio(II) (0,1 equiv.). El vial se selló y calentó a 60 °C durante la noche. Al término de la reacción como se monitoriza por TLC, se cargó el contenido del frasco sobre una columna de gel de sílice pretratada con hexano. La columna se lavó con hexanos y éter dietílico hasta que se recolectaron todos los eluyentes que contienen el producto. La destilación cuidadosa de los hexanos y éter usando evaporador giratorio con calentamiento mínimo dio el producto 5-((triethylsilyl)etinil)-1H-indol como un aceite incoloro, que se llevó directamente al siguiente paso.

Paso 2: 5-etinil-1H-indol

A una solución en agitación de 5-((triethylsilyl)etinil)-1H-indol (del paso previo) en THF (0,2 M) enfriada a 0 °C se trató con una solución (0,5 equiv.) de fluoruro de tetrabutilamonio de una manera gota a gota. La mezcla de reacción se volvió negra y se continúa agitando durante 30 minutos antes de calentar hasta temperatura ambiente. La TLC mostró conversión completa. La reacción se detuvo con agua y se extrajo con éter dietílico. Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentraron usando evaporador giratorio con calentamiento mínimo. La cromatografía (gel de sílice, éter dietílico) dio el producto 5-etinil-1H-indol como un aceite incoloro.

Paso 3: 5-((1H-indol-5-il)etinil)-3-cloropicolinonitrilo

En un matraz de fondo redondo tapado con septo se añadió 5-etinil-1H-indol (del paso previo) (1,1 equiv), 3,5-dicloropicolinonitrilo (1 equiv.), trietilamina (5 equiv.), y DMF anhidra (0,2 M). Se sometió a vacío y enjuague con nitrógeno durante tres veces. Se añadieron Cul (0,05 equiv.) y bis(trifenilfosfina)dicloro-paladio(II) (0,05 equiv.). El septo se reemplazó con un condensador de reflujo y el matraz se calentó a 60 °C durante la noche en atmósfera de nitrógeno. El término de la reacción como se monitoriza por TLC, el contenido del matraz se cargó sobre una columna grande de gel de sílice pretratada con hexanos. La cromatografía instantánea (gel de sílice, hexanos:EtOAc (1:4 %)) dio el producto 5-((1H-indol-5-il)etinil)-3-cloropicolinonitrilo.

Paso 4: 2-((1H-indol-5-il)etinil)-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina

A un matraz de fondo redondo con condensador de reflujo se añadieron 5-((1H-indol-5-il)etinil)-3-cloropicolinonitrilo (del paso previo) (1 equiv.), 2-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenilcarbamato de *terc*-butilo (del Ejemplo 5 /

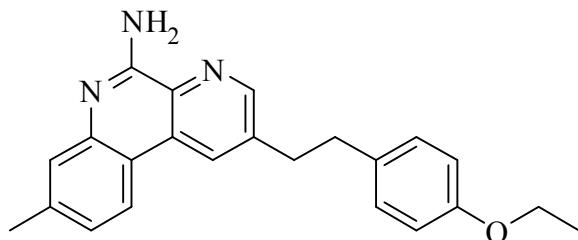
Paso 2) (1,25 equiv.), K_3PO_4 (2 equiv.), tris(dibencilideneacetona)dipaladio(0) (0,05 equiv.), y 2-Diciclohexilfosfino-2',6'-dimetoxibifenilo (0,1 equiv.) se le añadieron n-Butanol y agua (5:2, 0,2 M), y el contenido se desgasificó (vacío seguido por enjuague con nitrógeno) durante tres veces. La mezcla de reacción se agitó vigorosamente en nitrógeno a 100 °C durante la noche en un baño de aceite. El contenido se enfrió y se mantuvo en 200 ml de agua seguido por extracción con cloruro de metileno. Las capas orgánicas combinadas se secaron (Na_2SO_4) y se concentraron. La cromatografía instantánea (gel de sílice, 0 - 50 % EtOAc en CH_2Cl_2) dio el producto 2-((1H-indol-5-il)etinil)-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina como un sólido de color amarillo.

Paso 5: 2-(2-(2,3-dihidrobenzofuran-5-il)etil)-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina

A un matraz de fondo redondo se le añadieron 2-((1H-indol-5-il)etinil)-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina (del paso previo) (1 equiv.) con una barra de agitación. Se añadieron etanol y cloruro de metileno (1:2, 0,2 M), seguido por paladio en carbono (polvo activado, húmedo, 10 % en carbono, 0,1 equiv.). El contenido se sometió a vacío seguido por enjuague por hidrógeno durante tres veces. La mezcla de reacción se agitó vigorosamente en un globo de hidrógeno a temperatura ambiente durante la noche. Posteriormente, la mezcla de reacción se filtró a través de una lecho de celite, y la lecho de celite se lavó subsiguientemente con cloruro de metileno y EtOAc hasta que el filtrado no tiene absorción de UV. Los lavados orgánicos combinados se concentraron. La cromatografía instantánea (gel de sílice, EtOAc al 0 - 50 % en CH_2Cl_2) dio el producto 2-(2-(2,3-Dihidrobenzofuran-5-il)etil)-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina como un sólido de color amarillo. RMN 1H ($CDCl_3$): δ 8,54 (d, 1H), 8,34 (d, 1H), 8,28 (s, 1H), 7,99 (d, 1H), 7,64 - 7,56 (m, 1H), 7,50 - 7,35 (m, 1H), 7,24 (d, 1H), 7,12 (t, 1H), 7,08 (dd, 1H), 6,92 (dd, 1H), 6,41 (s, 1H), 6,01 (s a, 2H), 3,16 - 3,12 (m, 2H), 3,10 - 3,05 (m, 2H), 2,43 (s, 3H). LRMS [M+H] = 353,2

Ejemplo 45

2-(4-etoxifenil)-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina



Paso 1: 3-cloro-5-((4-etoxifenil)etinil)picolinonitrilo

A un matraz de fondo redondo tapado con septo se le añadieron 1-etoxi-4-etinilbenceno (1,1 equiv), 3,5-dicloropicolinonitrilo (1 equiv.), trietilamina (5 equiv.), y DMF anhidra (0,2 M). Se sometió a vacío y enjuague con nitrógeno durante tres veces. Se añadieron CuI (0,05 equiv.) y bis(trifenilfosfina)dicloro-paladio(II) (0,05 equiv). El septo se reemplazó con un condensador de reflujo y el matraz se calentó a 60 °C durante la noche en atmósfera de nitrógeno. El término de la reacción como se monitoriza por TLC, el contenido del matraz se cargó sobre una columna grande de gel de sílice pretratada con hexanos. La cromatografía instantánea (gel de sílice, hexanos:EtOAc (1:4 %)) dio el producto 3-cloro-5-((4-etoxifenil)etinil)picolinonitrilo.

Paso 2: 2-((4-etoxifenil)etinil)-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina

A un matraz de fondo redondo con condensador de reflujo se le añadieron 3-cloro-5-((4-etoxifenil)etinil)picolinonitrilo (del paso previo) (1 equiv.), 5-metil-2-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenilcarbamato de *terc*-butilo (del Ejemplo 5 / Paso 2) (1,25 equiv.), K_3PO_4 (2 equiv.), tris(dibencilideneacetona)dipaladio(0) (0,05 equiv.), y 2-diciclohexilfosfino-2',6'-dimetoxibifenilo (0,1 equiv.). Se añadieron n-Butanol y agua (5:2, 0,2 M), y el contenido se desgasificó (vacío seguido por enjuague de nitrógeno) durante tres veces. La mezcla de reacción se agitó vigorosamente en nitrógeno a 100 °C durante la noche en un baño de aceite. El contenido se enfrió y se mantuvo en 200 ml de agua seguido por extracción de cloruro de metileno. Las capas orgánicas combinadas se secaron (Na_2SO_4) y se concentraron. La cromatografía instantánea (gel de sílice, 0 - 50 % EtOAc en CH_2Cl_2) dio el producto 2-((4-etoxifenil)etinil)-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina.

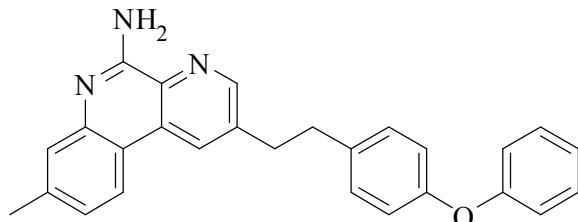
Paso 3: 2-(4-etoxifenetil)-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina

A un matraz de fondo redondo se le añadió 2-((4-etoxifenil)etinil)-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina (del paso previo) (1 equiv.) con una barra de agitación. Se añadieron etanol y cloruro de metileno (1:2, 0,2 M), seguido por paladio en carbono (polvo activado, húmedo, 10 % en carbono, 0,1 equiv.). Los contenidos se desgasificaron al vacío seguido por enjuague con hidrógeno (tres veces). La mezcla de reacción se agitó vigorosamente en un globo de hidrógeno a temperatura ambiente durante la noche. Posteriormente la mezcla de reacción se filtró a través de una lecho de celite, y la lecho de celite se lavó subsiguientemente con cloruro de metileno y EtOAc hasta que el filtrado no tiene absorción de UV. Los lavados orgánicos combinados se concentraron. La cromatografía instantánea (gel de sílice, 0 - 50 % EtOAc en CH_2Cl_2) dio el producto como un sólido de color amarillo. La recristalización

adicional usando tolueno dio el producto 2-(4-etoxifenetil)-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina como un cristal fino blanco. RMN ^1H (CDCl_3): δ 8,52 (d, 1H), 8,30 (d, 1H), 8,10 (d, 1H), 7,46 (s, 1H), 7,12 (dd, 1H), 7,06 (d, 2H), 6,75 (d, 2H), 5,95 (s a, 2H), 3,93 (q, 2H), 3,11 - 3,05 (dd, 2H), 2,95 - 2,90 (dd, 2H), 2,44 (s, 3H), 1,33 (t, 3H). LRMS [M+H] = 358,2

5 **Ejemplo 46**

8-metil-2-(4-fenoxifenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-5-amina



Paso 1: 3-cloro-5-((4-fenoxifenil)etinil)picolinonitrilo

10 Se preparó 3-Cloro-5-((4-fenoxifenil)etinil)picolinonitrilo a partir de 1-etinil-4-fenoxibenceno (comercialmente disponible) siguiendo los procedimientos descritos para el Ejemplo 45, paso 1.

Paso 2: 8-metil-2-((4-fenoxifenil)etinil)-benzo[f][1,7]naftiridin-5-amina

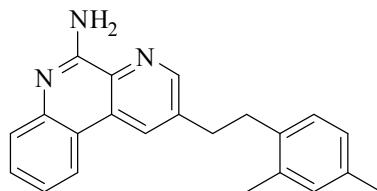
Se preparó 8-Metil-2-((4-fenoxifenil)etinil)benzo[f][1,7]naftiridin-5-amina a partir de 3-cloro-5-((4-fenoxifenil)etinil)picolinonitrilo (del paso previo) siguiendo los procedimientos descritos para el Ejemplo 45, paso 2.

Paso 3: 8-metil-2-(4-fenoxifenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-5-amina

15 Se preparó 8-Metil-2-(4-fenoxifenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-5-amina a partir de 8-metil-2-(4-fenoxifenil)etinil)benzo[f][1,7]naftiridin-5-amina (del paso previo) siguiendo los procedimientos descritos para el Ejemplo 45, paso 3. RMN ^1H (CDCl_3): δ 8,54 (d, 1H), 8,30 (d, 1H), 8,01 (d, 1H), 7,45 (s, 1H), 7,25 - 7,20 (m, 2H), 7,12 (dd, 1H), 7,07 - 6,84 (m, 8H), 6,00 (s a, 2H), 3,13 - 3,08 (dd, 2H), 2,99 - 2,94 (dd, 2H), 2,44 (s, 3H). LRMS [M+H] = 406,2

Ejemplo 47

20 2-(2,4-dimetilfenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-5-amina



Paso 1: ((2,4-dimetilfenil)etinil)triethylsilano

Se preparó ((2,4-Dimetilfenil)etinil)triethylsilano a partir de 1-yodo-2,4-dimetilbenceno (comercialmente disponible) siguiendo los procedimientos descritos para el Ejemplo 44, paso 1.

25 Paso 2: 1-etinil-2,4-dimetilbenceno

Se preparó 1-Etinil-2,4-dimetilbenceno a partir de ((2,4-dimetilfenil)etinil)triethylsilano (del paso previo) siguiendo los procedimientos descritos para el Ejemplo 44, paso 2.

Paso 3: 3-cloro-5-((2,4-dimetilfenil)etinil)picolinonitrilo

30 Se preparó 3-Cloro-5-((2,4-dimetilfenil)etinil)picolinonitrilo de 1-etinil-2,4-dimetilbenceno (del paso previo) siguiendo los procedimientos descritos para el Ejemplo 44, paso 3.

Paso 4: 2-((2,4-dimetilfenil)etinil)benzo[f][1,7]naftiridin-5-amina

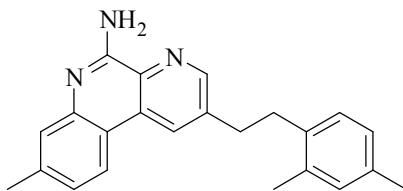
Se preparó 2-((2,4-Dimetilfenil)etinil)benzo[f][1,7]naftiridin-5-amina a partir de 3-cloro-5-((2,4-dimetilfenil)etinil)picolinonitrilo (del paso previo) siguiendo los procedimientos descritos para el Ejemplo 44, paso 4.

Paso 5: 2-(2,4-dimetilfenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-5-amina

- Se preparó 2-(2,4-Dimetilfenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-5-amina a partir de 2-((2,4-dimetilfenil)etinil)benzo[f][1,7]naftiridin-5-amina (del paso previo) siguiendo los procedimientos descritos para el Ejemplo 44, paso 5. RMN ¹H (CDCl₃): δ 8,60 (d, 1H), 8,33 (d, 1H), 8,14 (d, 1H), 7,67 (d, 1H), 7,54 (t, 1H), 7,31 (t, 1H), 6,96 - 6,86 (m, 3H), 6,29 (s a, 2H), 3,04 - 3,10 (dd, 2H), 2,97 - 2,91 (dd, 2H), 2,24 (s, 3H), 2,20 (s, 3H). LRMS [M+H] = 328,2.

Ejemplo 48

2-(2,4-dimetilfenetil)-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina

Paso 1: 2-((2,4-dimetilfenil)etinil)-8-metilbenzo[f][1,7]-naftiridin-5-amina

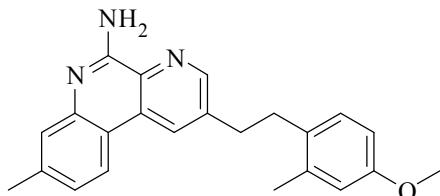
- 10 Se preparó 2-((2,4-Dimetilfenil)etinil)-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina a partir de 3-cloro-5-((2,4-dimetilfenil)etinil)picolinonitrilo (del Ejemplo 47 / Paso 3) y 5-metil-2-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenilcarbamato de *terc*-butilo (del Ejemplo 5 / Paso 2) siguiendo los procedimientos descritos para el Ejemplo 44, paso 4.

Paso 2: 2-(2,4-dimetilfenetil)-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina

- 15 Se preparó 2-(2,4-Dimetilfenetil)-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina a partir de 1-etinil-4-fenoxibenceno (del paso previo) siguiendo los procedimientos descritos para el Ejemplo 44, paso 5. RMN ¹H (CDCl₃): δ 8,56 (d, 1H), 8,28 (d, 1H), 8,00 (d, 1H), 7,46 (s, 1H), 7,14 (dd, 1H), 6,95 - 6,85 (m, 3H), 6,26 (s a, 2H), 3,08 - 3,02 (dd, 2H), 2,96 - 2,90 (dd, 2H), 2,45 (s, 3H), 2,23 (s, 3H), 2,19 (s, 3H). LRMS [M+H] = 342,2

Ejemplo 49

2-(4-metoxi-2-metilfenetil)-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina

Paso 1: 3-cloro-5-((4-metoxi-2-metilfenil)etinil)picolinonitrilo

Se preparó 3-Cloro-5-((4-metoxi-2-metilfenil)etinil)picolinonitrilo a partir de 1-etinil-4-metoxi-2-metilbenceno (comercialmente disponible) siguiendo el procedimiento descrito para el Ejemplo 44 / Paso 3.

Paso 2: 2-((4-metoxi-2-metilfenil)etinil)-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina

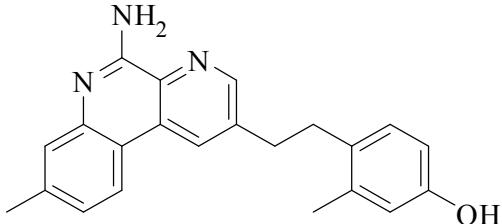
Se preparó 2-((4-Metoxi-2-metilfenil)etinil)-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina a partir de 3-cloro-5-(4-metoxi-2-metilfenetil)picolinonitrilo (del paso previo) siguiendo los procedimientos descritos para el Ejemplo 44, paso 4.

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

- 30 Se preparó 2-(4-Metoxi-2-metilfenetil)-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina a partir de 2-((4-metoxi-2-metilfenil)etinil)-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina (del paso previo) siguiendo los procedimientos descritos para el Ejemplo 44, paso 5. RMN ¹H (CDCl₃): δ 8,53 (d, 1H), 8,29 (d, 1H), 8,01 (d, 1H), 7,44 (s, 1H), 7,12 (dd, 1H), 6,93 (d, 1H), 6,67 (d, 1H), 6,60 (dd, 1H), 5,93 (s a, 2H), 3,70 (s, 3H), 3,05 - 3,00 (dd, 2H), 2,93 - 2,88 (dd, 2H), 2,44 (s, 3H), 2,19 (s, 3H). LRMS [M+H] = 358,2

Ejemplo 50

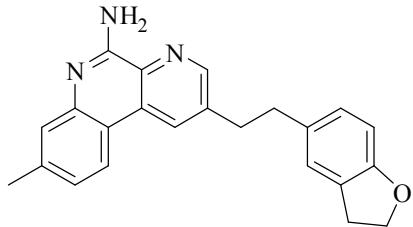
4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenol



- 5 A una solución en agitación de 2-(4-metoxi-2-metilfenetil)-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina (Ejemplo 49) en cloruro de metileno (0,2 M) en un baño con agua con hielo se le añadió solución 1 N de BBr_3 (2 equiv) en CH_2Cl_2 de una manera gota a gota. En 30 minutos la reacción se detuvo con metanol y se concentró al vacío para obtener un residuo en bruto. El material en bruto se purificó por cromatografía instantánea en un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando 0-20 % metanol en diclorometano para dar 4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenol como un sólido de color blanco. RMN ^1H (DMSO- d_6): δ 8,99 (s, 1H), 8,75 (d, 1H), 8,60 (d, 1H), 8,27 (d, 1H), 7,28 (s, 1H), 7,09 (dd, 1H), 6,99 (s a, 2H), 6,88 (d, 1H), 6,49 (d, 1H), 6,42 (dd, 1H), 3,02 - 2,96 (dd, 2H), 2,86 - 2,81 (dd, 2H), 2,38 (s, 3H), 2,13 (s, 3H). LRMS [M+H] = 344,2
- 10

Ejemplo 51

2-(2-(2,3-dihidrobenzofuran-5-il)etil)-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina



- 15 Paso 1: ((2,3-dihidrobenzofuran-5-il)etinil)trietsilsilano

Se preparó ((2,3-Dihidrobenzofuran-5-il)etinil)trietsilsilano a partir de 5-yodo-2,3-dihidrobenzofurano (comercialmente disponible) siguiendo los procedimientos descritos para el Ejemplo 44, paso 1.

Paso 2: 5-etinil-2,3-dihidrobenzofurano

- 20 Se preparó 5-Etinil-2,3-dihidrobenzofurano a partir de ((2,3-dihidrobenzofuran-5-il)etinil)trietsilsilano (del paso previo) siguiendo los procedimientos descritos para el Ejemplo 44 / Paso 2.

Paso 3: 3-cloro-5-((2,3-dihidrobenzofuran-5-il)etinil)picolinonitrilo

Se preparó 3-Cloro-5-((2,3-dihidrobenzofuran-5-il)etinil)picolinonitrilo a partir de 5-etinil-2,3-dihidrobenzofuran (del paso previo) siguiendo los procedimientos descritos para el Ejemplo 44 / Paso 3.

Paso 4: 2-((2,3-dihidrobenzofuran-5-il)etinil)-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina

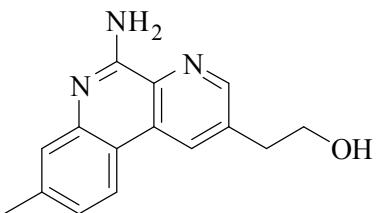
- 25 Se preparó 2-((2,3-Dihidrobenzofuran-5-il)etinil)-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina a partir de 3-cloro-5-(4-metoxi-2-metilfenetil)picolinonitrilo (del paso previo) siguiendo los procedimientos descritos para el Ejemplo 44 / Paso 4.

Paso 5: 2-(2-(2,3-dihidrobenzofuran-5-il)etil)-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina

- 30 Se preparó 2-(2-(2,3-Dihidrobenzofuran-5-il)etil)-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina a partir de 2-((2,3-dihidrobenzofuran-5-il)etinil)-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina (del paso previo) siguiendo los procedimientos descritos para el Ejemplo 44 / Paso 5. RMN ^1H (CDCl_3): δ 8,62 (d, 1H), 8,40 (d, 1H), 8,11 (d, 1H), 7,53 (s, 1H), 7,21 (dd, 1H), 6,99 (s, 1H), 6,95 (dd, 1H), 6,74 (d, 1H), 6,05 (s a, 2H), 4,57 (t, 2H), 3,19 - 3,13 (m, 4H), 3,03 - 2,98 (dd, 2H), 2,54 (s, 3H). LRMS [M+H] = 356,2

Ejemplo 52

2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etanol

Paso 1: (Z)-3-cloro-5-(2-etoxivinil)picolinonitrilo

- 5 Se preparó (Z)-3-Cloro-5-(2-etoxivinil)picolinonitrilo a partir de (Z)-2-(2-etoxivinil)-4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolano (comercialmente disponible) siguiendo los procedimientos descritos para el Ejemplo 43 / Paso 1.

Paso 2: (Z)-2-(2-etoxivinil)-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina

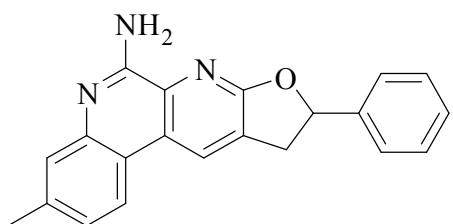
Se preparó (Z)-2-(2-Etoxivinil)-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina (Z)-3-cloro-5-(2-etoxivinil)picolinonitrilo (del paso previo) siguiendo los procedimientos descritos para el Ejemplo 43 / Paso 2.

Paso 3: 2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etanol

Una solución de (Z)-2-(2-etoxivinil)-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina (del paso previo) en una mezcla de HCl concentrado de dioxano 2:5 (0,1 M) se calentó a 60 °C durante la noche. Al enfriar a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se trató con un exceso de NaHCO₃ en solución saturada, seguido por extracción con EtOAc. Los extractos orgánicos combinados se concentraron y se mantuvieron en THF (0,2 M), y se trataron con una solución de superhidruro 1 N en THF (10 equiv.) a 0 °C. La mezcla de reacción se dejó calentar a temperatura ambiente y se agitó durante la noche. La reacción se trató siguiendo los procedimientos descritos para el Ejemplo 42 / Paso 3, para dar 2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etanol como un sólido de color blanco. RMN ¹H (CDCl₃): δ 8,61 (d, 1H), 8,47 (d, 1H), 8,01 (d, 1H), 7,41 (s, 1H), 7,10 (d, 1H), 6,40 (s, 1H), 6,01 (s a, 2H), 4,01 (t, 2H), 3,06 (t, 2H), 2,43 (s, 3H). LRMS [M+H] = 254,1

Ejemplo 53

3-metil-9-fenil-9,10-dihidrobenzo[f]furo[2,3-b][1,7]naftiridin-6-amina

Paso 1: 1-óxido 5-bromo-2-cloro-3-metilpiridina

- 25 Se preparó 1-óxido de 5-bromo-2-cloro-3-metilpiridina a partir de 5-bromo-2-cloro-3-metilpiridina (comercialmente disponible) siguiendo los procedimientos descritos para el Ejemplo 19 / Paso 1.

Paso 2: 3-bromo-6-cloro-5-metilpicolinonitrilo

Se preparó 3-Bromo-6-cloro-5-metilpicolinonitrilo a partir de (Z)-3-cloro-5-(2-etoxivinil)picolinonitrilo (del paso previo) siguiendo los procedimientos descritos para el Ejemplo 19 / Paso 2.

Paso 3: 3-bromo-6-cloro-5-(2-hidroxi-2-feniletil)picolinonitrilo

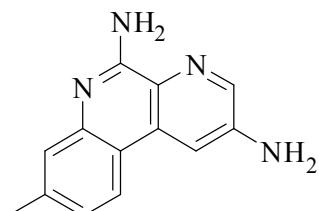
- 30 Una solución de 3-bromo-6-cloro-5-metilpicolinonitrilo (del paso previo) en THF (0,2 M) se enfrió a -78 °C. Se añadió gota a gota LDA (solución 2 N, 2 equiv). La reacción se mantuvo agitando a -78 °C durante 1 hora, seguido por la adición de benzaldehído (1 equiv). La reacción se mantuvo agitando a -78 °C durante otros 30 minutos antes de dejarla calentar lentamente a temperatura ambiente. La reacción se detuvo con NH₄Cl saturado y se extrajo con EtOAc. Los lavados orgánicos combinados se concentraron. La cromatografía instantánea (gel de sílice, 20 - 50 % EtOAc en hexanos) dio el producto 3-bromo-6-cloro-5-(2-hidroxi-2-feniletil)picolinonitrilo como un sólido de color amarillo.

Paso 4: 3-metil-9-fenil-9,10-dihidrobenzo[f]furo[2,3-b][1,7]naftiridin-6-amina

Se preparó 3-Metil-9-fenil-9,10-dihidrobenzo[f]furo[2,3-b][1,7]naftiridin-6-amina a partir de 3-bromo-6-cloro-5-metilpicolinonitrilo (del paso previo) siguiendo los procedimientos descritos para el Ejemplo 44 / Paso 4. RMN ¹H (CDCl₃): δ 8,45 (s, 1H), 7,98 (d, 1H), 7,45 (s, 1H), 7,40 - 7,28 (m, 5H), 7,12 (d, 1H), 5,93 (t, 1H), 5,93 (brs, 2H), 3,86 (dd, 1H), 3,40 (dd, 1H), 2,44 (s, 3H). LRMS [M+H] = 328,1

Ejemplo 54

8-metilbenzo[f][1,7]naftiridina-2,5-diamina

Paso 1: 5,6-dicloropiridin-3-ilcarbamato de terc-butilo

10 A una solución de 5,6-dicloropiridin-3-amina (comercialmente disponible) en THF (0,2 M) agitadas a 0 °C se le añadió (BOC)₂O (1,2 equiv). La mezcla reacción se calentó a 40 °C hasta conversión completa como se monitoriza por TLC. La mezcla de reacción después se concentró. La cromatografía instantánea (gel de sílice, 20 - 50 % EtOAc en hexanos) di el 5,6-dicloropiridin-3-ilcarbamato de terc-butilo en bruto.

Paso 2: 5-cloro-6-cianopiridin-3-ilcarbamato de terc-butilo

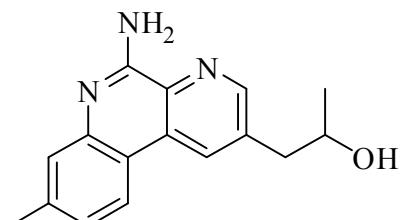
15 Se preparó 5-cloro-6-cianopiridin-3-ilcarbamato de terc-butilo a partir de 5,6-dicloropiridin-3-ilcarbamato de terc-butilo (del paso previo) siguiendo los procedimientos descritos para el Ejemplo 42 / Paso 1.

Paso 3: 8-metilbenzo[f][1,7]naftiridina-2,5-diamina

20 Se preparó 8-metilbenzo[f][1,7]naftiridina-2,5-diamina (como producto menor) conjuntamente menor con 5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-ilcarbamato de terc-butilo (como producto principal) a partir de 5-cloro-6-cianopiridin-3-ilcarbamato de terc-butilo (del paso previo) siguiendo los procedimientos descritos para el Ejemplo 5 / Paso 2. RMN ¹H (DMSO-d₆): δ 10,11 (s, 1H), 9,02 (s, 1H), 8,82 (d, 1H), 8,06 (d, 1H), 7,34 (s, 1H), 7,15 (dd, 1H), 6,99 (s, 2H), 2,44 (s, 3H). LRMS [M+H] = 225,1

Ejemplo 55

1-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)propan-2-ol



25

Paso 1: 3-bromo-5-metilpicolinonitrilo

Se preparó 3-Bromo-5-metilpicolinonitrilo a partir de 2,3-dibromo-5-metilpiridina (comercialmente disponible) siguiendo los procedimientos descritos para el Ejemplo 42 / Paso 1.

Paso 2: 3-bromo-5-(2-hidroxipropil)picolinonitrilo

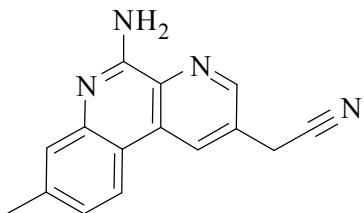
30 Se preparó 3-Bromo-5-(2-hidroxipropil)picolinonitrilo a partir de 3-bromo-5-metilpicolinonitrilo (del paso previo) y acetaldehído siguiendo los procedimientos descritos para el Ejemplo 53 / Paso 3.

Paso 3: 1-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)propan-2-ol

35 Se preparó 1-(5-Amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)propan-2-ol a partir de 3-bromo-5-(2-hidroxipropil)picolinonitrilo (del paso previo) siguiendo los procedimientos descritos para el Ejemplo 53, paso 4. RMN ¹H (metanol-d₄): δ 8,72 (d, 1H), 8,68 (d, 1H), 8,24 (d, 1H), 7,38 (s, 1H), 7,18 (dd, 1H), 4,16 - 4,07 (m, 1H), 3,05 - 2,99 (m, 2H), 2,97 - 2,90 (m, 2H), 2,47 (s, 3H), 1,28 (d, 3H). LRMS [M+H] = 268,1

Ejemplo 56

2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)acetonitrilo

Paso 1: 2,3-dicloro-5-((metoximetoxi)methyl)piridina

- 5 A una solución en agitación de (5,6-dicloropiridin-3-il)metanol (comercialmente disponible) en CH₂Cl₂ (0,2 M) a 0 °C se le añadieron trietilamina (3 equiv.) y cloro(metoxi)metano (2 equiv.). Después de la agitación a 0 °C durante 3 horas la mezcla de reacción se concentró y el producto en bruto se purificó por cromatografía (gel de sílice, EtOAc al 20 - 50 % en hexanos) para dar 2,3-dicloro-5-((metoximetoxi)methyl)piridina como un aceite incoloro.

Paso 2: 3-cloro-5-((metoximetoxi)methyl)picolinonitrilo

- 10 Se preparó 3-Cloro-5-((metoximetoxi)methyl)picolinonitrilo a partir de 2,3-dicloro-5-((metoximetoxi)methyl)piridina (del paso previo) siguiendo los procedimientos descritos para el Ejemplo 42 / Paso 1.

Paso 3: 3-cloro-5-(hidroximetil)picolinonitrilo

- 15 A una solución en agitación de 2,3-dicloro-5-((metoximetoxi)methyl)piridina (del paso previo) en metanol (0,2 M) se le añadió HCl concentrado (10 equiv). Después de la agitación a temperatura ambiente durante la noche la mezcla de reacción se concentró al vacío y el producto resultante se purificó por cromatografía (gel de sílice, EtOAc al 20 - 50 % en hexanos) para dar 3-cloro-5-(hidroximetil)picolinonitrilo.

Paso 4: 3-cloro-5-(clorometil)picolinonitrilo

- 20 A una solución en agitación de 3-cloro-5-(hidroximetil)picolinonitrilo (del paso previo) en CH₂Cl₂ (0,2 M) a 0 °C se le añadió cloruro de tionilo (10 equiv). Después de la agitación a temperatura ambiente durante la noche la mezcla de reacción se concentró al vacío y el producto resultante se purificó por cromatografía (gel de sílice, EtOAc 20 - 50 % en hexanos) para dar 3-cloro-5-(clorometil)picolinonitrilo como un aceite incoloro.

Paso 5: 3-cloro-5-(cianometil)picolinonitrilo

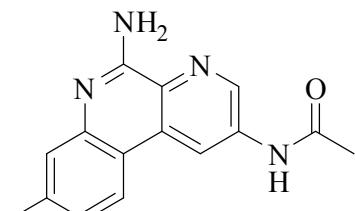
- 25 A una solución de 3-cloro-5-(clorometil)picolinonitrilo (del paso previo) en DMSO (0,2 M) se añadió cianuro de sodio (1,25 equiv). La mezcla de reacción se calentó a 130 °C bajo irradiación de microondas. La mezcla de reacción se tomó en agua y EtOAc, y se extrajo con EtOAc. Las fases orgánicas se secaron sobre Na₂SO₄, y se concentraron. La cromatografía instantánea (gel de sílice, EtOAc al 20 - 50 % en hexanos) di el 3-cloro-5-(cianometil)picolinonitrilo en bruto.

Paso 6: 2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)acetonitrilo

- 30 Se preparó 2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)acetonitrilo a partir de 3-cloro-5-(cianometil)picolinonitrilo (del paso previo) siguiendo los procedimientos descritos para el Ejemplo 44 / Paso 4. RMN ¹H (metanol-d₄): δ 8,79 (d, 1H), 8,78 (d, 1H), 8,20 (d, 1H), 7,66 (s, 2H), 7,36 (s, 1H), 7,18 (dd, 1H), 4,15 (d, 2H), 2,43 (s, 3H). LRMS [M+H] = 249,1

Ejemplo 57

N-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)acetamida



Paso 1: N-(5,6-dicloropiridin-3-il)acetamida

A una solución en agitación de 5,6-dicloropiridin-3-amina (comercialmente disponible) y trietilamina (3 equiv) en CH₂Cl₂ (0,2 M) a 0 °C se le añadió cloruro de acetilo (2 equiv). Después de la agitación a temperatura ambiente durante la noche la mezcla de reacción se concentró al vacío y el residuo en bruto resultante se purificó por cromatografía (gel de sílice, EtOAc 20 - 50 % en hexanos) para dar N-(5,6-dicloropiridin-3-il)acetamida.

5

Paso 2: N-(5-cloro-6-cianopiridin-3-il)acetamida

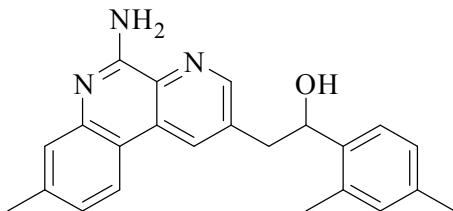
Se preparó N-(5-cloro-6-cianopiridin-3-il)acetamida a partir de N-(5,6-dicloropiridin-3-il)acetamida (del paso previo) siguiendo los procedimientos descritos para el Ejemplo 42 / Paso 1.

Paso 3: N-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)acetamida

10 Se preparó N-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)acetamida a partir de N-(5-cloro-6-cianopiridin-3-il)acetamida (del paso previo) siguiendo los procedimientos descritos para el Ejemplo 44 / Paso 4. RMN ¹H (DMSO-d₆): δ 10,99 (s, 1H), 8,18 (d, 1H), 8,95 (d, 1H), 8,12 (d, 1H), 7,44 (s, 1H), 7,35 (dd, 1H), 2,43 (s, 3H), 2,16 (s, 3H). LRMS [M+H] = 267,1

Ejemplo 58

15 2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)-1-(2,4-dimetilfenil)etanol

Paso 1: 3-bromo-5-(2-(2,4-dimetilfenil)-2-hidroxietil)picolinonitrilo

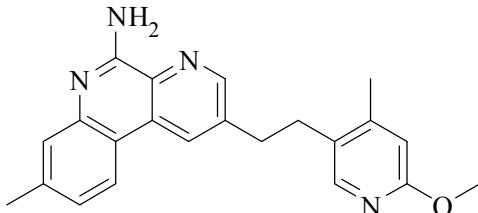
Se preparó 3-bromo-5-(2-(2,4-dimetilfenil)-2-hidroxietil)picolinonitrilo a partir de 3-bromo-5-metilpicolinonitrilo (Ejemplo 55 / Paso 1) y 2,4-dimetilbenzaldehído siguiendo los procedimientos descritos para el Ejemplo 53 / Paso 3.

20 Paso 2: 2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)-1-(2,4-dimetilfenil)etanol

Se preparó 2-(5-Amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)-1-(2,4-dimetilfenil)etanol a partir de 3-bromo-5-(2-(2,4-dimetilfenil)-2-hidroxietil)picolinonitrilo (del paso previo) siguiendo los procedimientos descritos para el Ejemplo 53 / Paso 4. RMN ¹H(CDCl₃): δ 8,67 (d, 1H), 8,45 (d, 1H), 8,06 (d, 1H), 7,57 (s, 1H), 7,42 (d, 1H), 7,23 (d, 1H), 7,11 (d, 1H), 7,01 (s, 1H), 5,31(dd, 1H), 3,28 - 3,25 (m, 2H), 2,53 (s, 3H), 2,35 (s, 3H), 2,33 (s, 3H). LRMS [M+H] = 358,2

Ejemplo 59

2-(2-(6-metoxi-4-metilpiridin-3-il)etil)-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina

Paso 1: 2-metoxi-4-metil-5-((trietsilsilil)etinil)piridina

30 Se preparó 2-Metoxi-4-metil-5-((trietsilsilil)etinil)piridina a partir de 5-bromo-2-metoxi-4-metilpiridina (comercialmente disponible) siguiendo los procedimientos descritos para el Ejemplo 44 / Paso 1.

Paso 2: 5-etinil-2-metoxi-4-metilpiridina

Se preparó 5-Etinil-2-metoxi-4-metilpiridina a partir de 2-metoxi-4-metil-5-((trietsilsilil)etinil)piridina (del paso previo) siguiendo los procedimientos descritos para el Ejemplo 44 / Paso 2.

Paso 3: 3-cloro-5-((6-metoxi-4-metilpiridin-3-il)etinil)picolinonitrilo

Se preparó 3-Cloro-5-((6-metoxi-4-metilpiridin-3-il)etinil)picolinonitrilo a partir de 5-etinil-2-metoxi-4-metilpiridina (del paso previo) siguiendo los procedimientos descritos para el Ejemplo 44 / Paso 3.

Paso 4: 2-((6-metoxi-4-metilpiridin-3-il)etinil)-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina

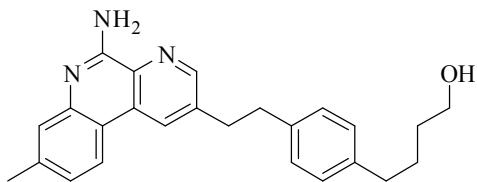
- 5 Se preparó 2-((6-Metoxi-4-metilpiridin-3-il)etinil)-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina a partir de 3-cloro-5-((6-metoxi-4-metilpiridin-3-il)etinil)picolinonitrilo (del paso previo) siguiendo los procedimientos descritos para el Ejemplo 44 / Paso 4.

Paso 5: 2-(2-(6-metoxi-4-metilpiridin-3-il)etil)-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina

- 10 Se preparó 2-(2-(6-Metoxi-4-metilpiridin-3-il)etil)-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina a partir de 2-((6-metoxi-4-metilpiridin-3-il)etinil)-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina (del paso previo) siguiendo los procedimientos descritos para el Ejemplo 44 / Paso 5. RMN ¹H (CDCl₃): δ 8,65 (d, 1H), 8,43 (d, 1H), 8,13 (d, 1H), 7,87 (s, 1H), 7,57 (s, 1H), 7,24 (dd, 1H), 6,60 (s, 1H), 6,39 (s a, 2H), 3,91 (s, 3H), 3,17 - 3,11 (dd, 2H), 3,03 - 2,98 (dd, 2H), 2,54 (s, 3H), 2,28 (s, 3H). LRMS [M+H] = 359,2

Ejemplo 60

- 15 4-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)fenil)butan-1-ol

Paso 1: 4-(4-((trimetilsilil)etinil)fenil)but-3-in-1-ol

- 20 Se preparó 4-(4-((trimetilsilil)etinil)fenil)but-3-in-1-ol a partir de ((4-bromofenil)etinil)trimetilsilano (comercialmente disponible) y but-3-in-1-ol (comercialmente disponible) siguiendo los procedimientos descritos para el Ejemplo 44 / Paso 1.

Paso 2: 4-(4-ethinylphenyl)but-3-in-1-ol

Se preparó 4-(4-ethinylphenyl)but-3-in-1-ol a partir de 4-(4-((trimetilsilil)etinil)fenil)but-3-in-1-ol siguiendo los procedimientos descritos para el Ejemplo 44 / Paso 2.

Paso 3: 5-((4-(4-hidroxibut-1-il)fenil)etinil)-3-metilpicolinonitrilo

- 25 Se preparó 5-((4-(4-hidroxibut-1-il)fenil)etinil)-3-metilpicolinonitrilo a partir de 4-(4-ethinylphenyl)but-3-in-1-ol (del paso previo) siguiendo los procedimientos descritos para el Ejemplo 44 / Paso 3.

Paso 4: 4-(4-((5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etinil)fenil)but-2-in-1-ol

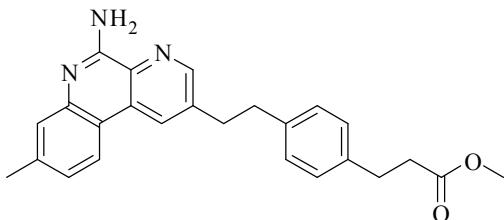
- 30 Se preparó 4-(4-((5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etinil)fenil)but-2-in-1-ol a partir de 5-((4-(4-hidroxibut-1-il)fenil)etinil)-3-metilpicolinonitrilo (del paso previo) siguiendo los procedimientos descritos para el Ejemplo 44 / Paso 4.

Paso 5: 4-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)fenil)butan-1-ol

- 35 Se preparó 4-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)fenil)butan-1-ol a partir de 4-(4-((5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etinil)fenil)but-2-in-1-ol (del paso previo) siguiendo los procedimientos descritos para el Ejemplo 44 / Paso 5. RMN ¹H (CDCl₃): δ 8,58 (d, 1H), 8,36 (d, 1H), 8,07 (d, 1H), 7,53 (s, 1H), 7,20 (dd, 1H), 7,10 (dd, 4H), 6,20 (s a, 2H), 3,68 (t, 2H), 3,20 - 3,15 (dd, 2H), 3,06 - 3,01 (dd, 2H), 2,64 (t, 2H), 2,52 (s, 3H), 1,75 - 1,57 (m, 4H). LRMS [M+H] = 386,2

Ejemplo 61

3-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)fenil)propanoato de metilo

Paso 1: 3-(4-yodofenil)propanoato de metilo

- 5 A una solución en agitación de ácido 3-(4-yodofenil)propanoico (comercialmente disponible) en tolueno y metanol (9:1, 0,2 M) 0 °C se le añadió (diazometil)trimetilsilano (solución 1 N en Et₂O, 2 equiv). Despues de la agitación a temperatura ambiente durante la noche la mezcla de reacción se concentró al vacío y el residuo en bruto resultante se purificó por cromatografía (gel de sílice, EtOAc al 20 - 50 % en hexanos) para dar 3-(4-yodofenil)propanoato de metilo.

Paso 2: 3-(4-etinilfenil)propanoato de metilo

Se preparó 3-(4-etinilfenil)propanoato de metilo a partir de 3-(4-yodofenil)propanoato de metilo (del paso previo) siguiendo los procedimientos descritos para el Ejemplo 44 / Pasos 1 y 2.

Paso 3: 3-(4-((5-cloro-6-cianopiridin-3-il)etinil)fenil)propanoato de metilo

- 15 Se preparó 3-(4-((5-cloro-6-cianopiridin-3-il)etinil)fenil)propanoato de metilo a partir de 3-(4-etinilfenil)propanoato de metilo (del paso previo) siguiendo los procedimientos descritos para el Ejemplo 44 / Paso 3.

Paso 4: 3-(4-((5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etinil)fenil)propanoato de metilo

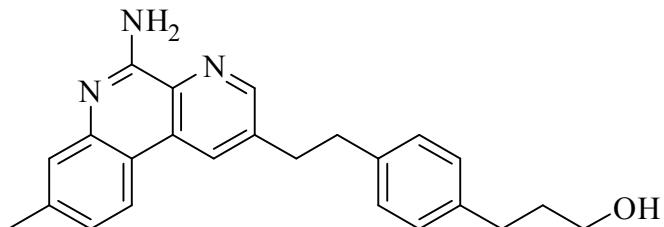
Se preparó 3-(4-((5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etinil)fenil)propanoato de metilo a partir de 3-(4-((5-cloro-6-cianopiridin-3-il)etinil)fenil)propanoato de metilo (del paso previo) siguiendo los procedimientos descritos para el Ejemplo 44 / Paso 4.

Paso 5: 3-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)fenil)propanoato de metilo

Se preparó 3-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)fenil)propanoato de metilo a partir de 3-(4-((5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etinil)fenil)propanoato de metilo (del paso previo) siguiendo los procedimientos descritos para el Ejemplo 44 / Paso 5. RMN ¹H (DMSO-d₆): δ 8,83 (d, 1H), 8,72 (d, 1H), 8,32 (d, 1H), 7,35 (s, 1H), 7,21-7,12 (m, 5H), 7,05 (a s, 2H), 7,05 (dd, 2H), 3,57 (s, 3H), 3,19 - 3,13 (dd, 2H), 3,06 - 3,00 (dd, 2H), 2,81 (t, 2H), 2,60 (t, 2H), 2,45 (s, 3H). LRMS [M+H] = 400,2

Ejemplo 62

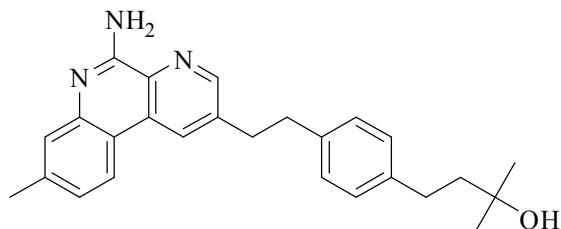
3-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)fenil)propan-1-ol



- 30 Se preparó 3-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)fenil)propan-1-ol a partir de 3-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)fenil)propanoato de metilo (del Ejemplo 61) siguiendo los procedimientos descritos para el Ejemplo 42/ Paso 3. RMN ¹H de la sal de TFA: (DMSO-d₆): δ 9,56 (s, 1H), 9,24 (s, 1H), 8,92 (d, 1H), 8,81 (d, 1H), 8,43 (d, 1H), 7,44 (d, 1H), 7,35 (d, 1H), 7,13 (dd, 2H), 7,05 (dd, 2H), 3,32 (t, 2H), 3,18 - 3,12 (dd, 2H), 3,02 - 2,95 (dd, 2H), 2,50 (t, 2H), 2,44 (s, 3H), 1,65 - 1,57 (m, 2H). LRMS [M+H] = 372,2

Ejemplo 63

4-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)fenil)-2-metilbutan-2-ol

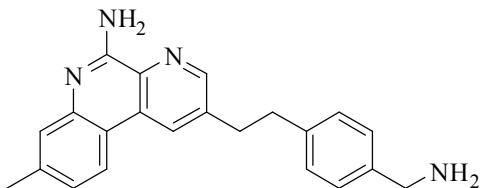


5 A una solución de 3-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)fenil)propanoato de metilo (del Ejemplo 61) en THF (0,2 M) a 0 °C se le añadió en una forma en gota a gota una solución de bromuro de metil magnesio en THF (1,0 M, 2 equiv). Después de la agitación a temperatura ambiente durante la noche la mezcla de reacción se concentró al vacío y el residuo en bruto resultante se purificó por cromatografía (gel de sílice, EtOAc 50 - 100 % en hexanos) para dar 4-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)fenil)-2-metilbutan-2-ol. RMN ¹H (CDCl₃): δ 8,64 (d, 1H), 8,34 (d, 1H), 8,06 (t, 1H), 7,57 (d, 1H), 7,30 - 7,20 (m, 2H), 7,18 - 7,07 (m, 4H), 6,67 (s a, 2H), 3,24 - 3,16 (dd, 2H), 3,08 - 3,01 (dd, 2H), 2,73 - 2,66 (m, 2H), 2,53 (s, 3H), 1,82 - 1,75 (m, 2H), 1,31 (s, 3H), 1,29 (s, 3H). LRMS [M+H] = 400,2

10

Ejemplo 64

2-(4-(aminometil)fenetil)-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina



15 Paso 1: 4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)benzonitrilo

Se preparó 4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)benzonitrilo a partir de 4-etinilbenzonitrilo (comercialmente disponible) siguiendo los procedimientos descritos para el Ejemplo 44 / Pasos 3 a 5.

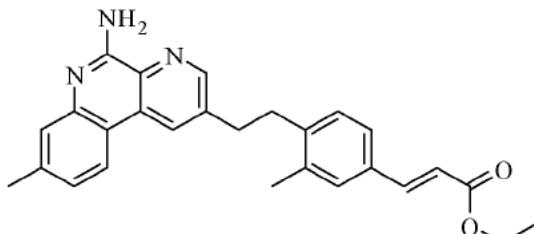
Paso 2: 2-(4-(aminometil)fenetil)-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina

20 A una solución de 4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)benzonitrilo (del paso previo) en etanol e hidróxido de amonio (4:1, 0,2 M) agitada a temperatura ambiente se le añadió níquel raney (10 equiv). La mezcla de reacción se agitó en atmósfera de hidrógeno hasta que se completó la conversión como se muestra por TLC. La mezcla de reacción se filtró a través de una lecho corto de celite. La lecho de celite se lavó con EtOAc. Los extractos orgánicos combinados se concentraron al vacío y el residuo en bruto resultante se purificó por cromatografía (gel de sílice, EtOAc al 50 - 100 % en hexanos) para dar el producto 2-(4-(aminometil)fenetil)-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina. RMN ¹H de la sal de TFA: (metanol-d₄): δ 8,81 (d, 1H), 8,79 (d, 1H), 8,38 (d, 1H), 7,51 (s, 1H), 7,44 (dd, 1H), 7,36 (dd, 4H), 4,07 (s, 2H), 3,29 (s, 2H), 3,20 - 3,14 (dd, 2H), 2,55 (s, 3H). LRMS [M+H] = 343,2

25

Ejemplo 65

3-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenil)acrilato de (E)-etilo



30 Paso 1: (4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenil)metanol

Se preparó (4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenil)metanol a partir de 4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilbenzoato de metilo (Ejemplo 115) siguiendo los procedimientos descritos

para el Ejemplo 42 / Paso 3.

Paso 2: 4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilbenzaldehido

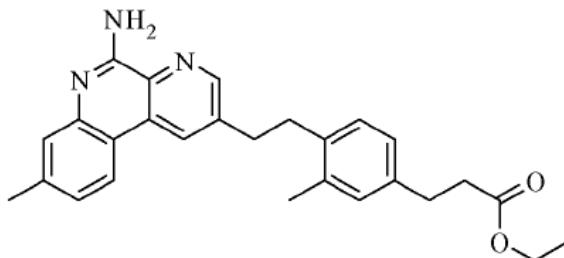
A una solución de (4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenil)metanol (del paso previo) en DMSO se le añadió ácido 2-yodoxibenzoico (IBX, 2,5 equiv). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 3 horas antes de que se diluyera con agua. La extracción con EtOAc seguida por concentración dio un residuo en bruto que se purificó por cromatografía (gel de sílice, EtOAc al 50 - 100 % en hexanos) para dar 4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilbenzaldehido.

Paso 3: 3-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenil)acrilato de (E)-etilo

A una suspensión de NaH (3 equiv) en THF (0,2 M) agitada a 0 °C se le añadió 2-(dietoxifosforil)acetato de etilo (comercialmente disponible) (3 equiv). Después de agitar durante 30 minutos, se añadió gota a gota una solución de 4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilbenzaldehido (del paso previo) en THF (0,2 M). La reacción se dejó calentar a temperatura ambiente y se agitó durante la noche. La reacción se detuvo con solución saturada de NH₄Cl, y se extrajo con EtOAc. Los extractos orgánicos combinados se secaron y concentraron para dar un residuo en bruto que se purificó por cromatografía (gel de sílice, EtOAc al 50 - 100 % en hexanos) para dar 3-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenil)acrilato de (E)-etilo como un sólido de color blanco. RMN ¹H: (CDCl₃): δ 8,54 (d, 1H), 8,29 (d, 1H), 7,99 (d, 1H), 7,57 (d, 1H), 7,44 (s, 1H), 7,23 (dd, 1H), 7,11 (dd, 1H), 7,05 (d, 1H), 6,33 (d, 1H), 5,93 (s, 2H), 4,19 (q, 2H), 3,10 - 2,95 (m, 4H), 2,44 (s, 3H), 2,23 (s, 3H), 1,26 (t, 3H). LRMS [M+H] = 426,2

Ejemplo 66

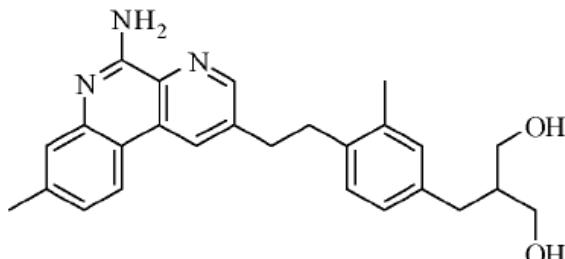
20 3-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenil)propanoato de etilo



Se preparó el 3-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenil)propanoato de etilo a partir de 3-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenil)acrilato de (E)-etilo (del Ejemplo 65) siguiendo los procedimientos descritos para el Ejemplo 44 / Paso 5. RMN ¹H: (CDCl₃): δ 8,55 (d, 1H), 8,26 (d, 1H), 7,99 (d, 1H), 7,45 (s, 1H), 7,12 (dd, 1H), 6,98 - 6,88 (m, 3H), 6,02 (s, 2H), 4,06 (q, 2H), 3,04 (dd, 2H), 2,93 (dd, 2H), 2,83 (t, 2H), 2,53 (t, 2H), 2,44 (s, 3H), 2,19 (s, 3H), 1,17 (t, 3H). LRMS [M+H] = 428,2

Ejemplo 67

2-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilbencil)propan-1,3-diol



30 Paso 1: 2-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilbencil)malonato de dietilo

A una solución en agitación de (4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenil)metanol (del Ejemplo 65 / Paso 1) (0,2 M) y malonato de dietilo (2 equiv) en tolueno seco se le añadieron tributilfosfina (2 equiv) y N¹,N¹,N²,N²-tetrametildiaceno-1,2-dicarboxamida (2 equiv). La mezcla de reacción se agitó a 120 °C durante la noche. Al término de la reacción, la mezcla de reacción se concentró al vacío y el residuo en bruto resultante se purificó por cromatografía (gel de sílice, 50 - 100 % EtOAc en hexanos) para dar 2-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilbencil)malonato de dietilo como un sólido de color blanco.

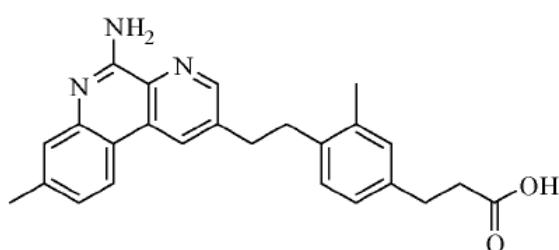
Paso 2: 2-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilbencil)propano-1,3-diol

Se preparó 2-(4-(2-(5-Amino-8-metilbenzo[f][1,7] naftiridin-2-il)etil)-3-metilbencil)propano-1,3-diol a partir de 2-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilbencil)malonato de dietilo (del paso previo) siguiendo los procedimientos descritos para el Ejemplo 42 / Paso 3. RMN ^1H : (metanol-d₄): δ 8,51 (d, 1H), 8,39 (d, 1H), 8,05 (d, 1H), 7,45 (s, 1H), 7,10 (dd, 1H), 6,91 -6,87 (m, 2H), 6,83 (dd, 1H), 3,42 (d, 4H), 3,08 - 3,02 (m, 2H), 2,96 - 2,91 (m, 2H), 2,47 (d, 2H), 2,38 (s, 3H), 2,13 (s, 3H). LRMS [M+H] = 416,2

5

Ejemplo 68

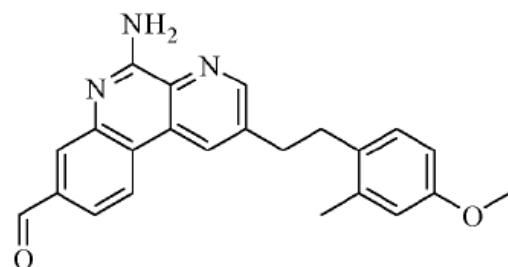
Ácido 3-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenil)propanoico



- 10 Una solución de 3-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenil)propanoato de etilo (del Ejemplo 66) en NaOH 1 N, THF y metanol (1:5:2, 0,1 N) se calentó a 60 °C durante 3 horas. Después de enfriar a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se neutralizó con HCl 1 N a pH 7, y se concentró para dar un residuo en bruto que se purificó por cromatografía (gel de sílice, metanol al 0 - 20 % en diclorometano) para dar 3-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenil) acrilato de (E)-etilo como un sólido de color blanco. RMN ^1H : (metanol-d₄): δ 8,73 (d, 1H), 8,54 (d, 1H), 8,20 (d, 1H), 7,45 (s, 1H), 7,37 (d, 1H), 7,00 -6,97 (m, 2H), 6,92 (d, 1H), 3,19 (t, 2H), 3,04 (t, 2H), 2,81 (t, 2H), 2,53 (t, 2H), 2,50 (s, 3H), 2,25 (s, 3H). LRMS [M+H] = 400,2
- 15

Ejemplo 69

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

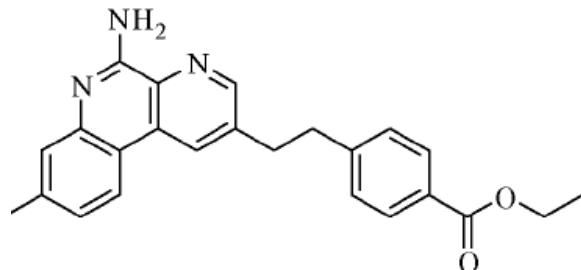


- 20 Se preparó 5-amino-2-(4-metoxi-2-metilfenetil) benzo[f][1,7]naftiridina-8-carbaldehído a partir de (5-amino-2-(4-metoxi-2-metilfenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-8-il)metanol (del Ejemplo 108) siguiendo los procedimientos descritos para el Ejemplo 65 / Paso 2. RMN ^1H : (CDCl_3): δ 10,19 (s, 1H), 8,74 (d, 1H), 8,43 (d, 1H), 8,32 (d, 1H), 8,18 (d, 1H), 7,88 (dd, 1H), 7,00 (d, 1H), 6,76 (d, 1H), 6,70 (dd, 1H), 6,30 (s, 2H), 3,80 (s, 3H), 3,16 (dd, 2H), 3,02 (dd, 2H), 2,29 (s, 3H). LRMS [M+H] = 372,2

25

Ejemplo 70

4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)benzoato de etilo



Paso 1: 4-((5-cloro-6-cianopiridin-3-il)etinil)benzoato de etilo

Una solución de 3,5-dicloropicolinonitrilo (comercialmente disponible) (1,0 equiv.), 4-etinilbenzoato de etilo (comercialmente disponible) (1,0 equiv.), trans-diclororbis(trifenilfosfina)paladio (II) (10 % en mol), yoduro de cobre (I) (20 % en mol), y trietilamina (5,0 equiv.) en DMF (0,3 M) se agitó a 50 °C durante 3 horas. Después del enfriamiento a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se diluyó con acetato de etilo e hidróxido de amonio acuoso al 10 %. Las dos fases se separaron, y la capa acuosa se extrajo dos veces con acetato de etilo. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO₄ anhídrico, y se concentraron al vacío. El material en bruto se purificó por cromatografía instantánea en un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando acetato de etilo al 0-20 % en hexano para dar 4-((5-cloro-6-cianopiridin-3-il)etinil)benzoato de etilo como un sólido de color blanco.

Paso 2: 4-((5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etinil)benzoato de etilo

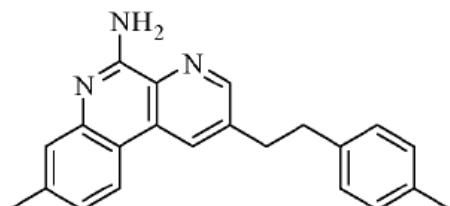
Una solución de 4-((5-cloro-6-cianopiridin-3-il)etinil)benzoato de etilo (del paso previo) (1,0 equiv.), 5-metil-2-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenilcarbamato de *terc*-butilo (del Ejemplo 5 / Paso 2) (2,6 equiv.), *tetraquis*(trifenilfosfina)paladio (10 % en mol), y carbonato de potasio (5,3 equiv.) en tolueno/etanol (2:1, 0,2 M) se agitó a 100 °C durante la noche. Después del enfriamiento a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se diluyó con MeOH 2 % en DCM. Las dos fases se separaron. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre anhídrico MgSO₄, y se concentraron al vacío. El material en bruto se purificó por cromatografía instantánea en un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando acetato de etilo al 0-40 % en tolueno para dar 4-((5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etinil)benzoato de etilo.

Paso 3: 4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il) etil)benzoato de etilo

Una solución de 4-((5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etinil)benzoato de etilo (del paso previo) (1,0 equiv.) en THF/acetato de etilo (1:1, 0,05 M) se enjuagó con nitrógeno y se añadió paladio en carbono (10 % en peso). El recipiente de reacción se evacuó, se enjuagó con hidrógeno, y se agitó durante la noche a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se filtró a través de celite, se lavó con MeOH al 2 % en DCM, y se concentró al vacío. El material en bruto se purificó por cromatografía instantánea en un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando MeOH al 0-5 % en DCM para dar 4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)benzoato de etilo. RMN ¹H (Acetona-d₆): δ 8,80 (s, 1H), 8,69 (s, 1H), 8,25 (d, 1H), 7,90 (d, 2H), 7,40-7,42 (m, 3H), 7,12 (d, 1H), 6,55 (a, 2H), 4,28 (q, 2H), 3,2-3,3 (m, 4H), 2,44 (s, 3H), 1,31 (t, 3H). LRMS [M+H] = 386,2

Ejemplo 71

8-metil-2-(4-metilfenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-5-amina

Paso 1: 3-cloro-5-(p-toliletinil)picolinonitrilo

Una solución de 3,5-dicloropicolinonitrilo (comercialmente disponible) (1,0 equiv.), 1-etinil-4-metilbenceno (comercialmente disponible) (1,0 equiv.), trans-diclororbis(trifenilfosfina)paladio (II) (10 % en mol), yoduro de cobre (I) (20 % en mol), y trietilamina (5,0 equiv.) en DMF (0,3 M) se agitó a 50 °C durante 3 horas. Después del enfriamiento a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se diluyó con acetato de etilo e hidróxido de amonio acuoso al 10 %. Las dos fases se separaron, y la capa acuosa se extrajo dos veces con acetato de etilo. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO₄ anhídrico, y se concentraron al vacío. El material en bruto se purificó por agitación en mezclas calientes de éter/hexano y se filtró para dar 3-cloro-5-(p-toliletinil)picolinonitrilo.

Paso 2: 8-metil-2-(p-toliletinil)benzo[f][1,7]naftiridin-5-amina

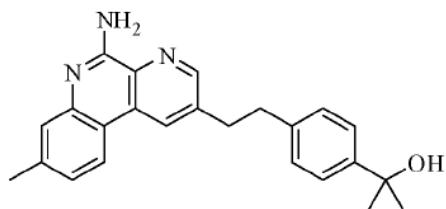
Una solución de 3-cloro-5-(p-toliletinil)picolinonitrilo (del paso previo) (1,0 equiv.), 5-metil-2-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenilcarbamato de *terc*-butilo (del Ejemplo 5 / Paso 2) (1,2 equiv.), *tetraquis*(trifenilfosfina)paladio (10 % en mol), y solución acuosa de carbonato de sodio 2 N (4,0 equiv.) en tolueno/etanol (2:1, 0,2 M) se agitó a 100 °C durante la noche. Después del enfriamiento a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se diluyó con MeOH al 2 % en DCM. Las dos fases se separaron, y la capa acuosa se extrajo con MeOH al 2 % en DCM dos veces. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO₄ anhídrico, y se concentraron al vacío. El material en bruto se purificó por cromatografía instantánea en un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando acetato de etilo al 0-40 % en tolueno para dar 8-metil-2-(p-toliletinil)benzo[f][1,7]naftiridin-5-amina.

Paso 3: 8-metil-2-(4-metilfenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-5-amina

Una solución de 8-metil-2-(p-toliletinil)benzo [f][1,7]naftiridin-5-amina (del paso previo) (1,0 equiv.) en EtOH/acetato de etilo (1:1, 0,05 M) se enjuagó con nitrógeno y se añadió paladio en carbono (10 % en peso). El recipiente de reacción se evacuó, se enjuagó con hidrógeno, y se agitó durante la noche a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se filtró a través de celite, se lavó con MeOH al 2 % en DCM, y se concentraron al vacío. El material en bruto se purificó por cromatografía instantánea en un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando MeOH al 0-5 % en DCM para dar 8-metil-2-(4-metilfenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-5-amina. RMN ¹H (Acetona- d₆): δ 8,74 (s, 1H), 8,68 (s, 1H), 8,24 (d, 1H), 7,41 (s, 1H), 7,13-7,15 (m, 3H), 7,06 (d, 2H), 6,6 (a, 2H), 3,19 (t, 2H), 3,06 (t, 2H), 2,44 (s, 3H), 2,25 (s, 3H). LRMS [M+H] = 328,1

10 **Ejemplo 72**

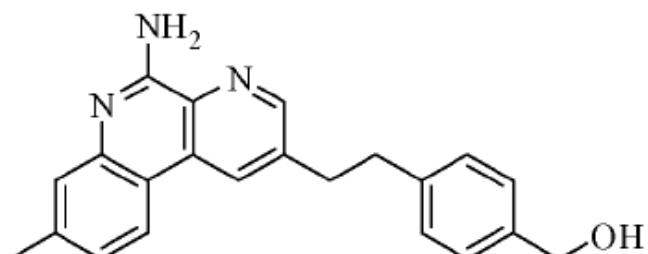
2-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)fenil)propan-2-ol



A una solución de 4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)benzoato de etilo (del Ejemplo 70) (1,0 equiv.) en DCM a 0 °C se añadió yoduro de metil-magnesio 3,0 M (10 equiv.) en éter y se calentó a temperatura ambiente durante la noche. La reacción se enfrió a 0 °C y se detuvo con solución acuosa de HCl 1 N y éter. Después de agitar durante 15 minutos, la mezcla de reacción se neutralizó con solución de bicarbonato de sodio acuosa saturada. Las dos fases se separaron, y la capa acuosa se extrajo con éter. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO₄ anhidro, y se concentraron al vacío. El material en bruto se purificó por RP-HPLC usando MeCN al 10-50 % en gradiente de agua seguido por extracción en DCM para dar 2-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-yl)ethyl)fenil)propan-2-ol. RMN ¹H (Acetona- d₆): δ 8,73 (m, 2H), 8,22 (d, 1H), 7,40-7,44 (m, 3H), 7,20 (d, 2H), 7,12 (d, 1H), 6,5 (a, 2H), 3,94 (s, 1H), 3,21 (t, 2H), 3,08 (t, 2H), 2,44 (s, 3H), 1,47 (s, 6H). LRMS [M+H] = 372,2

Ejemplo 73

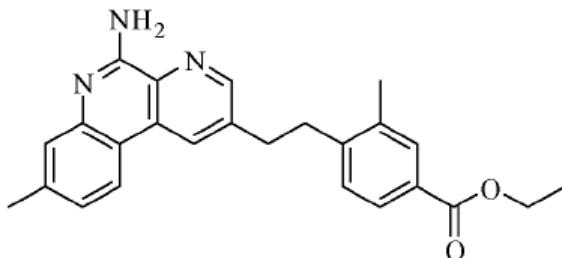
(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)fenil)metanol



A una solución de 4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)benzoato de etilo (Ejemplo 70) (1,0 equiv.) en THF (0,1 M) a 0 °C se añadió trietilborohidruro de litio 1,0 M en THF (10 equiv.) y se calentó a temperatura ambiente durante 2 horas. Se añadió lentamente solución acuosa de HCl 1 N para extinguir la reacción, y la mezcla se calentó a reflujo durante 30 minutos. La mezcla de reacción se neutralizó con solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio. Las dos fases se separaron, y la capa acuosa se extrajo con acetato de etilo (EA). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO₄ anhidro, y se concentraron al vacío. El material en bruto se purificó por RP-HPLC usando a MeCN al 10-50 % en gradiente de agua seguido por extracción en DCM para dar (4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-yl)ethyl)fenil)metanol. RMN ¹H (Acetona-d₆): δ 8,77 (s, 1H), 8,69 (s, 1H), 8,26 (d, 1H), 7,40 (s, 1H), 7,21-7,28 (m, 4H), 7,13 (d, 1H), 6,5 (a, 2H), 4,56 (s, 2H), 4,1 (a t, 1H), 3,10-3,23 (m, 4H), 2,44 (s, 3H). LRMS [M+H] = 344,2

Ejemplo 74

4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilbenzoato de etilo

Paso 1: 4-bromo-3-metilbenzoato de etilo

- 5 A una solución de ácido 4-bromo-3-metilbenzoico (comercialmente disponible) (1,0 equiv.) en EtOH (0,3 M) se le añadió cloruro de tionilo (1,5 equiv.) y se calentó a reflujo durante 2 horas. El disolvente se concentró al vacío, y el residuo se diluyó en éter y se neutralizó con solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio. Las dos fases se separaron, y la capa acuosa se extrajo con éter. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO₄ anhidro, y se concentraron al vacío para dar 4-bromo-3-metilbenzoato de etilo.

Paso 2: 3-metil-4-((triethylsilyl)etinil)benzoato de etilo

- 10 Una solución de 4-bromo-3-metilbenzoato de etilo (del paso previo) (1,0 equiv.), triethyl(etinil)silano (1,1 equiv.), trans-diclorobis(trifenilfosfina)paladio (II) (10 % en mol), yoduro de cobre (I) (20 % en mol), y trietilamina (5,0 equiv.) en DMF (0,3 M) se agitó a 60 °C durante la noche. Después del enfriamiento a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se diluyó con acetato de etilo e hidróxido de amonio acuoso al 10 %. Las dos fases se separaron, y la capa acuosa se extrajo dos veces con acetato de etilo. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO₄ anhidro, y se concentraron al vacío. El material en bruto se purificó por cromatografía instantánea en un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando acetato de etilo al 0-5 % en hexano para dar 3-metil-4-((triethylsilyl)etinil)benzoato de etilo como un aceite de color amarillo.

Paso 3: 4-etinil-3-metilbenzoato de etilo

- 20 A una solución de 3-metil-4-((triethylsilyl)etinil)benzoato de etilo (del paso previo) (1,0 equiv.) en THF (0,3 M) a 0 °C se le añadió gota a gota TBAF 1,0 M en THF (1,2 equiv.). Después de agitar durante 10 minutos a 0 °C, la reacción se detuvo con solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio. Las dos fases se separaron, y la capa acuosa se extrajo con éter. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO₄ anhidro, y se concentraron al vacío. El material en bruto se purificó por cromatografía instantánea en un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando acetato de etilo al 0-5 % en hexano para dar 4-etinil-3-metilbenzoato como un sólido de color blanco.

Paso 4: 4-((5-cloro-6-cianopiridin-3-il)etinil)-3-metilbenzoato de etilo

- 30 Una solución de 3,5-dicloropicolinonitrilo (1,0 equiv.), 4-etinil-3-metilbenzoato de etilo (del paso previo) (1,0 equiv.), trans-diclorobis(trifenilfosfina)paladio (II) (10 % en mol), yoduro de cobre (I) (20 % en mol), y trietilamina (5,0 equiv.) en DMF (0,3 M) se agitó a 50 °C durante 3 horas. Después del enfriamiento a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se diluyó con acetato de etilo e hidróxido de amonio acuoso al 10 %. Las dos fases se separaron, y la capa acuosa se extrajo dos veces con acetato de etilo. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO₄ anhidro, y se concentraron al vacío. El material en bruto se purificó por cromatografía instantánea en un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando acetato de etilo al 0-10 % en hexano para dar 4-((5-cloro-6-cianopiridin-3-il)etinil)-3-metilbenzoato de etilo como un sólido de color blanco.

Paso 5: 4-((5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etinil)-3-metilbenzoato de etilo

- 40 Una solución de 4-((5-cloro-6-cianopiridin-3-il)etinil)-3-metilbenzoato de etilo (del paso previo) (1,0 equiv.), 5-metil-2-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenilcarbamato de *terc*-butilo (del Ejemplo 5 / Paso 2) (1,1 equiv.), tetraakis(trifenilfosfina)paladio (8 % en mol), y carbonato de potasio (3,0 equiv.) en tolueno/etanol (9:1, 0,2 M) se agitó a 100 °C durante la noche. Después del enfriamiento a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se diluyó con MeOH al 2 % en DCM. Las dos fases se separaron. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO₄ anhidro, y se concentraron al vacío. El material en bruto se purificó por cromatografía instantánea en un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando acetato de etilo al 0-40 % en tolueno para dar 4-((5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etinil)-3-metilbenzoato de etilo.

Paso 6: 4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilbenzoato de etilo

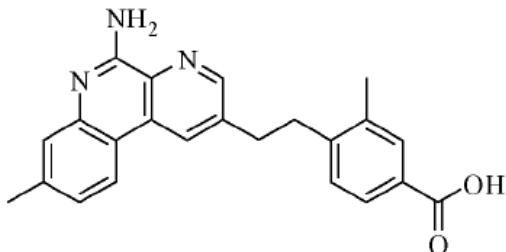
- 45 Una solución de 4-((5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etinil)-3-metilbenzoato de etilo (del paso previo) (1,0 equiv.) en THF/acetato de etilo (1:1, 0,05 M) se enjuagó con hidrógeno y se añadió paladio al 10 % en carbono

(10 % en peso). El recipiente de reacción se evacuó, se enjuagó con hidrógeno, y se agitó durante la noche a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se filtró a través de celite, se lavó con MeOH al 2 % en DCM, y se concentraron al vacío. El material en bruto se purificó por cromatografía instantánea en un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando EA al 30-100 % en hexano para dar 4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)ethyl)-3-metilbenzoato de etilo. RMN ¹H (Acetona-d₆): δ 8,79 (s, 1H), 8,71 (s, 1H), 8,24 (d, 1H), 7,80 (s, 1H), 7,73 (d, 1H), 7,40 (s, 1H), 7,31 (d, 1H), 7,12 (d, 1H), 6,5 (a, 2H), 4,29 (q, 2H), 3,19-3,22 (m, 4H), 2,44 (s, 3H), 2,39 (s, 3H), 1,31 (t, 3H). LRMS [M+H] = 400,2

5

Ejemplo 75

Ácido 4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)ethyl)-3-metilbenzoico



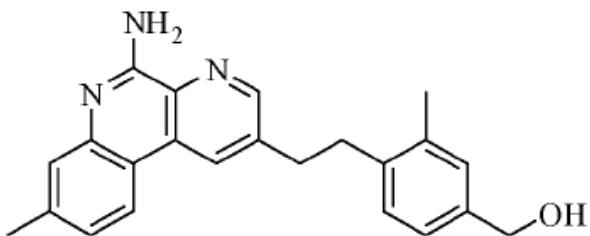
10

A una solución de 4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)ethyl)-3-metilbenzoato de etilo (del Ejemplo 74) (1,0 equiv.) en EtOH se añadió hidróxido de sodio acuoso 1 N (1,5 equiv.) y se calentó a 80 °C durante 5 horas. La mezcla de reacción se neutralizó al adicionar HCl acuoso 1 N (1,5 equiv.) y se concentró al vacío. El material en bruto se purificó por RP-HPLC usando MeCN al 10-50 % en gradiente de agua seguido por concentración al vacío para dar la sal de TFA. RMN ¹H (DMSO-d₆) de la sal de TFA: δ 7,94-7,96 (m, 2H), 7,55 (d, 1H), 7,00 (s, 1H), 6,91 (d, 1H), 6,62-6,66 (m, 2H), 6,39 (d, 1H), 2,36-2,5 (m, 4H), 1,73 (s, 3H), 1,54 (s, 3H). LRMS [M+H] = 372,2

15

Ejemplo 76

(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)ethyl)-3-metilfenil)metanol

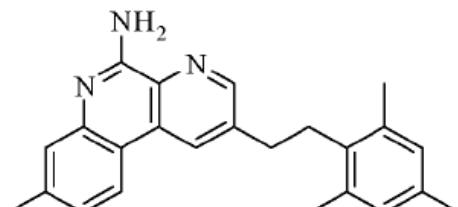


20 A una solución de 4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)ethyl)-3-metilbenzoato de etilo (del Ejemplo 74) (1,0 equiv.) en THF (0,1 M) a -78 °C se añadió DIBAL-H 1,0 M en tolueno (10 equiv.) y se calentó a temperatura ambiente durante 2 horas. Se añadió lentamente solución acuosa de sal de Rochelle 1,5 M para extinguir la reacción seguido por la adición de EA, y la mezcla se agitó durante 45 minutos. Las dos fases se separaron, y la capa acuosa se extrajo dos veces con EA. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO₄ anhidro, y se concentraron al vacío. El material en bruto se purificó por RP-HPLC usando MeCN al 10-50 % en gradiente de agua seguido por extracción en DCM para dar (4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)ethyl)-3-metilfenil)metanol. RMN ¹H (Acetona-d₆): δ 8,77 (s, 1H), 8,71 (s, 1H), 8,25 (d, 1H), 7,41 (s, 1H), 7,10-7,15 (m, 4H), 6,5 (a, 2H), 4,54 (s, 2H), 4,05 (a, 1H), 3,08-3,18 (m, 4H), 2,44 (s, 3H), 2,31 (s, 3H). LRMS [M+H] = 358,2

25

Ejemplo 77

30 8-metil-2-(2,4,6-trimetilfenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-5-amina



Paso 1: 3-cloro-5-(mesitiletinil)picolinonitrilo

Una solución de 3,5-dicloropicolinonitrilo (1,0 equiv.), 2-etinil-1,3,5-trimetilbenceno (comercialmente disponible) (1,0 equiv.), trans-diclororbis (trifenilfosfina)paladio (II) (10 % en mol), yoduro de cobre (I) (20 % en mol), y trietilamina (5,0 equiv.) en DMF (0,3 M) se agitó a 50 °C durante 3 horas. Después del enfriamiento a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se diluyó con acetato de etilo e hidróxido de amonio acuoso al 10 %. Las dos fases se separaron, y la capa acuosa se extrajo dos veces con acetato de etilo. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO₄ anhidro, y se concentraron al vacío. El material en bruto se purificó por cromatografía instantánea en un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando acetato de etilo al 0-10 % en hexano para dar 3-cloro-5-(mesitiletinil)picolinonitrilo como un sólido de color blanco.

5 Una solución de 3-cloro-5-(mesitiletinil)picolinonitrilo (1,0 equiv.), 5-metil-2-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenilcarbamato de *terc*-butilo (del Ejemplo 5 / Paso 2) (1,1 equiv.), *tetraquis*(trifenilfosfina)paladio (8 % en mol), y solución de carbonato de sodio acuso 2 N (3,0 equiv.) en tolueno/etanol (4:1, 0,2 M) se agitó a 100 °C durante la noche. Después del enfriamiento a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se diluyó con MeOH al 2 % en DCM. Las dos fases se separaron. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO₄ anhidro, y se concentraron al vacío. El material en bruto se purificó por cromatografía instantánea en un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando acetato de etilo al 0-40 % en tolueno para dar 2-(mesitiletinil)-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amino.

Paso 2: 2-(mesitiletinil)-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina

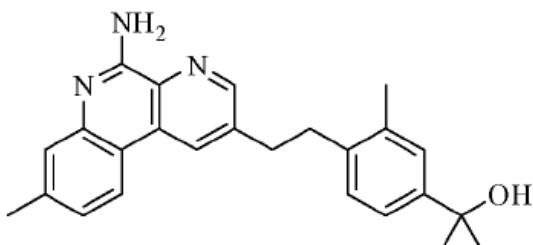
10 Una solución de 3-cloro-5-(mesitiletinil)picolinonitrilo (del paso previo) (1,0 equiv.), 5-metil-2-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenilcarbamato de *terc*-butilo (del Ejemplo 5 / Paso 2) (1,1 equiv.), *tetraquis*(trifenilfosfina)paladio (8 % en mol), y solución de carbonato de sodio acuso 2 N (3,0 equiv.) en tolueno/etanol (4:1, 0,2 M) se agitó a 100 °C durante la noche. Después del enfriamiento a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se diluyó con MeOH al 2 % en DCM. Las dos fases se separaron. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO₄ anhidro, y se concentraron al vacío. El material en bruto se purificó por cromatografía instantánea en un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando acetato de etilo al 0-40 % en tolueno para dar 2-(mesitiletinil)-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amino.

Paso 3: 8-metil-2-(2,4,6-trimetilfenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-5-amina

20 Una solución de 2-(mesitiletinil)-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina (del paso previo) (1,0 equiv.) en EtOH (0,05 M) se enjuagó con nitrógeno y se añadió paladio en carbono (10 % en peso). El recipiente de reacción se evacuó, se enjuagó con hidrógeno, y se agitó durante la noche a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se filtró a través de celite, se lavó con MeOH al 2 % en DCM, y se concentraron al vacío. El material en bruto se purificó por cromatografía instantánea en un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando acetato de etilo al 0-50 % en hexano para dar 8-metil-2-(2,4,6-trimetilfenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-5-amino. RMN ¹H (Acetona-d₆): δ 8,73-8,74 (m, 2H), 8,25 (d, 1H), 7,42 (s, 1H), 7,14 (d, 1H), 6,83 (s, 2H), 6,55 (a, 2H), 3,07 (m, 4H), 2,47 (s, 3H), 2,29 (s, 6H), 2,22 (s, 3H). LRMS [M+H]⁺ = 356,2

Ejemplo 78

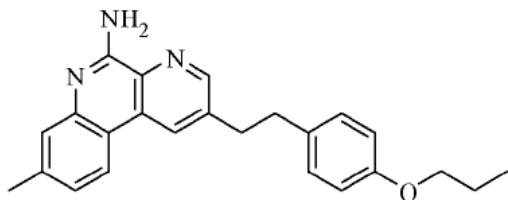
2-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenil)propan-2-ol



30 A una solución de 4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilbenzoato de etilo (del Ejemplo 74) (1,0 equiv.) en DCM a 0 °C se le añadió yoduro de metilmagnesio 3,0 M (10 equiv.) en éter y se calentó a temperatura ambiente durante la noche. La reacción se enfrió a 0 °C y se detuvo con agua. Después de agitar durante 15 minutos, la mezcla de reacción se neutralizó con solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio y se añadió EA. Las dos fases se separaron, y la capa acuosa se extrajo tres veces con EA. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO₄ anhidro, y se concentraron al vacío. El material en bruto se purificó por cromatografía instantánea en un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando MeOH al 0-5 % en DCM para dar a 2-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenil)propan-2-ol. RMN ¹H (Acetona-d₆): δ 8,72-8,75 (m, 2H), 8,23 (d, 1H), 7,41 (s, 1H), 7,32 (s, 1H), 7,25 (d, 1H), 7,12-7,14 (m, 2H), 6,6 (a, 2H), 3,91 (s, 1H), 3,07-3,18 (m, 4H), 2,44 (s, 3H), 2,31 (s, 3H), 1,48 (s, 6H). LRMS [M+H]⁺ = 386,2

Ejemplo 79

8-metil-2-(4-propoxifenetyl)benzo[f][1,7]naftiridin-5-amina

Paso 1: 3-cloro-5-((4-propoxifenil)etinil)picolinonitrilo

- 5 Una solución de 3,5-dicloropicolinonitrilo (1,0 equiv.), 1-etinil-4-propoxibenceno (comercialmente disponible) (1,0 equiv.), trans-diclororbis(trifenilfosfina)paladio (II) (10 % en mol), yoduro de cobre (I) (20 % en mol), y trietilamina (5,0 equiv.) en DMF (0,3 M) se agitó a 50 °C durante 3 horas. Después del enfriamiento a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se diluyó con acetato de etilo e hidróxido de amonio acuoso al 10 %. Las dos fases se separaron, y la capa acuosa se extrajo dos veces con acetato de etilo. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO₄ anhidro, y se concentraron al vacío. El material en bruto se purificó por cromatografía instantánea en un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando acetato de etilo al 0-10 % en hexano para dar 3-cloro-5-((4-propoxifenil)etinil)picolinonitrilo como un sólido de color blanco.
- 10

Paso 2: 3-cloro-5-(4-propoxifenil)picolinonitrilo

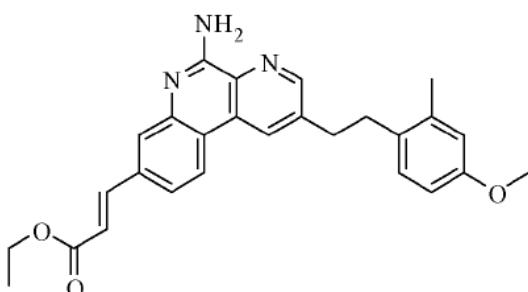
- 15 Una solución de 3-cloro-5-((4-propoxifenil)etinil)picolinonitrilo (del paso previo) (1,0 equiv.) en EtOH (0,05 M) se enjuagó con nitrógeno y se añadió óxido de paladio (VI) (0,5 equiv.). El recipiente de reacción se evacuó, se enjuagó con hidrógeno, y se agitó durante 5 horas a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se filtró a través de celite, se lavó con MeOH al 2 % en DCM, y se concentraron al vacío. El material en bruto se purificó por cromatografía instantánea en un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando acetato de etilo al 0-15 % en hexano para dar 3-cloro-5-(4-propoxifenil)picolinonitrilo.

Paso 3: 8-metil-2-(4-propoxifenetyl)benzo[f][1,7]naftiridin-5-amina

- 20 Una solución de 3-cloro-5-(4-propoxifenil)picolinonitrilo (del paso previo) (1,0 equiv.), 5-metil-2-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenilcarbamato de *terc*-butilo (del Ejemplo 5 / Paso 2) (1,1 equiv.), *tetraakis*(trifenilfosfina)paladio (8 % en mol), y solución acuosa de carbonato de sodio 2 N (3,0 equiv.) en tolueno (0,2 M) se agitó a 100 °C durante la noche. Después del enfriamiento a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se diluyó con MeOH al 2 % en DCM. Las dos fases se separaron. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO₄ anhidro, y se concentraron al vacío. El material en bruto se purificó por cromatografía instantánea en un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando acetato de etilo al 0-40 % en tolueno para dar 8-metil-2-(4-propoxifenetyl)benzo[f][1,7]naftiridin-5-amina. RMN ¹H(Acetona-d₆): δ 8,74 (s, 1H), 8,67 (s, 1H), 8,24 (d, 1H), 7,41 (s, 1H), 7,15-7,17 (m, 3H), 6,81 (d, 2H), 6,5 (a, 2H), 3,87 (t, 2H), 3,18 (t, 2H), 3,04 (t, 2H), 2,44 (s, 3H), 1,73 (m, 2H), 0,99 (t, 3H). LRMS [M+H] = 372,2
- 25
- 30

Ejemplo 80

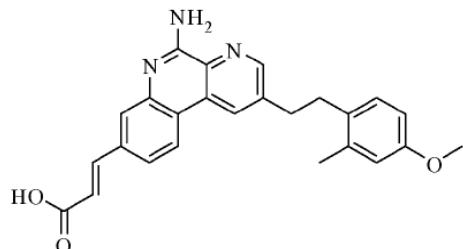
3-(5-amino-2-(4-metoxi-2-metilfenetyl)benzo[f][1,7] naftiridin-8-il)acrilato de (E)-etilo



- 35 Ser preparó 3-(5-amino-2-(4-metoxi-2-metilfenetyl)benzo[f][1,7] naftiridin-8-il)acrilato e (E)-etilo a partir de 5-amino-2-(4-metoxi-2-metilfenetyl)benzo[f][1,7] naftiridina-8-carbaldehído (del Ejemplo 69) y 2-(dietoxifosforil)acetato de etilo (comercialmente disponible) siguiendo los procedimientos descritos para el Ejemplo 65 / Paso 3. LRMS [M+H] = 442,2

Ejemplo 81

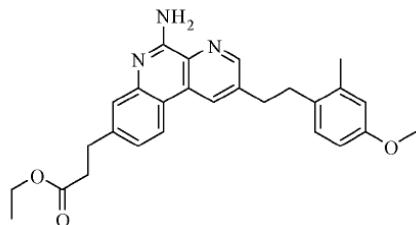
Ácido (E)-3-(5-amino-2-(4-metoxi-2-metilfenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-8-il)acrílico



- 5 Se preparó el ácido (E)-3-(5-amino-2-(4-metoxi-2-metilfenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-8-il)acrílico a partir de 3-(5-amino-2-(4-metoxi-2-metilfenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-8-il)acrilato de (E)-etilo (del Ejemplo 80) siguiendo los procedimientos descritos para el Ejemplo 68. RMN ^1H de la sal de TFA (DMSO-d₆): δ 12,66 (s, 1H), 9,09 (s, 1H), 8,88 (s, 1H), 8,66 (d, 1H), 7,95 (d, 1H), 7,91 (s, 1H), 7,75 (d, 1H), 7,10 (d, 1H), 6,77 - 6,71 (m, 2H), 6,68 (dd, 1H), 3,70 (s, 3H), 3,16 (t, 2H), 3,00 (t, 2H), 2,30 (s, 3H). LRMS [M+H]⁺ = 414,2

Ejemplo 82

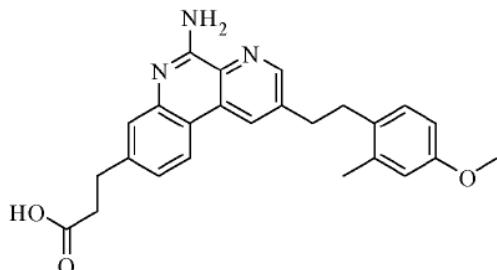
- 10 3-(5-amino-2-(4-metoxi-2-metilfenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-8-il)propanoato de etilo



- 15 Se preparó 3-(5-amino-2-(4-metoxi-2-metilfenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-8-il)propanoato de etilo a partir de 3-(5-amino-2-(4-metoxi-2-metilfenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-8-il)acrilato de (E)-etilo (del Ejemplo 80) siguiendo los procedimientos descritos para el Ejemplo 44 / Paso 5. RMN ^1H (CDCl₃): δ 8,63 (d, 1H), 8,37 (d, 1H), 8,13 (d, 1H), 7,56 (d, 1H), 7,24 (dd, 1H), 7,02 (d, 1H), 6,75 (d, 1H), 6,69 (dd, 1H), 6,15 (a s, 2H), 4,17 (q, 2H), 3,79 (s, 3H), 3,12 (dd, 4H), 2,99 (dd, 2H), 2,75 (t, 2H), 2,29 (s, 3H), 1,27 (t, 2H), 0,99 (t, 3H). LRMS [M+H]⁺ = 444,2

Ejemplo 83

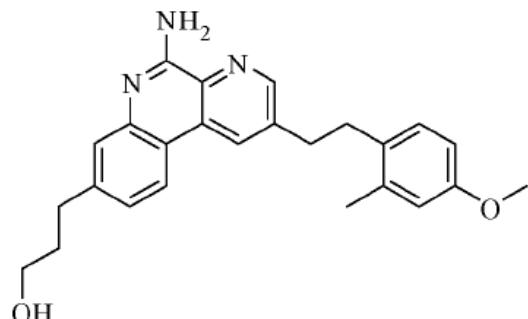
Ácido 3-(5-amino-2-(4-metoxi-2-metilfenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-8-il)propanoico



- 20 Se preparó ácido 3-(5-amino-2-(4-metoxi-2-metilfenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-8-il)propanoico a partir de 3-(5-amino-2-(4-metoxi-2-metilfenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-8-il)propanoato de etilo (del Ejemplo 82) siguiendo los procedimientos descritos para el Ejemplo 68. RMN ^1H (DMSO-d₆): δ 12,18 (s, 1H), 8,84 (d, 1H), 8,70 (d, 1H), 8,36 (d, 1H), 7,39 (d, 1H), 7,20 (dd, 1H), 7,09 (m, 2H), 6,74 (d, 1H), 6,68 (dd, 1H), 3,70 (s, 3H), 3,09 (dd, 2H), 2,96 (dd, 4H), 2,63 (t, 2H), 2,27 (s, 3H). LRMS [M+H]⁺ = 416,2

Ejemplo 84

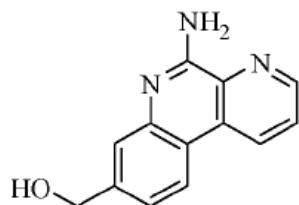
3-(5-amino-2-(4-metoxi-2-metilfenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-8-il)propan-1-ol



5 Se preparó 3-(5-amino-2-(4-metoxi-2-metilfenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-8-il)propan-1-ol a partir de 3-(5-amino-2-(4-metoxi-2-metilfenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-8-il)propanoato de etilo (del Ejemplo 82) siguiendo los procedimientos descritos para el Ejemplo 42 / Paso 3. RMN ¹H (CDCl₃): δ 8,54 (d, 1H), 8,30 (d, 1H), 8,05 (d, 1H), 7,48 (d, 1H), 7,15 (dd, 1H), 6,93 (d, 1H), 6,66 (d, 1H), 6,61 (dd, 1H), 5,98 (a s, 2H), 3,71 (s, 3H), 3,66 (t, 2H), 3,03 (dd, 2H), 2,91 (dd, 2H), 2,81 (t, 2H), 2,20 (s, 3H), 1,98 - 1,90 (m, 2H). LRMS [M+H] = 402,2

Ejemplo 85

10 (5-aminobenzo[f][1,7]naftiridin-8-il)metanol

Paso 1: ácido 2-(terc-butoxicarbonilamino)-4-(metoxicarbonil)fenilborónico

15 Una solución de clorhidrato de ácido 2-amino-4-(metoxicarbonil)fenilborónico (comercialmente disponible) (1,0 equiv.), trietilamina (3,0 equiv.), dicarbonato de di-terc-butilo (1,1 equiv.), y DMAP (0,1 equiv.) en CH₃CN (0,3 M) se agitó a 40 °C durante la noche. Después del enfriamiento a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se concentró al vacío para obtener un residuo en bruto. El material en bruto se purificó por cromatografía instantánea en un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando MeOH al 0-30 %/DCM para dar ácido 2-(terc-butoxicarbonilamino)-4-(metoxicarbonil)fenilborónico como un sólido de color pardo.

Paso 2: 5-aminobenzo[f][1,7]naftiridina-8-carboxilato de metilo

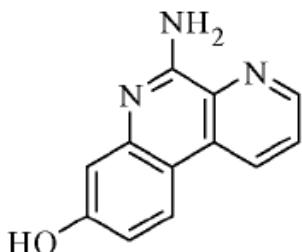
20 Una solución de ácido 2-(terc-butoxicarbonilamino)-4-(metoxicarbonil)-fenilborónico (del paso previo) (1,0 equiv.) y 3-bromopicolonitrilo (1,0 equiv.), tetraquis(trifenil-fosfina)paladio (5 % en mol), y solución acuosa de carbonato de sodio 2 N (2,0 equiv.) en tolueno/etanol (2:1, 0,03 M) se agitó a 100 °C durante la noche. Después del enfriamiento a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se filtró para recolectar el precipitado. El precipitado se enjuagó con EtOAc para dar 5-aminobenzo[f][1,7]naftiridina-8-carboxilato de metilo como un sólido de color pardo pálido.

Paso 3: (5-aminobenzo[f][1,7]naftiridin-8-oil)metanol

25 A una solución de 5-aminobenzo[f][1,7]naftiridina-8-carboxilato de metilo (del paso previo) (1,0 equiv.) en EtOH (0,03 M) se le añadió NaBH₄ (10 equiv.) a 25 °C. La solución se calentó a 80 °C durante 5 horas. Después del enfriamiento a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se concentró al vacío. El residuo se dividió entre NaHCO₃ saturado y EtOAc. Las capas se separaron y la capa acuosa se extrajo con EtOAc dos veces. La capa orgánica combinada se lavó con salmuera, se seco sobre MgSO₄ y se concentró al vacío para obtener un residuo en bruto. El material en bruto se purificó por cromatografía instantánea en un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando MeOH al 0-10 %/DCM para dar (5-aminobenzo[f][1,7]naftiridin-8-il)metanol como un sólido blanquecino: RMN ¹H (metanol-d₄): δ 8,82 (dd, 1H), 8,77 (dd, 1H), 7,26 (d, 1H), 7,70 (dd, 1H), 7,50 (d, 1H), 7,27 (dd, 1H), 4,66 (s, 2H). LRMS [M+H] = 226,1.

Ejemplo 86

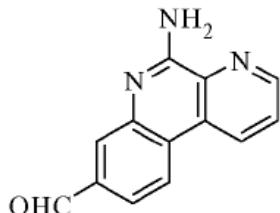
5-aminobenzo[f][1,7]naftiridin-8-ol



- 5 A una solución de 8-metoxibenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina (del Ejemplo 10) (1,0 equiv.) en DCM (0,04 M) se le añadió BBr₃ (2,5 equiv.) gota a gota en N₂ a -20 °C. La reacción se dejó calentar a temperatura ambiente durante 30 minutos. La reacción después se agitó durante la noche. La reacción se detuvo con NaHCO₃ saturado y se extrajo con EtOAc. La capa orgánica combinada se lavó con salmuera, se secó sobre MgSO₄ y se concentraron al vacío para obtener un residuo en bruto. El material en bruto se purificó por cromatografía instantánea en un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando MeOH/DCM al 0-20 % para dar 5-aminobenzo[f][1,7]naftiridin-8-ol como un sólido de color amarillo: RMN ¹H (Acetona-d₆): δ 8,90 (dd, 1H), 8,83 (dd, 1H), 8,32 (d, 1H), 7,83 (dd, 1H), 7,11 (a s, 2H), 7,10 (d, 1H), 6,96 (dd, 1H), 5,86 (a s, 1H). LRMS [M+H] = 212,1.
- 10

Ejemplo 87

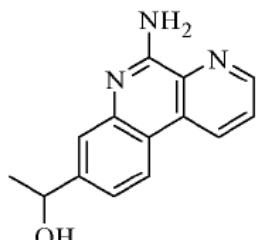
5-aminobenzo[f][1,7]naftiridina-8-carbaldehído



- 15 Una solución de (5-aminobenzo[f][1,7]naftiridin-8-il)metanol (del Ejemplo 85) (1,0 equiv.) y MnO₂ activado (20 equiv.) en DCM (0,1 M) se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla de reacción se diluyó con DCM. El MnO₂ se retiró por filtración y el filtrado se concentró al vacío para obtener un residuo en bruto. El material en bruto se purificó por cromatografía instantánea en un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando MeOH al 0-10 %/DCM para dar 5-aminobenzo[f][1,7]naftiridina-8-carbaldehído como un sólido de color amarillo: RMN ¹H (Acetona-d₆): δ 10,19 (s, 1H), 9,14 (dd, 1H), 9,01 (dd, 1H), 8,63 (d, 1H), 8,14 (d, 1H), 7,93 (dd, 1H), 7,81 (dd, 1H), 6,96 (a s, 2H). LRMS [M+H] = 224,1
- 20

Ejemplo 88

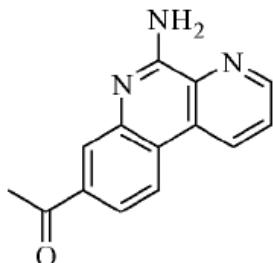
1-(5-aminobenzo[f][1,7]naftiridin-8-il)etanol



- 25 A una solución de 5-aminobenzo[f][1,7]naftiridina-8-carbaldehído (del Ejemplo 87) (1,0 equiv.) en THF (0,02 M) se le añadió MeLi (2,5 equiv.) a -78 °C. La reacción se dejó calentar a temperatura ambiente durante la noche. La reacción se detuvo por NH₄Cl saturado y se extrajo con EtOAc. La capa orgánica combinada se lavó con salmuera, se secó sobre MgSO₄ y se concentraron al vacío para obtener un residuo en bruto. El material en bruto se purificó por cromatografía instantánea en un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando MeOH al 0-5 %/DCM para dar 1-(5-aminobenzo[f][1,7]naftiridin-8-il)etanol como un sólido de color amarillo: RMN ¹H (metanol-d₄): δ 8,94 (dd, 1H), 8,88 (dd, 1H), 8,38 (d, 1H), 7,81 (dd, 1H), 7,62 (d, 1H), 7,41 (dd, 1H), 4,97 (q, 1H), 1,53 (d, 3H). LRMS [M+H] = 240,1.
- 30

Ejemplo 89

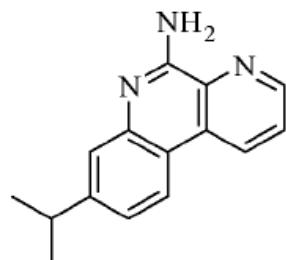
1-(5-aminobenzo[f][1,7]naftiridin-8-il)etanona



- 5 Una solución de 1-(5-aminobenzo[f][1,7]naftiridin-8-il)etanol (del Ejemplo 88) (1,0 equiv.) y MnO₂ activado (20 equiv.) en DCM (0,1 M) se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla de reacción se diluyó con DCM. El MnO₂ se retiró por filtración, y el filtrado se concentró al vacío para obtener un residuo en bruto. El material en bruto se purificó por cromatografía instantánea en un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando MeOH al 0-5 %/DCM para dar 1-(5-aminobenzo[f][1,7]naftiridin-8-il)etanona como un sólido de color amarillo: RMN ¹H (Acetona-d₆): δ 9,11(dd, 1H), 8,99 (dd, 1H), 8,56 (d, 1H), 8,20 (d, 1H), 7,94-7,88(m, 2H), 6,90 (s a, 2H), 2,70 (s, 3H). LRMS [M+H] = 238,1.

Ejemplo 90

8-isopropilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina

Paso 1: 2-(5-aminobenzo[f][1,7]naftiridin-8-il)propan-2-ol

- 15 A una solución de 5-aminobenzo[f][1,7]naftiridina-8-carboxilato de metilo (del Ejemplo 85 / Paso 2) (1,0 equiv.) en THF (0,02 M) se le añadió MeLi (10 equiv.) a -78 °C. La reacción se dejó calentar a temperatura ambiente durante la noche. La reacción se detuvo por NH₄Cl saturado y se extrajo con EtOAc. La capa orgánica combinada se lavó con salmuera, se secó sobre MgSO₄ y se concentró al vacío para obtener un residuo en bruto. El material en bruto se purificó por cromatografía instantánea en un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando MeOH al 0-10 %/DCM para dar 2-(5-aminobenzo[f][1,7]naftiridin-8-il)propan-2-ol como un aceite de color amarillo.

Paso 2: 8-(prop-1-en-2-il)benzo[f][1,7]naftiridin-5-amina

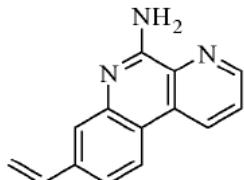
- 20 Una solución de 2-(5-aminobenzo[f][1,7]naftiridin-8-il)propan-2-ol (del paso previo) (1,0 equiv.) y p-TsOH (2 equiv.) en tolueno (0,01 M) se agitó a 90 °C durante 6 horas. La reacción se detuvo por NaHCO₃ saturado y se extrajo con EtOAc. La capa orgánica combinada se lavó con salmuera, se secó sobre MgSO₄ y se concentraron al vacío para obtener un residuo en bruto. El material en bruto se purificó por cromatografía instantánea en un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando MeOH al 0-5 %/DCM para dar 8-(prop-1-en-2-il)benzo[f][1,7]naftiridin-5-amina como un sólido de color amarillo.

Paso 3: 8-isopropilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina

- 30 Una mezcla de 8-(prop-1-en-2-il)benzo[f][1,7]naftiridin-5-amina (del paso previo) (1,0 equiv) y Pd/C (húmedo, 10 % en peso) en EtOH se agitó en un globo de H₂ durante la noche. La mezcla de reacción se diluyó con DCM. El Pd/C se retiró por filtración a través de celite, y el filtrado se concentró al vacío para obtener un residuo en bruto. El material en bruto se purificó por cromatografía instantánea en un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando EtOAc al 0-60 %/Hexanos para dar 8-isopropilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina como un sólido de color amarillo: RMN ¹H (Acetona-d₆): δ 8,98(dd, 1H), 8,88 (dd, 1H), 8,37 (d, 1H), 7,83 (dd, 1H), 7,49 (d, 1H), 7,27(dd, 1H), 6,66 (a s, 2H), 3,10-3,00 (m, 1H), 1,33 (d, 6H). LRMS [M+H] = 238,1.

Ejemplo 91

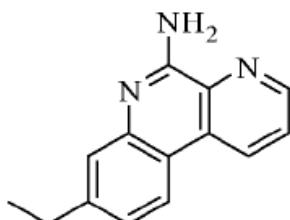
8-vinilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina



- 5 A una solución de yoduro de metil-trifenil-fosfonio (6,0 equiv.) se leañadió *n*BuLi (7,0 equiv.) a -78 °C. La mezcla de reacción se dejó calentar a 0 °C y se agitó durante 30 minutos (color naranja intenso). La reacción se enfrió nuevamente a -78 °C y se introdujo gota a gota la reacción 5-aminobenzo[f][1,7]naftiridina-8-carbaldehído (del Ejemplo 87) (1,0 equiv.) en THF. La reacción se dejó calentar a temperatura ambiente durante la noche. La reacción se detuvo por NH₄Cl saturado y se extrajo con EtOAc. La capa orgánica combinada se lavó con salmuera, se secó sobre MgSO₄ y se concentraron al vacío para obtener un residuo en bruto. El material en bruto se purificó por 10 cromatografía instantánea en un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando EtOAc al 0-50 %/Hexanos para dar 8-vinilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina como un sólido de color blanco: RMN ¹H (Acetona-d₆): RMN ¹H (Acetona-d₆): δ 9,00 (dd, 1H), 8,90 (dd, 1H), 8,41 (d, 1H), 7,84 (dd, 1H), 7,65 (d, 1H), 7,52(dd, 1H), 6,91 (dd, 1H), 6,77 (a s, 2H), 5,97 (dd, 1H), 5,34 (dd, 1H). LRMS [M+H]⁺ = 222,1.

Ejemplo 92

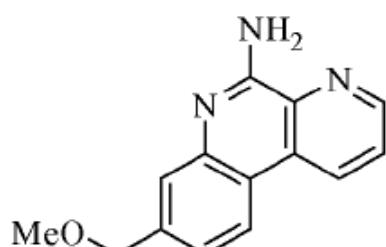
15 8-etilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina



- 20 Una mezcla de 8-vinilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina (1,0 equiv) (del Ejemplo 91) y Pd/C (húmedo, 10 % en peso) en EtOH se agitó en un globo de H₂ durante la noche. La mezcla de reacción se diluyó con DCM. El Pd/C se retiró por filtración a través de celite, y el filtrado se concentró al vacío para obtener un residuo en bruto. El material en bruto se purificó por cromatografía instantánea en un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando EtOAc al 0-60 %/Hexanos para dar 8-etilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina como una espuma de color blanco: RMN ¹H (Acetona-d₆): δ 8,98(dd, 1H), 8,88 (dd, 1H), 8,35 (d, 1H), 7,82 (dd, 1H), 7,46 (d, 1H), 7,22(dd, 1H), 6,63 (a s, 2H), 2,78 (q, 2H), 1,30 (t, 3H). LRMS [M+H]⁺ = 224,1.

Ejemplo 93

25 8-(metoximetil)benzo[f][1,7]naftiridin-5-amina

Paso 1: 2-cloro-5-(metoximetil)fenilcarbamato de terc-butilo

- 30 A una solución de 2-cloro-5-(metoximetil)anilina (comercialmente disponible) (1,0 equiv.) en THF (0,2 M) a 0 °C en atmósfera de N₂ se le añadió gota a gota NaHMDS 1 M (2,5 equiv.). La reacción se agitó durante 15 minutos a 0 °C, y se añadió una solución de dicarbonato de di-terc-butilo en THF. La reacción se calentó a temperatura durante la noche. El disolvente se evaporó, y el residuo resultante se detuvo con solución acuosa de HCl 0,1 N. La suspensión acuosa se extrajo dos veces con EtOAc. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre anhidro MgSO₄, y se concentraron al vacío. El material en bruto se purificó por cromatografía instantánea en

un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando EtOAc al 0-30 %/Hexanos para dar 2-cloro-5-(metoximetil)fenilcarbamato de *terc*-butilo como un aceite incoloro.

Paso 2: 5-(metoximetil)-2-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenilcarbamato de *terc*-butilo

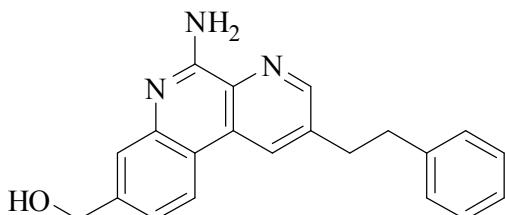
5 2-cloro-5-(metoximetil)fenilcarbamato de *terc*-butilo (del paso previo) (1,0 equiv.), 4,4,4',4',5,5,5',5'-octametil-2,2'-bi(1,3,2-dioxaborolano) (3,0 equiv.), Pd₂dba₃ (2,5 %), XPhos (10 %), y KOAc (3 equiv.) se mezclaron en dioxano (0,2 M) en atmósfera de N₂. La reacción se calentó a 110 °C y se agitó durante la noche. La suspensión resultante se enfrió a temperatura ambiente, se diluyó con éter, se filtró a través de celite, y el filtrado se concentró al vacío. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO₄ anhidro, y se concentraron al vacío. El material en bruto se purificó por cromatografía instantánea en un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando 10 EtOAc al 0-20 %/Hexanos para dar 5-(metoximetil)-2-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenilcarbamato de *terc*-butilo como una espuma de color blanco.

Paso 3: 8-(metoximetil)benzo[f][1,7]naftiridin-5-amina

15 Una solución de 5-(metoximetil)-2-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenilcarbamato de *terc*-butilo (del paso previo) (1,0 equiv.) y 3-bromopicolino-nitrilo (1,0 equiv.) en tolueno (0,44 M) se mezcló con *tetraquis*(trifenilfosfina)paladio (5 % en mol) y solución acuosa de carbonato de potasio 2 N (2,0 equiv.). La reacción se calentó a 100 °C y se agitó durante la noche. Después del enfriamiento a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se diluyó con MeOH al 2 % en DCM y agua. Las dos fases se separaron, y la capa acuosa se extrajo dos veces con MeOH al 2 % en DCM. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO₄ anhidro, y se concentraron al vacío. El material en bruto se purificó por cromatografía instantánea en un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando EtOAc al 0-100 %/Hexanos para dar 8-(metoximetil)benzo[f][1,7]naftiridin-5-amina como un sólido de color blanco: RMN ¹H (metanol-d₄): δ 8,97 (dd, 1H), 8,91 (dd, 1H), 8,41 (dd, 1H), 7,83 (dd, 1H), 7,59 (d, 1H), 7,37 (dd, 1H), 4,62 (s, 2H), 3,45 (s, 3H). LRMS [M+H]⁺ = 240,1.

Ejemplo 94

(5-amino-2-fenetilbenzo[f][1,7]naftiridin-8-il)metanol



Paso 1: 5-amino-2-fenetilbenzo[f][1,7]naftiridina-8-carboxilato de metilo

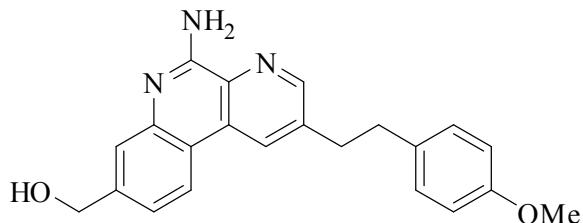
Una solución de ácido 2-(*terc*-butoxicarbonilamino)-4-(metoxicarbonil)fenilborónico (del Ejemplo 85/paso 1) (1,0 equiv.) y 2-cloro-6-fenetilnicotinonitrilo (preparado a partir de (E)-3-cloro-5-estirilpicolinonitrilo (del Ejemplo 32/paso 1) siguiendo el procedimiento descrito en el Ejemplo 114/paso 3) (1,0 equiv.), *tetraquis*(trifenilfosfina)paladio (5 % en mol), y solución acuosa de carbonato de sodio 2 N (2,0 equiv.) en tolueno/etanol (2:1, 0,03 M) se agitó a 100 °C durante la noche. Después del enfriamiento a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se diluyó con EtOAc y agua. Las dos fases se separaron, y la capa acuosa se extrajo dos veces con EtOAc. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO₄ anhidro, y se concentraron al vacío. El material en bruto se purificó por cromatografía instantánea en un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando EtOAc al 0-60 %/Hexanos para dar 5-amino-2-fenetilbenzo[f][1,7]naftiridina-8-carboxilato de metilo como un sólido de color blanco.

Paso 2: (5-amino-2-fenetilbenzo[f][1,7]naftiridin-8-il)-metanol

A una solución de 5-amino-2-fenetilbenzo-[f][1,7]naftiridina-8-carboxilato de metilo (del paso previo) (1,0 equiv.) en THF (0,03 M) se le añadió Super-H (10 equiv.) a 0 °C. La solución se dejó calentar a temperatura ambiente durante 40 30 min. La reacción se detuvo por agua hasta que no burbujeó. Las capas se separaron y la capa acuosa se extrajo con EtOAc. La capa orgánica combinada se lavó con salmuera, se secó sobre MgSO₄ y se concentró al vacío para obtener un residuo en bruto. El material en bruto se purificó por cromatografía instantánea en un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando MeOH al 0-10 %/DCM para dar (5-amino-2-fenetilbenzo[f][1,7]naftiridin-8-il)metanol como un sólido blanquecino: RMN ¹H (metanol-d₄): δ 8,63 (dd, 1H), 8,56 (dd, 1H), 8,24 (d, 1H), 7,57 (d, 1H), 7,35 (dd, 1H), 7,27-7,15 (m, 5H), 4,75 (s, 2H), 3,20 (t, 2H), 3,06 (t, 2H). LRMS [M+H]⁺ = 330,1.

Ejemplo 95

(5-amino-2-(4-metoxifenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-8-il)-metanol

Paso 1: 5-amino-2-(4-metoxifenetil)benzo[f][1,7]naftiridina-8-carboxilato de metilo

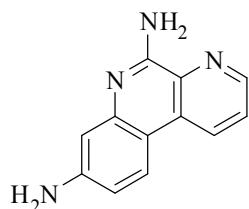
- 5 Una solución de ácido 2-(terc-butoxicarbonilamino)-4-(metoxicarbonil)fenilborónico (del Ejemplo 85/paso 1) (1,0 equiv.) y 2-cloro-6-(4-metoxifenetil)nicotinonitrilo (preparado a partir de la reacción de 3,5-dicloropicolinonitrilo con 1-etinil-4-metoxibenceno siguiendo el procedimiento descrito en el Ejemplo 44/paso 3 y reducción del producto siguiendo el procedimiento descrito en el Ejemplo 114/paso 3) (1,0 equiv.), *tetraquis*(trifenil-fosfina)paladio (5 % en mol), y solución acuosa de carbonato de sodio 2 N (2,0 equiv.) en tolueno/etanol (2:1, 0,03 M) se agitó a 100 °C durante la noche. Después del enfriamiento a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se diluyó con EtOAc y agua. Las dos fases se separaron, y la capa acuosa se extrajo dos veces con EtOAc. Las capas orgánicas combinadas se llevaron con salmuera, se secaron sobre MgSO₄ anhidro, y se concentraron al vacío. El material en bruto se purificó por cromatografía instantánea en un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando EtOAc al 0-80 %/Hexanos para dar 5-amino-2-(4-metoxifenetil)benzo-[f][1,7]naftiridina-8-carboxilato de metilo como un sólido de color blanco.

Paso 2: (5-amino-2-(4-metoxifenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-8-il)metanol

- A una solución de 5-amino-2-(4-metoxifenetil)-benzo[f][1,7]naftiridina-8-carboxilato de metilo (del paso previo) (1,0 equiv.) en THF (0,03 M) se le añadió Súper-H (10 equiv.) a 0 °C. La solución se dejó calentar a temperatura ambiente durante 30 minutos. La reacción se detuvo por agua hasta que no burbujeó. Las capas se separaron y se extrajo la capa acuosa con EtOAc. La capa orgánica combinada se lavó con salmuera, se secó sobre MgSO₄ y se concentraron al vacío para obtener un residuo en bruto. El material en bruto se purificó por cromatografía instantánea en un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando EtOAc al 0-100 %/Hexanos para dar (5-amino-2-(4-metoxifenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-8-il)-metanol como un sólido blanquecino (31 %): RMN ¹H (acetona- d₆): δ 8,79 (d, 1H), 8,70 (d, 1H), 8,35 (d, 1H), 7,61 (d, 1H), 7,33 (dd, 1H), 7,13 (d, 2H), 6,83 (d, 2H), 6,62 (a s, 2H), 4,47 (s, 2H), 4,40 (a s, 1H), 3,75 (s, 3H), 3,22 (t, 2H), 3,06 (t, 2H). LRMS [M+H]⁺ = 360,2.

Ejemplo 96

benzo[f][1,7]naftiridina-5,8-diamina

Paso 1: 2-bromo-5-nitrofenilcarbamato de terc-butilo

- 30 A una solución de 2-bromo-5-nitroanilina (comercialmente disponible) (1,0 equiv.) en THF (0,2 M) a 0 °C en atmósfera de N₂ se le añadió gota a gota NaHMDS 1 M (2,5 equiv.). La reacción se agitó durante 15 minutos a 0 °C, y se añadió una solución de dicarbonato de di-terc-butilo en THF. La reacción se calentó a temperatura ambiente durante la noche. El disolvente se evaporó, y el residuo resultante se detuvo con solución acuosa de HCl 0,1 N. La suspensión acuosa se extrajo dos veces con EtOAc. Las capas orgánicas combinadas se llevaron con salmuera, se secaron sobre MgSO₄ anhidro, y se concentraron al vacío. El material en bruto se purificó por cromatografía instantánea en un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando EtOAc al 0-30 %/Hexanos para dar 2-bromo-5-nitrofenilcarbamato de *terc*-butilo como un aceite incoloro.

Paso 2: 5-nitro-2-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenilcarbamato de terc-butilo

- 40 Se mezclaron 2-bromo-5-nitrofenilcarbamato de *terc*-butilo (del paso previo) (1,0 equiv.), 4,4,4',4',5,5,5',5'-octametil-2,2'-bi(1,3,2-dioxaborolano) (1,8 equiv.), dicloro-[1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno]paladio (II) (5 %), y acetato de sodio (4,5 equiv.) en dioxano (0,2 M) en atmósfera de N₂. La reacción se calentó a 100 °C y se agitó durante la noche. La suspensión resultante se enfrió a temperatura ambiente, se diluyó con éter, se filtró a través de celite, y el filtrado se

concentró al vacío. El residuo se purificó por cromatografía instantánea en un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando EtOAc al 0-30 %/Hexanos para dar 5-nitro-2-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenilcarbamato de *terc*-butilo como una espuma de color blanco.

Paso 3: 8-nitrobenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina

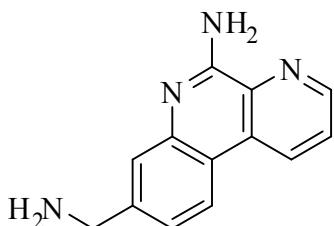
- 5 Una solución de 5-nitro-2-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenilcarbamato de *terc*-butilo (del paso previo) (1,0 equiv.) y 3-bromopicolinonitrilo (1,0 equiv.) en tolueno (0,44 M) se mezcló con *tetraquis*(trifenil-fosfina)paladio (5 % en mol) y solución acuosa de carbonato de potasio 2 N (2,0 equiv.). La reacción se calentó a 100 °C y se agitó durante la noche. Después del enfriamiento a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se filtró para recolectar el precipitado. El precipitado se enjuagó con EtOAc para dar 8-nitrobenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina como un sólido de color amarillo.

Paso 4: benzo[f][1,7]naftiridina-5,8-diamina

- 10 Una mezcla de 8-nitrobenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina (del paso previo) (1,0 equiv) y Pd/C (húmedo, 10 % en peso) en EtOH se agitó en un globo de H₂ durante la noche. La mezcla de reacción se diluyó con DCM. El sólido insoluble se retiró por filtración a través de celite, y el filtrado se concentró al vacío para obtener un residuo en bruto. El material en bruto se lavó con acetona para dar benzo[f][1,7]naftiridina-5,8-diamina como un sólido blanquecino: RMN ¹H (metanol-d₄): δ 8,73 (dd, 1H), 8,71 (dd, 1H), 8,11 (d, 1H), 7,69 (dd, 1H), 6,86 (d, 1H), 6,82 (dd, 1H). LRMS [M+H] = 211,1.

Ejemplo 97

8-(aminometil)benzo[f][1,7]naftiridin-5-amina



- 20
25 El compuesto del título se preparó de acuerdo al procedimiento descrito en el Ejemplo 85/paso 1, pero usando clorhidrato de ácido 2-amino-4-cianofenilborónico (comercialmente disponible) como el material inicio. El material en bruto se purificó por cromatografía instantánea en un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando MeOH al 0-30 %/DCM para dar ácido 2-(*terc*-butoxicarbonilamino)-4-cianofenilborónico como un sólido blanquecino.

Paso 2: 5-aminobenzo[f][1,7]naftiridina-8-carbonitrilo

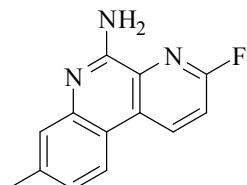
- 30 El compuesto del título se preparó de acuerdo al procedimiento descrito en el Ejemplo 96/paso 3, pero usando ácido 2-(*terc*-butoxicarbonilamino)-4-cianofenilborónico (del paso previo) como el material de inicio. El material en bruto se enjuagó con EtOAc/Hexanos 1:1 para dar 5-aminobenzo-[f][1,7]naftiridina-8-carbonitrilo como un sólido de color amarillo pálido.

Paso 4: benzo[f][1,7]naftiridina-5,8-diamina

- 35 Una mezcla de 8-nitrobenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina (del paso previo) (1,0 equiv) y Níquel Raney (húmedo, 10 % en peso) en EtOH/amoníaco (2:1) se agitó en un globo de H₂ durante la noche. La mezcla de reacción se diluyó con DCM. El sólido insoluble se retiró por filtración a través de celite, y el filtrado se concentró al vacío para obtener un residuo en bruto. El material en bruto se lavó con MeOH al 10 %/DCM y EtOAc al 70 %/Hexanos para dar benzo[f][1,7]naftiridina-5,8-diamina como un sólido blanquecino: RMN ¹H (metanol-d₄): δ 8,97 (dd, 1H), 8,90 (dd, 1H), 8,41 (d, 1H), 7,83 (dd, 1H), 7,57 (d, 1H), 7,39 (dd, 1H), 3,96 (s, 2). LRMS [M+H] = 229,1.

Ejemplo 98

3-fluoro-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina



- 40
45

Paso 1: 3-cloro-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina

Una solución de 5-metil-2-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenilcarbamato de *terc*-butilo (del Ejemplo 5/paso 2) (1,0 equiv.) y 3-bromo-6-cloropicolinonitrilo (del Ejemplo 20/paso 2) (1,0 equiv.), *tetraquis*(trifenil-fosfina)paladio (5 % en mol), y solución acuosa de carbonato de sodio 2 N (2,0 equiv.) en tolueno/etanol (2:1, 0,03 M) se agitó a

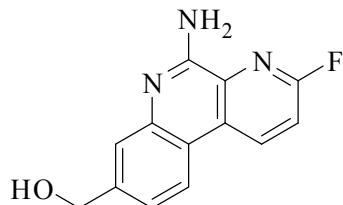
- 5 100 °C durante la noche. Después del enfriamiento a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se diluyó con EtOAc y agua. Las dos fases se separaron, y la capa acuosa se extrajo dos veces con EtOAc. Las capas orgánicas combinadas se levaron con salmuera, se secaron sobre MgSO₄ anhídrico, y se concentraron al vacío. El material en bruto se purificó por cromatografía instantánea en un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando EtOAc al 0-40 %/Hexanos para dar 3-cloro-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina como un sólido de color amarillo pálido.

Paso 2: 3-fluoro-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina

Una mezcla de 3-cloro-8-metilbenzo[f][1,7]-naftiridin-5-amina (del paso previo) (1,0 equiv.) fluoruro de potasio (4,0 equiv.), y 18-corona-6 (0,4 equiv.) en NMP (0,1 M) se calentó en un reactor de microondas a 210 °C durante 2 horas. Después del enfriamiento a temperatura ambiente, el residuo de la reacción se purificó por cromatografía instantánea en un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando EtOAc al 0-30 %/Hexanos para dar 3-fluoro-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina como un sólido de color blanco. RMN ¹H (acetona- d₆): δ 9,20 (dd, 1H), 8,32 (d, 1H), 7,58 (dd, 1H), 7,46 (d, 1H), 7,21 (dd, 1H), 6,51 (a s, 2H), 2,47 (s, 3H). LRMS [M+H] = 228,1.

Ejemplo 99

(5-amino-3-fluorobenzo[f][1,7]naftiridin-8-il)metanol

Paso 1: 5-((terc-butildimethylsiloxy)methyl)-2-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenilcarbamato de *terc*-butilo

El compuesto del título se preparó de acuerdo al procedimiento descrito en el Ejemplo 93/paso 1 y 2, pero usando 5-((terc-butildimethylsiloxy)methyl)-2-cloroanilina (comercialmente disponible) como el material de inicio. El material en bruto se purificó por cromatografía instantánea en un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando EtOAc al 0-20 %/Hexanos para dar 5-((terc-butildimethylsiloxy)methyl)-2-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenilcarbamato de *terc*-butilo como una espuma de color blanco.

Paso 2: 8-((terc-butildimethylsiloxy)methyl)-3-clorobenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina

El compuesto del título se preparó de acuerdo al procedimiento descrito en el Ejemplo 98/paso 1, pero usando 5-((terc-butildimethylsiloxy)methyl)-2-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenilcarbamato de *terc*-butilo (del paso previo) como el material de inicio. El material en bruto se purificó por cromatografía instantánea en un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando EtOAc al 0-15 %/Hexanos para dar 8-((terc-butildimethylsiloxy)methyl)-3-clorobenzo[f][1,7]-naftiridin-5-amina como un sólido de color amarillo pálido.

Paso 3: (5-amino-3-clorobenzo[f][1,7]naftiridin-8-il)metanol

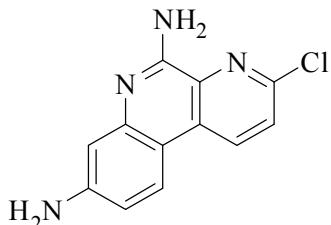
Una solución de 8-((terc-butildimethylsiloxy)methyl)-3-clorobenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina (del paso previo) (1,0 equiv.) y TBAF (1,1 equiv.) en THF se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La reacción se detuvo con NaHCO₃ saturado. Las dos fases se separaron, y la capa acuosa se extrajo dos veces con Et₂O. Las capas orgánicas combinadas se levaron con salmuera, se secaron sobre MgSO₄ anhídrico, y se concentraron al vacío. El material en bruto se purificó por cromatografía instantánea en un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando MeOH al 0-5 %/DCM para dar (5-amino-3-clorobenzo[f][1,7]naftiridin-8-il)metanol como un sólido de color blanco.

Paso 4: (5-amino-3-fluorobenzo[f][1,7]naftiridin-8-il)-metanol

40 El compuesto del título se preparó de acuerdo al procedimiento descrito en el Ejemplo 98/paso 2, pero usando (5-amino-3-clorobenzo[f][1,7]naftiridin-8-il)metanol (del paso previo) como el material de inicio. El material en bruto se purificó por cromatografía instantánea en un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando EtOAc al 0-40 % /Hexanos para dar (5-amino-3-fluorobenzo[f][1,7]naftiridin-8-il)metanol como un sólido de color blanco. RMN ¹H (metanol-d₄): δ 9,15 (dd, 1H), 8,38 (d, 1H), 7,64 (d, 1H), 7,55 (dd, 1H), 7,41 (dd, 1H), 4,77 (s, 2H). LRMS [M+H] = 244,1.

Ejemplo 100

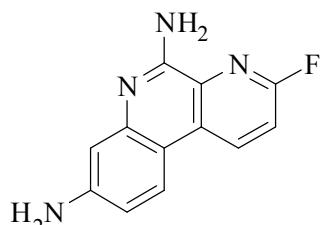
3-clorobenzo[f][1,7]naftiridina-5,8-diamina

Paso 1: 3-cloro-8-nitrobenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina

- 5 El compuesto del título se preparó de acuerdo al procedimiento descrito en el Ejemplo 98/paso 1, pero usando 5-nitro-2-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenil-carbamato de *terc*-butilo (comercialmente disponible) como el material de inicio. El material en bruto se purificó por cromatografía instantánea en un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando EtOAc al 0-40 %/Hexanos para dar 3-cloro-8-nitrobenzo-[f][1,7]naftiridin-5-amina como un sólido de color amarillo pálido.
- 10 Paso 2: 3-clorobenzo[f][1,7]naftiridina-5,8-diamina
- Una mezcla de 8-nitrobenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina (del paso previo) (1,0 equiv) y Níquel Raney (húmedo, 10 % en peso) en EtOH se agitó en un globo de H₂ durante la noche. La mezcla de reacción se diluyó con DCM. El sólido insoluble se retiró por filtración a través de celite, y el filtrado se concentró al vacío para obtener un residuo en bruto. El material en bruto se purificó por cromatografía instantánea en un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando EtOAc al 0-100 %/Hexanos para dar 3-clorobenzo[f][1,7]naftiridina-5,8-diamina como un sólido de color blanco. RMN ¹H (metanol-d₄): δ 8,75 (d, 1H), 8,08 (dd, 1H), 7,70 (d, 1H), 6,84-6,81 (m, 2H). LRMS [M+H] = 245,1.

Ejemplo 101

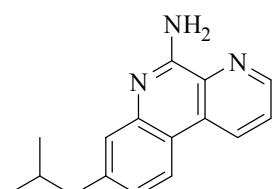
3-fluorobenzo[f][1,7]naftiridina-5,8-diamina



- 20 El compuesto del título se preparó de acuerdo al procedimiento descrito en el Ejemplo 98/paso 2, pero usando 3-clorobenzo[f][1,7]naftiridina-5,8-diamina (del Ejemplo 100) como el material de inicio. El material en bruto se purificó por cromatografía instantánea en un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando MeOH al 0-7 %/DCM para dar 3-fluorobenzo[f][1,7]naftiridina-5,8-diamina como un sólido de color blanco. RMN ¹H (metanol-d₄): δ 8,93 (dd, 1H), 8,09 (d, 1H), 7,44 (dd, 1H), 6,86-6,83 (m, 2H). LRMS [M+H] = 229,1.

Ejemplo 102

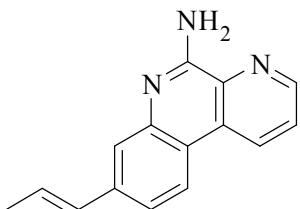
8-isobutilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina



- 30 Se preparó 8-isobutylbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina a partir de 5-aminobenzo[f][1,7]naftiridina-8-carbaldehído (del Ejemplo 87) con bromuro de isopropil-(trifenil)fosfonio siguiendo los procedimientos descritos en el Ejemplo 91 (reacción de wittig) y en el Ejemplo 92 (reducción). RMN ¹H (acetona-d₆): δ 8,98 (dd, 1H), 8,88 (dd, 1H), 8,35 (d, 1H), 7,82 (dd, 1H), 7,44 (d, 1H), 7,18 (dd, 1H), 6,73 (a s, 2H), 2,63 (d, 2H), 2,04-1,94 (m, 1H), 0,94 (d, 6H). LRMS [M+H] = 252,1.

Ejemplo 103

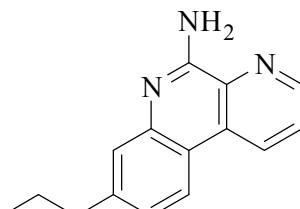
(E)-8-(prop-1-enil)benzo[f][1,7]naftiridin-5-amina



- 5 Se preparó (E)-8-(prop-1-enil)benzo[f][1,7]naftiridin-5-amina a partir de 5-aminobenzo[f][1,7]-naftiridina-8-carbaldehído (del Ejemplo 87) con bromuro de etil(trifenil)fosfonio siguiendo los procedimientos descritos en el Ejemplo 91. RMN ¹H (acetona-d₆): δ 8,98 (dd, 1H), 8,88 (dd, 1H), 8,36 (d, 1H), 7,83 (dd, 1H), 7,54 (d, 1H), 7,43 (dd, 1H), 6,67 (a s, 2H), 6,60-6,42 (m, 2H), 1,92 (dd, 3H). LRMS [M+H] = 236,1.

Ejemplo 104

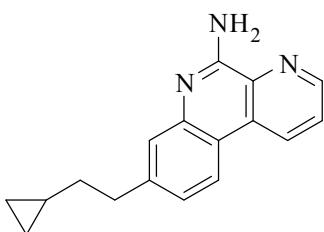
8-propilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina



- 10 Se preparó 8-propolbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina a partir de (E)-8-(prop-1-enil)benzo[f][1,7]naftiridin-5-amina (del Ejemplo 103) siguiendo los procedimientos descritos en el Ejemplo 92. RMN ¹H (acetona-d₆): δ 8,99 (dd, 1H), 8,88 (dd, 1H), 8,35 (d, 1H), 7,83 (dd, 1H), 7,45 (d, 1H), 7,21 (dd, 1H), 6,64 (a s, 2H), 2,74 (t, 2H), 1,74 (qt, 2H), 0,98 (t, 3H). LRMS [M+H] = 238,1.

Ejemplo 105

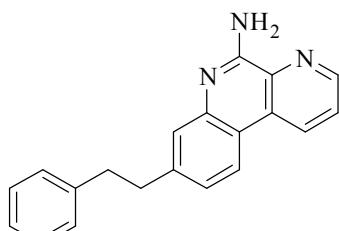
8-(2-ciclopropiletil)benzo[f][1,7]naftiridin-5-amina



- 20 Se preparó 8-(2-ciclopropiletil)benzo[f][1,7]naftiridin-5-amina a partir de 5-aminobenzo[f][1,7]-naftiridina-8-carbaldehído (del Ejemplo 87) con bromuro de (ciclopropilmetil)trifenilfosfonio siguiendo los procedimientos descritos para Ejemplo 91 (reacción de wittig) y Ejemplo 92 (reducción). RMN ¹H (acetona-d₆): δ 8,99(dd, 1H), 8,88 (dd, 1H), 8,35 (d, 1H), 7,83 (dd, 1H), 7,47 (d, 1H), 7,23 (dd, 1H), 6,64 (a s, 2H), 1,60 (q, 2H), 1,34-1,25 (m, 1H), 0,91-0,72 (m, 2H), 0,45-0,41 (m, 2H), 0,11-0,07 (m, 2H). LRMS [M+H] = 264,1.

Ejemplo 106

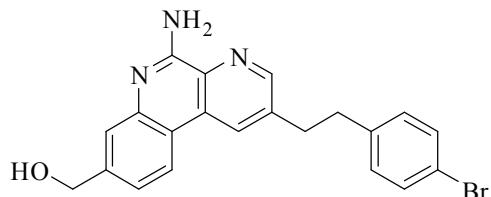
8-fenetilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina



Se preparó 8-fenetilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina a partir de 5-aminobenzo[f][1,7]naftiridina-8-carbaldehído (del Ejemplo 87) con bromuro de benciltrifenilfosfonio siguiendo los procedimientos descritos para Ejemplo 91 (reacción de Wittig) y en el Ejemplo 92 (reducción). RMN ¹H (acetona-d₆): δ 8,99 (dd, 1H), 8,88 (dd, 1H), 8,35 (d, 1H), 7,83 (dd, 1H), 7,49 (d, 1H), 7,29-7,15 (dd, 6H), 6,70 (a s, 2H), 3,10-3,00 (m, 4H). LRMS [M+H] = 300,1.

5 **Ejemplo 107**

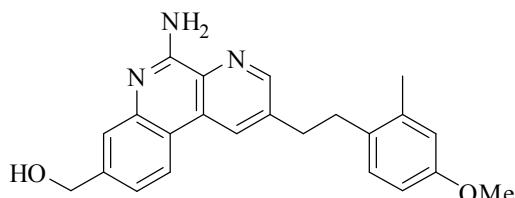
(5-amino-2-(4-bromofenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-8-il)-metanol



10 Se preparó 5-amino-2-(4-bromofenetil)benzo[f]-[1,7]naftiridin-8-il)metanol a partir de (5-amino-2-(4-metoxifenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-8-il)metanol (del Ejemplo 95) siguiendo los procedimientos descritos para Ejemplo 86. RMN ¹H (acetona-d₆): δ 8,81 (d, 1H), 8,72 (d, 1H), 8,40 (d, 1H), 7,68 (d, 1H), 7,39 (dd, 1H), 7,08 (d, 2H), 6,74 (d, 2H), 6,66 (a s, 2H), 4,49 (s, 2H), 3,21 (t, 2H), 3,03 (t, 2H). LRMS [M+H] = 408,1.

Ejemplo 108

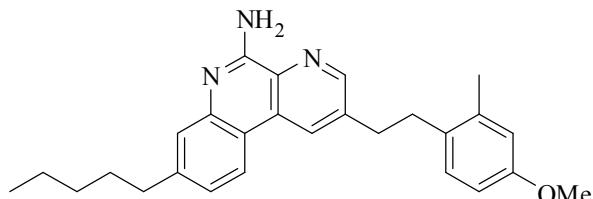
(5-amino-2-(4-metoxi-2-metilfenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-8-il)metanol



15 20 Se preparó (5-amino-2-(4-metoxi-2-metilfenetil)-benzo[f][1,7]naftiridin-8-il)metanol a partir de 5-((terc-butildimetilsiloxi)methyl)-2-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenilcarbamato de *terc*-butilo (Ejemplo 99/paso 1) y 3-cloro-5-((4-metoxi-2-metilfenil)etinil)-picolinonitrilo (del Ejemplo 49/paso 1) siguiendo los procedimientos descritos para Ejemplo 44/paso 4 y desprotección del grupo TBS siguiendo el procedimiento descrito del Ejemplo 99/paso 3. RMN ¹H (acetona-d₆): δ 8,79 (s, 1H), 8,73 (s, 1H), 8,35 (d, 1H), 7,61 (s, 1H), 7,33 (d, 1H), 7,09 (d, 1H), 6,75 (d, 1H), 6,68 (dd, 1H), 6,57 (a s, 2H), 4,47 (d, 2H), 4,32 (t, 1H), 3,58 (s, 3H), 3,17 (t, 2H), 3,04 (t, 2H), 2,30 (s, 3H). LRMS [M+H] = 374,2.

Ejemplo 109

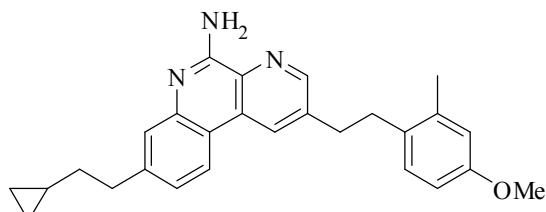
2-(4-metoxi-2-metilfenetil)-8-pentilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina



25 y

Ejemplo 110

8-(2-ciclopropiletil)-2-(4-metoxi-2-metilfenetil)benzo[f]-[1,7]naftiridin-5-amina



Paso 1: 5-bromo-2-clorofenilcarbamato de *terc*-butilo

El compuesto del título se preparó de acuerdo al procedimiento descrito en el Ejemplo 5/paso 1, pero usando 5-bromo-2-cloroanilina (comercialmente disponible) como el material de inicio. El material en bruto se purificó por cromatografía instantánea en un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando EtOAc al 0-40 %/Hexanos para dar 5-bromo-2-clorofenil-carbamato de *terc*-butilo como un sólido de color amarillo pálido.

Paso 2: 2-cloro-5-(2-ciclopropilvinil)fenilcarbamato de (*E*)-*terc*-butilo

Una solución de 5-bromo-2-clorofenilcarbamato de *terc*-butilo (del paso previo) (1,0 equiv.) y (*E*)-2-(2-ciclopropilvinil)-4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolano (comercialmente disponible) (1,0 equiv.) en tolueno (0,2 M) se mezcló con *tetraquis*(trifenil-fosfina)paladio (5 % en mol) y solución acuosa de carbonato de potasio 2 N (2,0 equiv.). La reacción se calentó a 100 °C y se agitó durante la noche. Después del enfriamiento a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se diluyó con EtOAc y agua. Las dos fases se separaron, y la capa acuosa se extrajo dos veces con EtOAc. Las capas orgánicas combinadas se llevaron con salmuera, se secaron sobre MgSO₄ anhidro, y se concentraron al vacío. El producto en bruto se purificó por cromatografía instantánea en un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando EtOAc al 0-5 %/Hexanos para dar 2-cloro-5-(2-ciclopropilvinil)-fenilcarbamato de (*E*)-*terc*-butilo como un sólido de color amarillo pálido.

Paso 3: 5-(2-ciclopropilvinil)-2-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenilcarbamato de (*E*)-*terc*-butilo

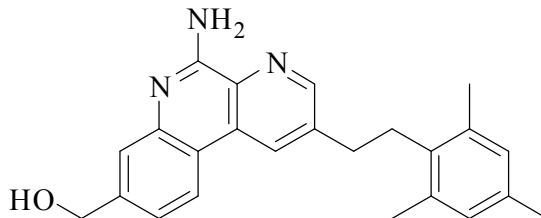
El compuesto del título se preparó de acuerdo al procedimiento descrito en el Ejemplo 93/paso 2, pero usando 2-cloro-5-(2-ciclopropilvinil)fenilcarbamato de (*E*)-*terc*-butilo (del paso previo) como el material de inicio. El producto en bruto se purificó por cromatografía instantánea en un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando EtOAc al 0-10 %/Hexanos para dar 5-(2-ciclopropilvinil)-2-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenilcarbamato de (*E*)-*terc*-butilo como un sólido de color amarillo pálido.

Paso 4: 2-(4-metoxi-2-metilfenetil)-8-pentilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina y 8-(2-ciclopropiletil)-2-(4-metoxi-2-metilfenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-5-amina

Los compuestos del título se prepararon de acuerdo al procedimiento descrito en el Ejemplo 44/paso 4 (acoplamiento de Suzuki) y 5 (reducción), pero usando 5-(2-ciclopropilvinil)-2-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenilcarbamato de (*E*)-*terc*-butilo (del paso previo) y 3-cloro-5-((4-metoxi-2-metilfenil)etinil)picolinonitrilo (del Ejemplo 49 /paso 1) como el material de inicio. El producto en bruto se purificó por cromatografía instantánea en un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando EtOAc al 0-40 %/Hexanos para dar el Ejemplo 109 como un sólido de color blanco: RMN ¹H (acetona-d₆): δ 8,76 (d, 1H), 8,70 (d, 1H), 8,29 (d, 1H), 7,44 (d, 1H), 7,18 (dd, 1H), 7,08 (d, 1H), 6,74 (d, 1H), 6,68 (dd, 1H), 6,59 (a s, 2H), 3,74 (s, 3H), 3,18 (t, 2H), 3,04 (t, 2H), 2,75 (t, 2H), 2,29 (s, 3H), 1,75-1,68 (m, 2H), 1,40-1,35 (m, 4H), 0,90 (s, 3H); LRMS [M+H] = 414,3; y Ejemplo 110 como un sólido blanquecino: RMN ¹H (acetona-d₆): δ 8,76 (d, 1H), 8,70 (d, 1H), 8,28 (d, 1H), 7,45 (d, 1H), 7,19 (dd, 1H), 7,08 (d, 1H), 6,74 (d, 1H), 6,67 (dd, 1H), 6,55 (a s, 2H), 3,73 (s, 3H), 3,16 (t, 2H), 3,03 (t, 2H), 2,29 (s, 3H), 1,60 (q, 2H), 1,29-1,28 (m, 1H), 0,89-0,74 (m, 2H), 0,44-0,41 (m, 2H), 0,10-0,07 (m, 2H). LRMS [M+H] = 412,3.

Ejemplo 111

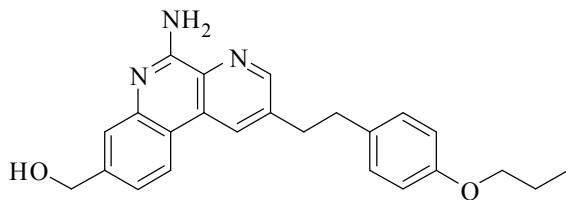
(5-amino-2-(2,4,6-trimetilfenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-8-il)metanol



Se preparó (5-amino-2-(2,4,6-trimetilfenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-8-il)metanol a partir de 5-((*terc*-butildimetsilsiloxi)metyl)-2-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenilcarbamato de *terc*-butilo (del Ejemplo 99/paso 1), 2-etinil-1,3,5-trimetilbenceno (comercialmente disponible) y 3-cloro-5-(mesitiletinil)picolinonitrilo (del Ejemplo 77/paso 1) siguiendo los procedimientos descritos para Ejemplo 44/paso 4, Ejemplo 99/paso 3 (desprotección de TBS) y Ejemplo 77/paso 3 (reducción). RMN ¹H (acetona-d₆): δ 8,77 (s, 2H), 8,34 (d, 1H), 7,61 (s, 1H), 7,33 (d, 1H), 6,84 (s, 2H), 6,60 (a s, 2H), 4,77 (d, 2H), 4,35 (t, 1H), 3,08 (s, 3H), 2,84 (s, 6H), 2,30-2,29 (m, 4H). LRMS [M+H] = 372,2.

Ejemplo 112

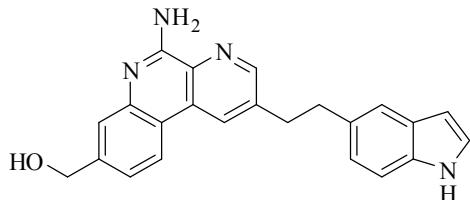
(5-amino-2-(4-propoxifenil)benzo[f][1,7]naftiridin-8-il)-metanol



Se preparó (5-amino-2-(4-propoxifenil)benzo[f]-[1,7]naftiridin-8-il)metanol a partir de 8-((terc-butil-dimetilsiloxi)metil)-3-clorobenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina (del Ejemplo 99/paso 1) y 3-cloro-5-(4-propoxifenil)picolinonitrilo (del Ejemplo 79/paso 2) siguiendo los procedimientos descritos para Ejemplo 44/paso 4 y Ejemplo 99/paso 3 (desprotección de TBS). RMN ¹H (acetona-d₆): δ 8,79 (d, 1H), 8,70 (d, 1H), 8,35 (d, 1H), 7,61 (d, 1H), 7,33 (dd, 1H), 7,17 (d, 2H), 6,83 (d, 2H), 6,57 (a s, 2H), 4,77 (d, 2H), 4,34 (t, 1H), 3,89 (t, 2H), 3,22 (t, 2H), 3,06 (t, 2H), 1,83-1,70 (m, 2H), 1,00 (t, 3H). LRMS [M+H] = 388,2.

Ejemplo 113

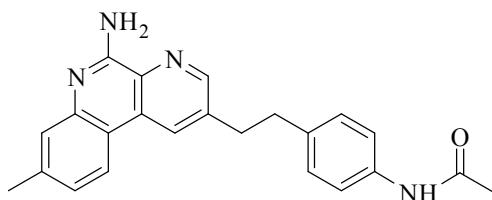
(2-(2-(1H-indol-5-il)etil)-5-aminobenzo[f][1,7]naftiridin-8-il)metanol



Se preparó (2-(2-(1H-indol-5-il)etil)-5-amino-benzo[f][1,7]naftiridin-8-il)metanol a partir de 5-((terc-butildimetilsiloxi)metil)-2-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenilcarbamato de terc-butilo (del Ejemplo 99/paso 1) y 5-((1H-indol-5-il)etinil)-3-cloropicolino-nitrilo (del Ejemplo 44/paso 3) siguiendo los procedimientos descritos para Ejemplo 44/paso 4 y Ejemplo 99/paso 3 (desprotección de TBS). RMN ¹H (acetona-d₆): δ 10,19 (t, 1H), 8,83 (d, 1H), 8,71 (d, 1H), 8,35 (d, 1H), 7,60 (d, 1H), 7,46 (d, 1H), 7,36-7,27 (m, 3H), 7,04 (dd, 1H), 6,57 (a s, 2H), 6,38 (dt, 1H), 4,77 (d, 2H), 4,36 (t, 1H), 3,29 (t, 2H), 3,19 (t, 2H). LRMS [M+H] = 369,2.

Ejemplo 114

20 N-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-fenil)acetamida

Paso 1: N-(4-etinilfenil)acetamida

A una solución de 4-etinilanilina (comercialmente disponible) (1,0 equiv.) y trietilamina (1,0 equiv.) en cloruro de metileno (0,04 M), se le añadió lentamente cloruro de acetilo (1,5 equiv.). Entonces, la mezcla de reacción se agitó a 0 °C durante 1 hora. Después de calentar a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se diluyó con acetato de etilo y agua. Las dos fases se separaron, y la capa acuosa se extrajo dos veces con acetato de etilo. Las capas orgánicas combinadas se llevaron con salmuera, se secaron sobre MgSO₄ anhidro, y se concentraron al vacío. El material en bruto se purificó por cromatografía instantánea en un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando acetato de etilo al 0-80 % en hexano para dar N-(4-etinilfenil)acetamida como un sólido de color blanco.

Paso 2: N-(4-((5-cloro-6-cianopiridin-3-il)etinil)fenil)-acetamida

Una solución de 3,5-dicloropicolinonitrilo (1,0 equiv.), N-(4-etinilfenil)acetamida (del paso previo) (1,0 equiv.), cloruro de bis(trifenil-fosfina)paladio (10 % en mol), yoduro de cobre (10 % en mol), y trietilamina (5,0 equiv.) en DMF (0,04 M) se calentó a 60 °C durante 4 horas. Después del enfriamiento a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se diluyó con acetato de etilo y agua. Las dos fases se separaron. La capa orgánica se lavó dos veces con agua, se secó sobre MgSO₄ anhidro, y se concentró al vacío. El material en bruto se purificó por cromatografía instantánea en un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando acetato de etilo al 0-80 % en hexano para dar N-(4-((5-

cloro-6-cianopiridin-3-il)etinil)fenil)acetamida como un sólido de color blanco.

Paso 3: N-(4-(2-(5-cloro-6-cianopiridin-3-il)etinil)fenil)-acetamida

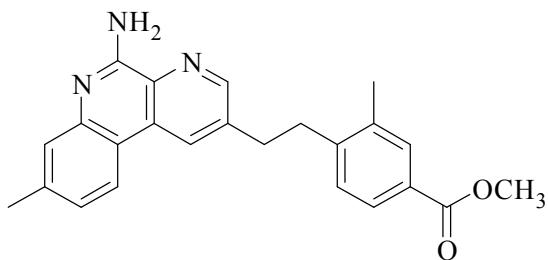
A una solución de N-(4-((5-cloro-6-cianopiridin-3-il)etinil)fenil)acetamida (del paso previo) en acetato de etilo/metanol (1:4, 0,05 M) se le añadió paladio al 10 % en peso en carbono (0,2 equiv.). Se introdujo gas hidrógeno mediante un globo, y la reacción agitó durante 3 horas. La mezcla se filtró a través de una lecho de celite, lavando con diclorometano. El filtrado se concentró al vacío y se purificó por un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando acetato de etilo al 0-80 % es hexano para dar N-(4-(2-(5-cloro-6-cianopiridin-3-il)etinil)fenil)acetamida.

Paso 4: N-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etinil)fenil)acetamida

Una solución de N-(4-(2-(5-cloro-6-cianopiridin-3-il)etinil)fenil)acetamida (del paso previo) (1,0 equiv.), 4-metil-2-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenil-carbamato de *terc*-butilo (del Ejemplo 5/paso 2) (1,5 equiv.), tris(dibencilidenacetona)dipaladio (0) (10 % en mol), diciclohexil(2',6'-dimetoxibifenil-2-il)fosfina (20 % en mol) y fosfato de potasio (2,0 equiv.) en n-butanol/H₂O (2,5:1, 0,04 M) se agitó a 100 °C durante la noche. Después del enfriamiento a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se diluyó con acetato de etilo y agua. Las dos fases se separaron, y la capa acuosa se extrajo dos veces con acetato de etilo. Las capas orgánicas combinadas se llevaron con salmuera, se secaron sobre MgSO₄ anhidro, y se concentraron al vacío. El material en bruto se purificó por cromatografía instantánea en un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando acetato de etilo al 0-80 % es hexano para dar N-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etinil)fenil)acetamida como un sólido de color blanco. RMN ¹H (CDCl₃): δ 8,51 (s, 1H), 8,32 (s, 1H), 8,01 (d, 1H), 7,44 (s, 1H), 7,33-7,36 (m, 2H), 7,03-7,19 (m, 3H), 5,98 (a, 2H), 3,07-3,11 (m, 2H), 2,94-2,98 (m, 2H), 2,44 (s, 3H), 2,10 (s, 3H). LRMS [M+H] = 371,2.

20 Ejemplo 115

4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etinil)-3-metilbenzoato de metilo



Paso 1: 3-metil-4-((triethylsilyl)etinil)benzoato de metilo

Una solución de 4-bromo-3-metilbenzoato de metilo (1,0 equiv.), triethyl(etinil)silano (1,0 equiv.), cloruro de bis(trifenil-fosfina)paladio (10 % en mol), yoduro de cobre (10 % en mol), y trietilamina (5,0 equiv.) en DMF (0,04 M) se agitó a 60 °C durante 4 horas. Después del enfriamiento a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se diluyó con acetato de etilo y agua. Las dos fases se separaron. La capa orgánica se lavó dos veces con agua, se secó sobre MgSO₄ anhidro, y se concentró al vacío. El material en bruto se purificó por cromatografía instantánea en un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando acetato de etilo al 0-50 % en hexano para dar 3-metil-4-((triethylsilyl)etinil)benzoato de metilo como un sólido de color blanco.

Paso 2: 4-etinil-3-metilbenzoato de metilo

A una solución de 3-metil-4-((triethylsilyl)etinil)benzoato de metilo (del paso previo) (1,0 equiv.) en THF (0,2 M), se le añadió TBAF (0,2 equiv.) lentamente a 0 °C. Entonces la mezcla de reacción se agitó a 0 °C durante 1 hora. Después de calentar a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se diluyó con acetato de etilo y agua. Las dos fases se separaron, y la capa acuosa se extrajo dos veces con acetato de etilo. Las capas orgánicas combinadas se llevaron con salmuera, se secaron sobre MgSO₄ anhidro, y se concentraron al vacío. El material en bruto se purificó por cromatografía instantánea en un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando acetato de etilo al 0-80 % es hexano para dar 4-etinil-3-metilbenzoato de metilo como un sólido de color blanco.

Paso 3: 4-((5-cloro-6-cianopiridin-3-il)etinil)-3-metil-benzoato de metilo

Una solución de 3,5-dicloropicolinonitrilo (1,0 equiv.), 4-etinil-3-metilbenzoato de metilo (del paso previo) (1,0 equiv.), cloruro de bis(trifenil-fosfina)paladio (10 % en mol), yoduro de cobre (10 % en mol), y trietilamina (5,0 equiv.) en DMF (0,04 M) se agitó a 60 °C durante 4 horas. Después del enfriamiento a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se diluyó con acetato de etilo y agua. Las dos fases se separaron. La capa orgánica se lavó dos veces con agua, se secó sobre MgSO₄ anhidro, y se concentró al vacío. El material en bruto se purificó por cromatografía instantánea en un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando acetato de etilo al 0-80 % es hexano para dar 4-((5-cloro-6-cianopiridin-3-il)etinil)-3-metilbenzoato de metilo como un sólido de color blanco.

Paso 4: metil 4-((5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)-etinil)-3-metilbenzoato de metilo

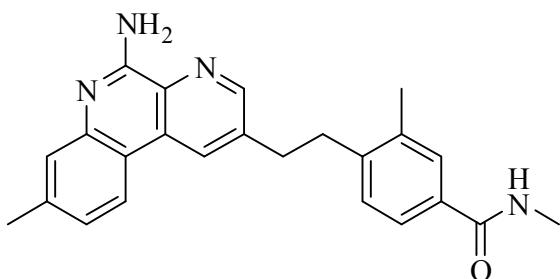
Una solución de 4-((5-cloro-6-cianopiridin-3-il)etinil)-3-metilbenzoato de metilo (del paso previo) (1,0 equiv.), 4-metil-2-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenilcarbamato de *terc*-butilo (del Ejemplo 5/paso 2) (1,5 equiv.), tris(dibencildenacetona)dipaladio(0) (10 % en mol), diciclohexil(2',6'-dimetoxibifenil-2-il)fosfina (20 % en mol), y fosfato de potasio (2,0 equiv.) en n-butanol/H₂O (2,5:1, 0,04 M) se agitó a 100 °C durante la noche. Después del enfriamiento a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se diluyó con acetato de etilo y agua. Las dos fases se separaron, y la capa acuosa se extrajo dos veces con acetato de etilo. Las capas orgánicas combinadas se llevaron con salmuera, se secaron sobre MgSO₄ anhidro, y se concentraron al vacío. El material en bruto se purificó por cromatografía instantánea en un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando acetato de etilo al 0-80 % es hexano para dar metil-4-((5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)-etinil)-3-metilbenzoato de metilo como un sólido de color blanco.

Paso 5: metil 4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilbenzoato de metilo

A una solución de metil 4-((5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etinil)-3-metilbenzoato de metilo (del paso previo) en acetato de etilo/metanol (1:4, 0,05 M) se añadió paladio al 10 % en peso en carbono (0,2 equiv.). Mediante un globo se introdujo gas hidrógeno, y la reacción se agitó durante 3 horas. La mezcla se filtró a través de un lecho de celite, lavando con diclorometano. El filtrado se concentró al vacío y se purificó por un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando acetato de etilo al 0-80 % es hexano para dar 4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilbenzoato de metilo. RMN ¹H (CDCl₃): δ 8,61 (s, 1H), 8,40 (s, 1H), 8,09 (d, 1H), 7,83 (s, 1H), 7,81 (d, 1H), 7,54 (s, 1H), 7,18-7,20 (m, 2H), 6,17 (a, 2H), 3,92 (s, 3H), 3,10-3,16 (m, 4H), 2,53 (s, 3H), 2,36 (s, 3H). LRMS [M+H] = 386,2.

Ejemplo 116

4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-N,3-dimetilbenzamida

Paso 1: ácido 4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilbenzoico

Una solución de 4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f]-[1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilbenzoato de metilo (del Ejemplo 115) (1,0 equiv.) e hidróxido de sodio 1 N (1,5 equiv.) en metanol (0,04 M) se agitó a 60 °C durante 4 horas. Después del enfriamiento a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se diluyó con acetato de etilo y agua. Las dos fases se separaron. La capa orgánica se lavó dos veces con agua, se secó sobre MgSO₄ anhidro, y se concentró al vacío. El material en bruto se purificó por cromatografía instantánea en un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando acetato de etilo al 0-50 % en hexano para dar ácido 4-(2-(5-amino-8-metilbenzo-[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilbenzoico como un sólido de color blanco.

Paso 2: cloruro de 4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]-naftiridin-2-il)etil)-3-metilbenzoilo

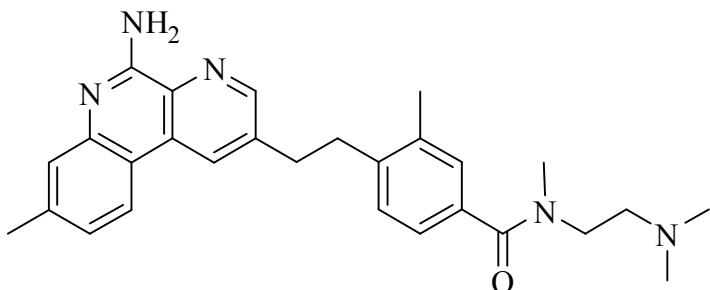
Una solución de ácido 4-(2-(5-amino-8-metilbenzo-[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilbenzoico (del paso previo) en cloruro de tionilo se agitó a 60 °C durante 3 horas. Después del enfriamiento a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se concentró al vacío. El material en bruto se uso para el siguiente paso sin purificación.

Paso 3: 4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-N,3-dimetilbenzamida

A una solución de cloruro de 4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilbenzoilo (del paso previo) (Ejemplo 5) y trietilamina (2,5 equiv.) en éter (0,05 M) se le añadió metanamina (5,0 equiv.). La mezcla de reacción se agitó durante la noche. Entonces la mezcla de reacción se diluyó con acetato de etilo y agua. Las dos fases se separaron, y la capa acuosa se extrajo dos veces con acetato de etilo. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO₄ anhidro, y se concentraron al vacío. El material en bruto se purificó por cromatografía instantánea en un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando acetato de etilo al 0-80 % es hexano para dar 4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-N,3-dimetil-benzamida como un sólido de color blanco. RMN ¹H (CDCl₃): δ 8,62 (s, 1H), 8,32 (s, 1H), 8,04 (d, 1H), 7,60 (s, 1H), 7,46-7,52 (m, 2H), 7,09-7,11 (m, 2H), 6,05 (a, 2H), 3,09-3,17 (m, 4H), 3,00 (d, 3H), 2,52 (s, 3H), 2,33 (s, 3H). LRMS [M+H] = 385,2.

Ejemplo 117

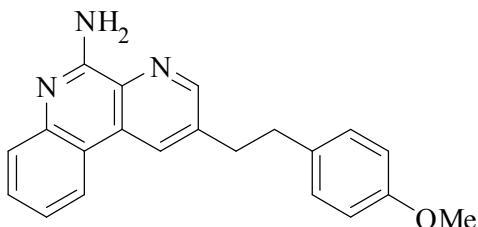
4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-N-(2-(dimetilamino)etil)-N,3-dimetilbenzamida



5 A una solución de cloruro de 4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilbenzoilo (Ejemplo 116/paso 2) y trietilamina (2,5 equiv.) en éter (0,05 M) se le añadió N¹,N¹,N²-trimetiletano-1,2-diamina (5,0 equiv.). La mezcla de reacción se agitó durante la noche. Entonces la mezcla de reacción se diluyó con acetato de etilo y agua. Las dos fases se separaron, y la capa acuosa se extrajo dos veces con acetato de etilo. Las capas orgánicas combinadas se llevaron con salmuera, se secaron sobre MgSO₄ anhidro, y se concentraron al vacío. El material en bruto se purificó por cromatografía instantánea en un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando acetato de etilo al 0-80 % en hexano para dar 4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-N-(2-(dimetilamino)etil)-N,3-dimetilbenzamida como un sólido de color blanco. RMN ¹H (CDCl₃): δ 8,66 (s, 1H), 8,37 (s, 1H), 8,07 (d, 1H), 7,63 (s, 1H), 7,09-7,30 (m, 4H), 3,90 (a, 2H), 3,01-3,19 (m, 4H), 3,08 (s, 6H), 2,72 (a, 5H), 2,52 (s, 3H), 2,33 (s, 3H). LRMS [M+H]⁺ = 456,3.

Ejemplo 118

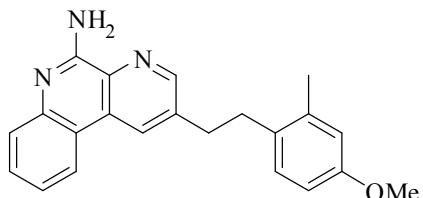
2-(4-metoxifenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-5-amina



15 Se preparó 2-(4-metoxifenetil)benzo[f][1,7]-naftiridin-5-amina a partir de 1-etinil-4-metoxibenceno (Ejemplo 116/paso 2) siguiendo los procedimientos descritos para Ejemplo 45/pasos 1 a 3. RMN ¹H (CDCl₃): δ 8,69 (s, 1H), 8,47 (s, 1H), 8,27 (d, 1H), 7,80 (d, 2H), 7,58-7,66 (m, 1H), 7,33-7,42 (m, 1H), 7,15 (d, 2H), 6,90 (d, 2H), 6,25 (a, 2H), 3,86 (s, 3H), 3,13-3,23 (m, 2H), 2,97-3,10 (m, 2H). LRMS [M+H]⁺ = 330,2.

Ejemplo 119

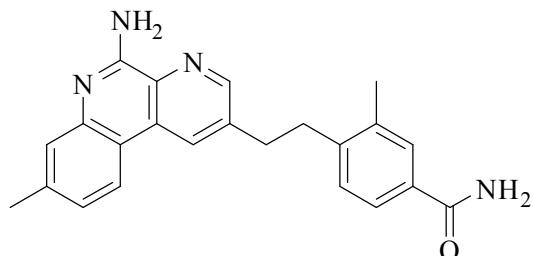
2-(4-metoxi-2-metilfenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-5-amina



25 Se preparó 2-(4-metoxi-2-metilfenetil)benzo[f]-[1,7]naftiridin-5-amina a partir de 1-etinil-4-metoxi-2-metilbenceno (comercialmente disponible) siguiendo los procedimientos descritos para Ejemplo 45/paso 1 a 3. RMN ¹H (CDCl₃): δ 8,60 (s, 1H), 8,37 (s, 1H), 8,18 (d, 1H), 7,69 (d, 1H), 7,49-7,57 (m, 1H), 7,24-7,34 (m, 1H), 6,98 (d, 1H), 6,56-6,70 (m, 2H), 6,00 (a, 2H), 3,70 (s, 3H), 3,00-3,09 (m, 2H), 2,83-2,96 (m, 2H), 2,20 (s, 3H). LRMS [M+H]⁺ = 344,2.

Ejemplo 120

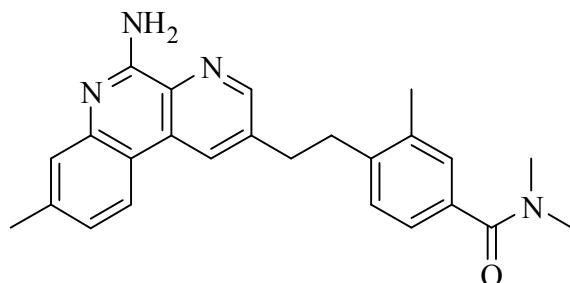
4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)ethyl)-3-metilbenzamida



- 5 Se preparó 4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]-naftiridin-2-il)ethyl)-3-metilbenzamida a partir de cloruro de 4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)ethyl)-3-metilbenzoilo (Ejemplo 116/paso 2) y amoníaco siguiendo los procedimientos descritos para Ejemplo 117. RMN ^1H (CDCl_3): δ 8,60 (s, 1H), 8,35 (s, 1H), 8,05 (d, 1H), 7,65 (s, 1H), 7,51-7,53 (m, 2H), 7,13-7,21 (m, 2H), 3,09-3,16 (m, 4H), 2,51 (s, 3H), 2,34 (s, 3H). LRMS $[\text{M}+\text{H}] = 371,2$

Ejemplo 121

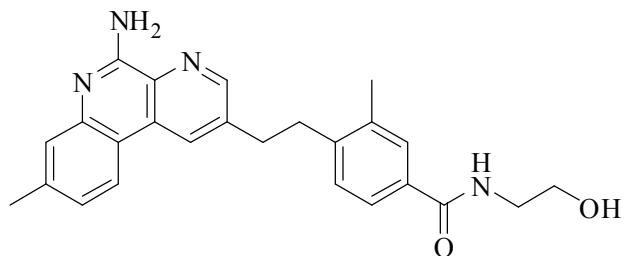
4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)ethyl)-N,N,3-trimetilbenzamida



- 10 Se preparó 4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]-naftiridin-2-il)ethyl)-N,N,3-trimetilbenzamida a partir de cloruro de 4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)ethyl)-3-metilbenzoilo (Ejemplo 116/paso 2) y dimetilamina siguiendo los procedimientos descritos para Ejemplo 117. RMN ^1H (CDCl_3): δ 8,68 (s, 1H), 8,32 (s, 1H), 8,04 (d, 1H), 7,66 (s, 1H), 7,31 (d, 1H), 7,06-7,18 (m, 3H), 3,08-3,19 (m, 4H), 2,96 (d, 3H), 2,54 (s, 3H), 2,33 (s, 3H), 2,05 (s, 3H). LRMS $[\text{M}+\text{H}] = 399,2$

Ejemplo 122

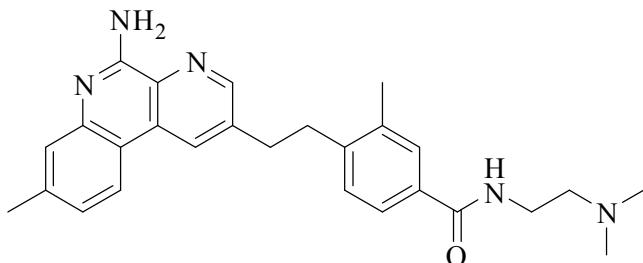
4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)ethyl)-N-(2-hidroxietil)-3-metilbenzamida



- 20 Se preparó 4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]-naftiridin-2-il)ethyl)-N-(2-hidroxietil)-3-metilbenzamida a partir de cloruro de 4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)ethyl)-3-metilbenzoilo (Ejemplo 116/paso 2) y 2-aminoethanol siguiendo los procedimientos descritos para Ejemplo 117. RMN ^1H (CDCl_3): δ 8,59 (s, 1H), 8,34 (s, 1H), 8,04 (d, 1H), 7,50-7,62 (m, 3H), 7,08-7,25 (m, 2H), 3,80 (t, 2H), 3,63 (t, 2H), 3,07-3,16 (m, 4H), 2,51 (s, 3H), 2,32 (s, 3H). LRMS $[\text{M}+\text{H}] = 415,2$

Ejemplo 123

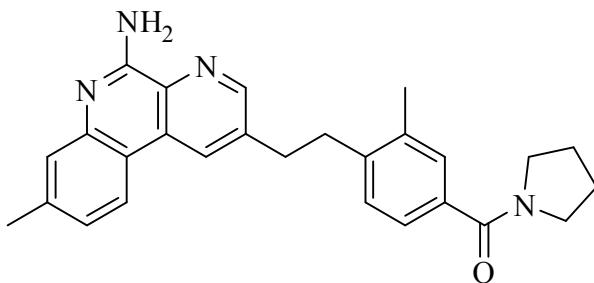
4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-N-(2-(dimetilamino)etil)-3-metilbenzamida



- 5 Se preparó 4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-N-(2-(dimetilamino)etil)-3-metilbenzamida a partir de cloruro de 4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilbenzoilo (Ejemplo 116/paso 2) y N¹,N¹-dimetiletano-1,2-diamina siguiendo los procedimientos descritos para Ejemplo 117. RMN ¹H (metanol-d₄): δ 8,60 (s, 1H), 8,39 (s, 1H), 8,08 (d, 1H), 7,68 (s, 1H), 7,57-7,59 (m, 2H), 7,19-7,22 (m, 2H), 3,57-3,61 (m, 2H), 3,07-3,16 (m, 4H), 2,64-2,67 (m, 2H), 2,52 (s, 3H), 2,38 (s, 6H), 2,35 (s, 3H). LRMS [M+H] = 442,3

Ejemplo 124

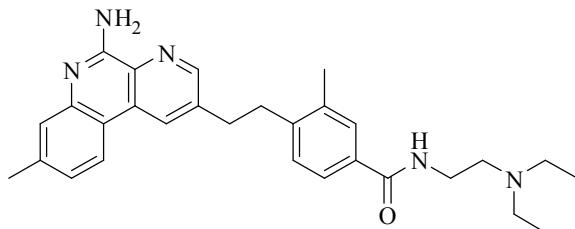
10 (4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenil)(pirrolidin-1-il)metanona



- 15 Se preparó (4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenil)(pirrolidin-1-il)meta-nona a partir de cloruro de 4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilbenzoilo (Ejemplo 116/paso 2) y pirrolidina siguiendo los procedimientos descritos para Ejemplo 117. RMN ¹H (metanol-d₄): δ 8,60 (s, 1H), 8,42 (s, 1H), 8,09 (d, 1H), 7,34 (s, 1H), 7,23 (s, 1H), 7,05-7,15 (m, 3H), 3,49 (t, 2H), 3,27 (t, 2H), 3,05-3,17 (m, 4H), 2,42 (s, 3H), 2,26 (s, 3H), 1,88-1,91 (m, 2H), 1,73-1,77 (m, 2H). LRMS [M+H] = 425,2

Ejemplo 125

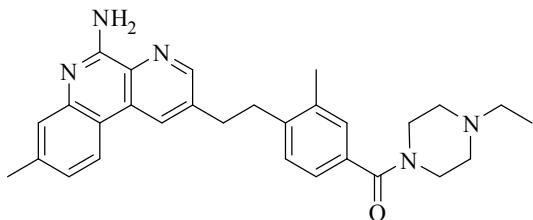
4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-N-(2-(dietilamino)etil)-3-metilbenzamida



- 20 Se preparó 4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-N-(2-(dietilamino)etil)-3-metilbenzamida a partir de cloruro de 4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilbenzoilo (Ejemplo 116/ paso 2) y N¹,N¹-dietiletano-1,2-diamina siguiendo los procedimientos descritos para Ejemplo 117. RMN ¹H (metanol-d₄): δ 8,55 (s, 1H), 8,48 (s, 1H), 8,10 (d, 1H), 7,56 (s, 1H), 7,47-7,50 (m, 1H), 7,33 (s, 1H), 7,10-7,14 (m, 2H), 3,44 (t, 2H), 3,25 (t, 2H), 3,08-3,14 (m, 4H), 2,62-2,72 (m, 4H), 2,42 (s, 3H), 2,27 (s, 3H), 1,05 (t, 6H). LRMS [M+H] = 470,3

Ejemplo 126

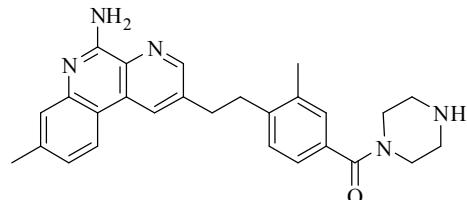
(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)ethyl)-3-metilfenil)(4-etilpiperazin-1-il)metanona



- 5 Se preparó (4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]-naftiridin-2-il)ethyl)-3-metilfenil)(4-etilpiperazin-1-il)-metanona a partir de cloruro de 4-(2-(5-amino-8-metilbenzo-[f][1,7]naftiridin-2-il)ethyl)-3-metilbenzoilo (Ejemplo 116/ paso 2) y 1-etilpiperazina siguiendo los procedimientos descritos para Ejemplo 117. RMN ¹H (metanol-d₄): δ 8,59 (s, 1H), 8,37 (s, 1H), 8,06 (d, 1H), 7,32 (s, 1H), 7,00-7,12 (m, 4H), 3,67 (a, 2H), 3,06-3,13 (m, 4H), 2,45 (a, 4H), 2,37 (q, 2H), 2,41 (s, 3H), 2,26 (s, 3H), 2,19 (a, 2H), 1,04 (t, 3H). LRMS [M+H] = 468,3

Ejemplo 127

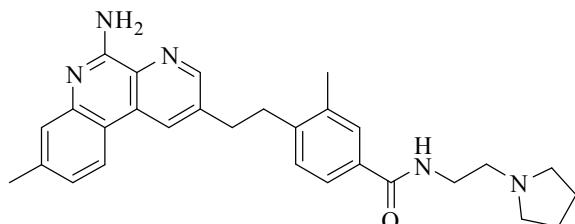
10 (4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)ethyl)-3-metilfenil)(piperazin-1-il)metanona



- 15 Se preparó (4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]-naftiridin-2-il)ethyl)-3-metilfenil)(piperazin-1-il)metanona a partir de cloruro de 4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)ethyl)-3-metilbenzoilo (Ejemplo 116/paso 2) y piperazina siguiendo los procedimientos descritos para Ejemplo 117. RMN ¹H (metanol-d₄): 8,66 (s, 1H), 8,55 (s, 1H), 8,19 (d, 1H), 7,38 (s, 1H), 7,21-7,23 (m, 2H), 7,10-7,15 (m, 2H), 3,66 (a, 6H), 3,08-3,18 (m, 6H), 2,45 (s, 3H), 2,30 (s, 3H). LRMS [M+H] = 440,2

Ejemplo 128

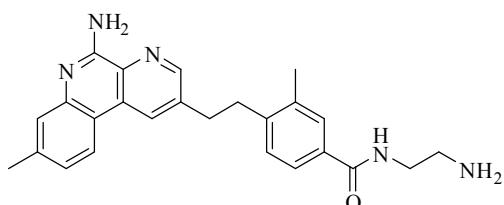
4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)ethyl)-3-metil-N-(2-(pirrolidin-1-il)ethyl)benzamida



- 20 Se preparó 4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]-naftiridin-2-il)ethyl)-3-metil-N-(2-(pirrolidin-1-il)ethyl)-benzamida a partir de cloruro de 4-(2-(5-amino-8-metilbenzo-[f][1,7]naftiridin-2-il)ethyl)-3-metilbenzoilo (Ejemplo 116/ paso 2) y 2-(pirrolidin-1-il)etanamina siguiendo los procedimientos descritos para Ejemplo 117. RMN ¹H (CDCl₃): δ 8,58 (s, 1H), 8,38 (s, 1H), 8,07 (d, 1H), 7,64 (s, 1H), 7,51-7,55 (m, 2H), 7,12-7,20 (m, 2H), 6,26 (a, 2H), 3,61 (dd, 2H), 3,05-3,12 (m, 4H), 2,81 (t, 2H), 2,69 (a, 4H), 2,50 (s, 3H), 2,33 (s, 3H), 1,83-1,85 (m, 4H). LRMS [M+H] = 468,3

Ejemplo 129

4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)ethyl)-N-(2-aminoethyl)-3-metilbenzamida

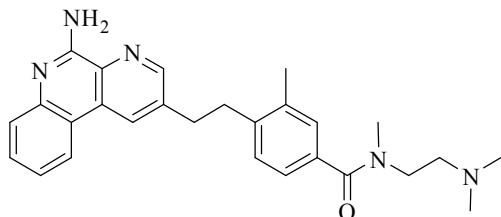


Se preparó 4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]-naftiridin-2-il)etil)-N-(2-aminoetil)-3-metilbenzamida a partir de cloruro de 4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]-naftiridin-2-il)etil)-3-metilbenzoilo (Ejemplo 116/paso 2) y etano-1,2-diamina siguiendo los procedimientos descritos para Ejemplo 117. RMN ¹H (CDCl₃): δ 8,59 (s, 1H), 8,37 (s, 1H), 8,07 (d, 1H), 7,63 (s, 1H), 7,51 (a, 2H), 7,12-7,21 (m, 2H), 6,25 (a, 2H), 3,48-3,52 (m, 2H), 3,08-3,15 (m, 4H), 2,94 (t, 2H), 2,51 (s, 3H), 2,34 (s, 3H). LRMS [M+H] = 414,2

5

Ejemplo 130

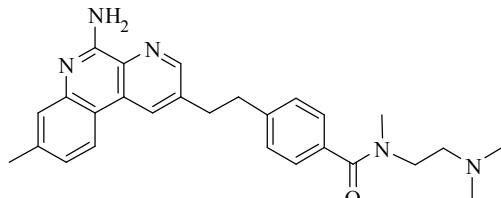
4-(2-(5-aminobenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-N-(2-(dimetilamino)etil)-N,3-dimetilbenzamida



10 Se preparó 4-(2-(5-Aminobenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-N-(2-(dimetilamino)etil)-N,3-dimetilbenzamida a partir de cloruro de 4-(2-(5-aminobenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilbenzoilo (Ejemplo 116 / Paso 2) y N¹,N¹,N²-trimetiletano-1,2-diamina siguiendo los procedimientos descritos para el Ejemplo 117. RMN ¹H (metanol-d₄): δ 8,84 (s, 1H), 8,63 (s, 1H), 8,39 (d, 1H), 7,76-7,83 (m, 2H), 7,60-7,64 (m, 1H), 7,37 (s, 1H), 7,19-7,29 (m, 2H), 3,96 (t, 2H), 3,48 (t, 2H), 3,32 (t, 2H), 3,20 (t, 2H), 3,09 (s, 3H), 3,06 (s, 6H), 2,42 (s, 3H). LRMS [M+H] = 442,3

Ejemplo 131

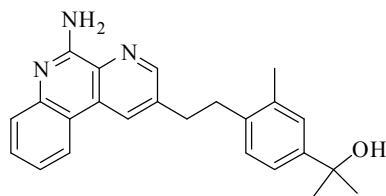
15 4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-N-(2-(dimetilamino)etil)-N-metilbenzamida



20 Se preparó 4-(2-(5-Amino-8-metilbenzo[f][1,7]-naftiridin-2-il)etil)-N-(2-(dimetilamino)-etil)-N-metilbenzamida a partir de cloruro de 4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]-naftiridin-2-il)etil)-3-metilbenzoilo (Ejemplo 116 / Paso 2) y N¹,N¹,N²-trimetiletano-1,2-diamina siguiendo los procedimientos descritos para el Ejemplo 117. RMN ¹H (CDCl₃): δ 8,64 (s, 1H), 8,36 (s, 1H), 8,05 (d, 1H), 7,60 (s, 1H), 7,41 (d, 2H), 7,31 (d, 1H), 7,21 (d, 2H), 3,91 (t, 2H), 3,44 (t, 2H), 3,25 (t, 2H), 3,12 (t, 2H), 3,03 (s, 3H), 3,01 (s, 6H), 2,53 (s, 3H). LRMS [M+H] = 442,3

Ejemplo 132

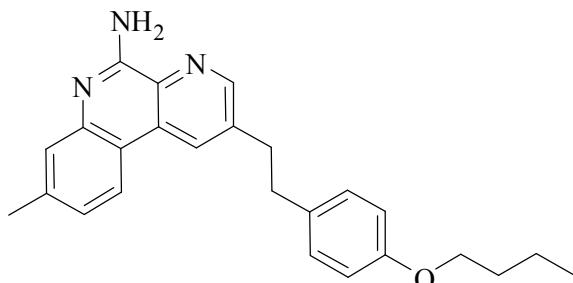
2-(4-(2-(5-aminobenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenil)propan-2-ol



25 Se preparó 2-(4-(2-(5-Aminobenzo[f][1,7]-naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenil)propan-2-ol siguiendo los procedimientos descritos para el Ejemplo 78, pero usando 4-(2-(5-aminobenzo[f][1,7]-naftiridin-2-il)etil)-3-metilbenzoato de metilo que se preparó de forma análoga al Ejemplo 115 pero usando 2-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenilcarbamato de *terc*-butilo en Paso 4. LRMS [M+H] = 372,2

Ejemplo 133

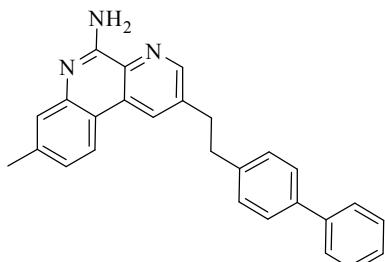
2-(4-butoxifenetil)-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina



- 5 Se preparó 2-(4-Butoxifenetil)-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina siguiendo los procedimientos descritos para el Ejemplo 45 / Pasos 1 a 3, pero usando 1-butoxi-4-etinilbenceno (comercialmente disponible) con 3,5-dicloropicolinonitrilo (comercialmente disponible) en paso 1. RMN ¹H (Acetona-d₆): δ 8,75 (s, 1H), 8,68 (s, 1H), 8,28 (d, 1H), 7,42 (s, 1H), 7,10-7,18 (m, 3H), 6,84 (d, 2H), 6,58 (a, 2H), 3,94 (t, 2H), 3,21 (t, 2H), 3,05 (t, 2H), 2,46 (s, 3H), 1,65-1,75 (m, 2H), 1,41-1,58 (m, 2H), 0,94 (s, 3H). LRMS [M+H] = 386,2.

Ejemplo 134

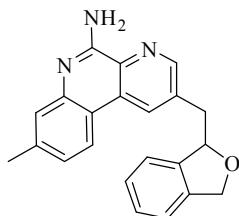
10 2-(2-(bifenil-4-il)ethyl)-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina



- 15 Se preparó 2-(2-(Bifenil-4-il)ethyl)-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina siguiendo los procedimientos descritos para el Ejemplo 45 / Pasos 1 a 3, pero usando 4-etinilbifenilo (comercialmente disponible) con 3,5-dicloropicolinonitrilo (comercialmente disponible) en Paso 1. RMN ¹H (Acetona-d₆): δ 8,80 (s, 1H), 8,75 (s, 1H), 8,26 (d, 2H), 7,55-7,69 (m, 4H), 7,30-7,46 (m, 4H), 7,13 (d, 2H), 6,58 (a, 2H), 3,30 (t, 2H), 3,18 (t, 2H), 2,45 (s, 3H). LRMS [M+H] = 390,2

Ejemplo 135

2-((1,3-dihidroisobenzofuran-1-il)methyl)-8-metilbenzo-[f][1,7]naftiridin-5-amina

Paso 1: 2-((5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etinil)fenil)metanol

- 20 Se preparó 2-((5-Amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etinil)fenil)metanol siguiendo los procedimientos descritos para el Ejemplo 45 / Pasos 1 a 2, pero usando (2-etinilfenil)metanol (comercialmente disponible) con 3,5-dicloropicolinonitrilo (comercialmente disponible) en Paso 1.

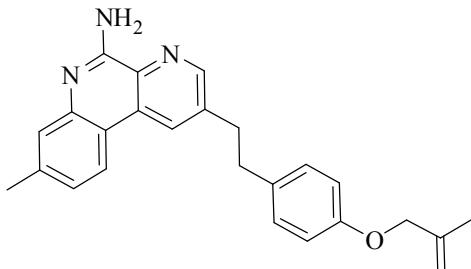
Paso 2: 2-((1,3-dihidroisobenzofuran-1-il)methyl)-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina

- 25 A una solución de 2-((5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etinil)fenil)metanol (1,0 equiv.) (del paso previo) en etanol (0,05 M) se le añadió paladio al 10 % en peso en carbono (0,2 equiv. por peso). Entonces se introdujo gas hidrógeno mediante un globo, y la reacción se dejó agitar durante 18 horas. En este punto, la mezcla se filtró a través de una almohadilla de celite, lavando con metanol. Los volátiles se retiraron al vacío y el residuo resultante se purificó por un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando acetato de etilo al 0-60 % en hexanos para dar 2-((1,3-dihidroisobenzofuran-1-il)methyl)-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina como un sólido. RMN ¹H (Acetona-d₆): δ 8,78

(s, 1H), 8,74 (s, 1H), 8,24 (d, 2H), 7,40-7,44 (m, 2H), 7,20-7,34 (m, 3H), 6,61 (a, 2H), 5,63-5,69 (m, 1H), 4,89-5,00 (dd, 2H), 3,51-3,56 (dd, 1H), 3,28-3,34 (dd, 1H), 2,46 (s, 3H). LRMS [M+H] = 342,1

Ejemplo 136

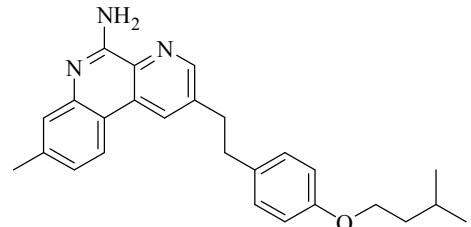
8-metil-2-(4-(2-metilaliloxi)fenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-5-amina



A una solución de 4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)fenol (de Ejemplo 170) (1,0 equiv.) en dimetilformamida (0,10 M) se le añadió carbonato de potasio anhídrico (1,5 equiv.) seguido por bromuro de metalilo (1,2 equiv.). La mezcla resultante se dejó agitar durante 18 horas a 100 °C. Después del enfriamiento a temperatura ambiente, la mezcla se diluyó con acetato de etilo y agua. Las capas bifásicas se separaron y la capa acuosa se lavó dos veces con acetato de etilo. Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na₂SO₄ anhídrico y los volátiles se retiraron al vacío. El residuo resultante se purificó por un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando acetato de etilo al 0-60 % en hexanos para proporcionar 8-metil-2-(4-(2-metilaliloxi)fenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-5-amina como un sólido. RMN¹H (Acetona-d₆): δ 8,75 (s, 1H), 8,68 (s, 1H), 8,27 (d, 1H), 7,41 (s, 1H), 7,12-7,19 (m, 3H), 6,87 (d, 2H), 6,60 (a, 2H), 5,06 (s, 1H), 4,93 (s, 1H), 4,43 (s, 2H), 3,20 (t, 2H), 3,05 (t, 2H), 2,45 (s, 3H), 1,79 (s, 3H). LRMS [M+H] = 384,2

Ejemplo 137

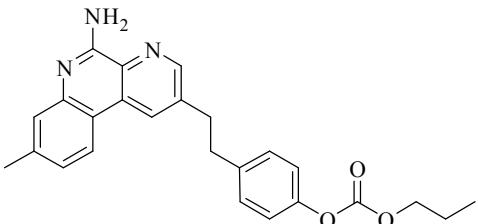
2-(4-(isopentiloxi)fenetil)-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina



Se preparó 2-(4-(isopentiloxi)fenetil)-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina a partir de 4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)fenol (de Ejemplo 170) siguiendo el procedimiento descrito para el Ejemplo 136, pero usando 1-bromo-3-metilbutano. RMN¹H (Acetona-d₆): δ 8,72 (s, 1H), 8,69 (s, 1H), 8,26 (d, 1H), 7,43 (s, 1H), 7,12-7,18 (m, 3H), 6,84 (d, 2H), 6,50 (a, 2H), 3,98 (t, 2H), 3,21 (t, 2H), 3,06 (t, 2H), 2,46 (s, 3H), 1,78-1,87 (m, 1H), 1,61-1,67 (dd, 2H), 0,96 (s, 3H), 0,95 (3H). LRMS [M+H] = 400,2

Ejemplo 138

25 Carbonato de 4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)fenil-propilo

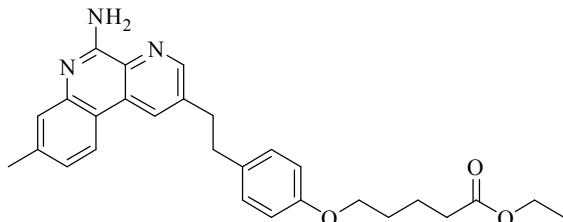


A una solución de 4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)fenol (de Ejemplo 170) (1,0 equiv.) y trietilamina (2 equiv.) en diclorometano (0,10 M) a 0 °C se le añadió cloroformiato de etilo (1,2 equiv.). La mezcla resultante se dejó agitar durante 30 minutos a 0 °C, después de lo cual se diluyó con agua y diclorometano. Las capas bifásicas se separaron y la capa acuosa se lavó dos veces con diclorometano. Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na₂SO₄ anhídrico y los volátiles se retiraron al vacío. El residuo resultante se purificó por un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando acetato de etilo al 0-50 % en hexanos para proporcionar 4-carbonato de (2-(5-amino-

8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)fenil-etilo como un sólido. RMN ¹H (Acetona-d₆): δ 8,78 (s, 1H), 8,73 (s, 1H), 8,28 (d, 1H), 7,43 (s, 1H), 7,33 (d, 2H), 7,10-7,17 (m, 3H), 6,64 (a, 2H), 4,18 (t, 2H), 3,25 (t, 2H), 3,14 (t, 2H), 2,45 (s, 3H), 1,68-1,77 (m, 2H), 0,97 (t, 3H). LRMS [M+H] = 416,2

Ejemplo 139

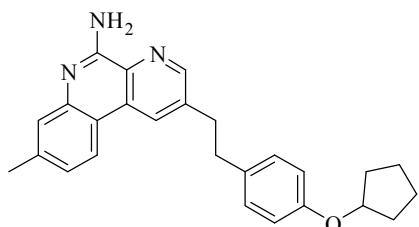
- 5 5-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)fenoxi)pentanoato de etilo



A una solución de 4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)fenol (de Ejemplo 170) (1,0 equiv.) en dimetilformamida (0,10 M) a 22 °C se le añadió una dispersión al 60 % de hidruro de sodio en aceite mineral (1,5 equiv.) y la mezcla resultante se dejó agitar durante 30 minutos. En este punto, se añadió 5-bromopentanoato de etilo (1,2 equiv.) a esta mezcla. La mezcla de reacción después se dejó agitar durante 18 horas, después de lo cual se diluyó con acetato de etilo y agua. Las capas bifásicas se separaron y la capa orgánica se lavó dos veces con agua. La capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y los volátiles se retiraron al vacío. El residuo resultante se purificó por RP-HPLC usando a MeCN al 10-50 % en gradiente de agua. La sal de trifluoroacetato resultante después se convirtió a la forma de base libre al utilizar una resina de intercambio iónico StratoSpheres® PL-SO3H SPE, dando 5-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)fenoxi)pentanoato de etilo como un sólido. RMN ¹H (Acetona-d₆): δ 8,80 (s, 1H), 8,74 (s, 1H), 8,33 (d, 1H), 7,47 (s, 1H), 7,24 (d, 1H), 7,17 (d, 2H), 6,85 (d, 1H), 4,10 (q, 2H), 3,97 (t, 2H), 3,25 (t, 2H), 3,07 (t, 2H), 2,50 (s, 3H), 2,37 (t, 3H), 1,74-1,84 (m, 4H), 1,21 (t, 3H). LRMS [M+H] = 458,2

Ejemplo 140

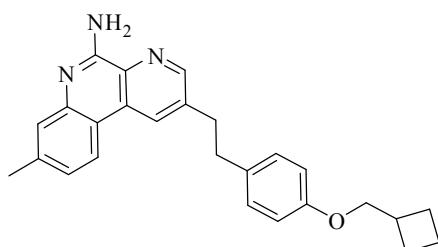
- 20 2-(4-(ciclopentiloxi)fenetil)-8-metilbenzo[f][1,7]-naftiridin-5-amina



Se preparó 2-(4-(ciclopentiloxi)fenetil)-8-metilbenzo[f][1,7]-naftiridin-5-amina a partir de 4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)fenol (de Ejemplo 170) siguiendo el procedimiento descrito para el Ejemplo 136, pero usando bromociclopentano. RMN ¹H (Acetona-d₆): δ 8,75 (d, 2H), 8,30 (d, 1H), 7,45 (s, 1H), 7,20 (d, 1H), 7,14 (d, 2H), 6,79 (d, 2H), 4,73-4,81 (m, 1H), 3,22 (t, 2H), 3,05 (t, 2H), 2,47 (s, 3H), 1,85-1,96 (m, 2H), 1,70-1,79 (m, 4H), 1,56-1,64 (m, 2H). LRMS [M+H] = 398,2

Ejemplo 141

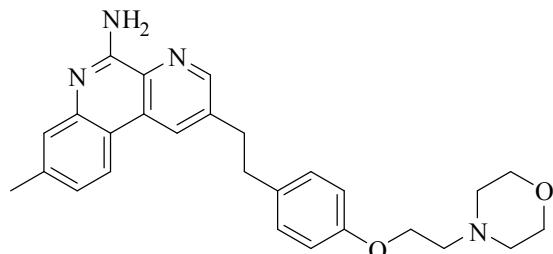
- 2-(4-(ciclobutilmetoxi)fenetil)-8-metilbenzo[f][1,7]-naftiridin-5-amina



- 30 Se preparó 2-(4-(ciclobutilmetoxi)fenetil)-8-metilbenzo[f][1,7]-naftiridin-5-amina a partir de 4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)fenol (de Ejemplo 170) siguiendo el procedimiento descrito para el Ejemplo 136, pero usando (bromometil)ciclobutano. RMN ¹H (Acetona-d₆): δ 8,79 (s, 1H), 8,73 (s, 1H), 8,33 (d, 1H), 7,47 (s, 1H), 7,26 (d, 1H), 7,16 (d, 2H), 6,82 (d, 2H), 3,90 (d, 2H), 3,23 (t, 2H), 3,06 (t, 2H), 2,68-2,79 (m, 1H), 2,49 (s, 3H), 2,05-2,14 (m, 2H), 1,80-1,98 (m, 4H). LRMS [M+H] = 398,2

Ejemplo 142

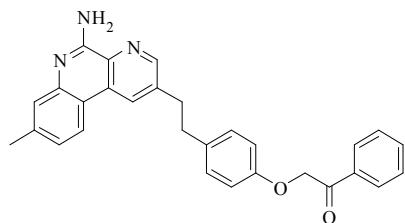
8-metil-2-(4-(2-morfolinoetoxi)fenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-5-amina



- 5 Se preparó 8-metil-2-(4-(2-morfolinoetoxi)fenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-5-amina a partir de 4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)fenol (de Ejemplo 170) siguiendo el procedimiento descrito para el Ejemplo 139, pero usando 4-(2-bromoetil)morfolina. RMN ^1H (Acetona-d₆): δ 8,78 (s, 1H), 8,72 (s, 1H), 8,30 (d, 1H), 7,46 (s, 1H), 7,17-7,24 (m, 3H), 6,85 (d, 2H), 4,08 (t, 2H), 3,56-3,62 (m, 4H), 3,45-3,53 (m, 2H), 3,24 (t, 2H), 3,07 (t, 2H), 2,73 (t, 2H), 2,52-2,56 (m, 2H), 2,49 (s, 3H). LRMS [M+H] = 443,2

Ejemplo 143

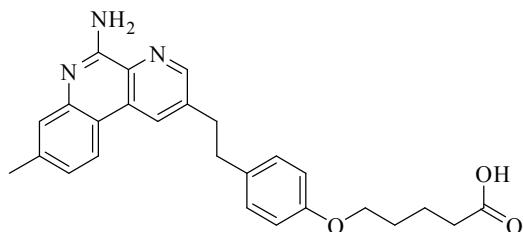
10 2-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)fenoxi)-1-feniletanona



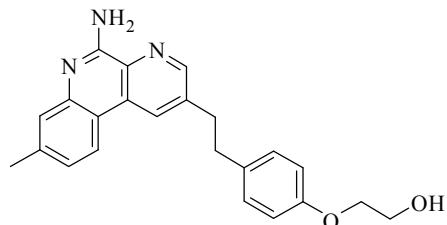
- 15 Se preparó 2-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)fenoxi)-1-feniletanona a partir de 4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)fenol (de Ejemplo 170) siguiendo el procedimiento descrito para el Ejemplo 139, pero usando 2-bromo-1-feniletanona. RMN ^1H (Acetona-d₆): δ 8,76 (s, 1H), 8,71 (s, 1H), 8,27 (d, 1H), 8,06 (d, 2H), 7,67 (t, 1H), 7,57 (t, 2H), 7,43 (s, 1H), 7,17 (d, 3H), 6,90 (d, 2H), 5,45 (s, 2H), 3,21 (t, 2H), 3,06 (t, 2H), 2,45 (s, 3H). LRMS [M+H] = 448,2

Ejemplo 144

Ácido 5-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)fenoxi)pentanoico



- 20 A una solución de 5-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)fenoxi)pentanoato de etilo (1,0 equiv.) (de Ejemplo 139) en etanol (0,10 M) se le añadió hidróxido de sodio anhídrico (2,0 equiv.) y la mezcla resultante se dejó agitar a 80 °C durante 2 horas. Después del enfriamiento a temperatura ambiente, la mezcla se diluyó con acetato de etilo y agua. Las capas bifásicas se separaron y la capa acuosa se lavó dos veces con acetato de etilo. Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na₂SO₄ anhídrico y los volátiles se retiraron al vacío. El residuo resultante se purificó por un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando metanol al 0-10 % en diclorometano para dar ácido 5-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)fenoxi)pentanoico como un sólido. RMN ^1H (Metanol-d₄): δ 8,61 (s, 1H), 8,57 (s, 1H), 8,20 (d, 1H), 7,40 (s, 1H), 7,20 (d, 1H), 7,07 (d, 2H), 6,81 (d, 2H), 3,93 (t, 2H), 3,18 (t, 2H), 3,00 (t, 2H), 2,48 (s, 3H), 2,25 (t, 2H), 1,74-1,81 (m, 2H), 0,86-0,96 (m, 2H). LRMS [M+H] = 430,2

Ejemplo 1452-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)fenoxi)etanolPaso 1: 2-(4-(2-(terc-butildimetilsiloxi)etoxi)fenetil)-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina

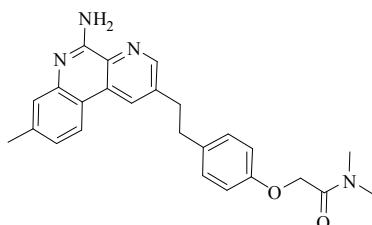
- 5 Se preparó 2-(4-(2-(Ter-butildimetilsiloxi)etoxi)fenetil)-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina a partir de 4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)fenol (de Ejemplo 170) siguiendo el procedimiento descrito para el Ejemplo 139, pero usando (2-bromoetoxi)(terc-butil)dimetilsilano.

Paso 2: 2-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)fenoxi)etanol

- 10 A una solución de 2-(4-(2-(terc-butildimetilsiloxi)etoxi)fenetil)-8-metilbenzo[f]-[1,7]naftiridin-5-amina (del paso previo) (1,0 equiv.) en tetrahidrofurano (0,10 M) se le añadió una solución 1,0 M de fluoruro de tetrabutilamonio (5 equiv.) en THF y la mezcla resultante se dejó agitar 22 °C durante 2 horas. En este punto, la mezcla se diluyó con acetato de etilo y agua. Las capas bifásicas se separaron y la capa acuosa se lavó dos veces con acetato de etilo. Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na_2SO_4 anhidro y los volátiles se retiraron al vacío. El residuo resultante se purificó por un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando metanol al 0-10 % en diclorometano para dar 2-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)fenoxi)etanol como un sólido. RMN ^1H (Acetona- d_6): δ 8,76 (s, 1H), 8,67 (s, 1H), 8,28 (d, 1H), 7,40 (s, 1H), 7,15 (t, 3H), 6,84 (d, 2H), 6,54 (a, 2H), 4,00 (t, 2H), 3,83 (t, 2H), 3,21 (t, 2H), 3,05 (t, 2H), 2,45 (s, 3H). LRMS [M+H] = 374,2
- 15

Ejemplo 146

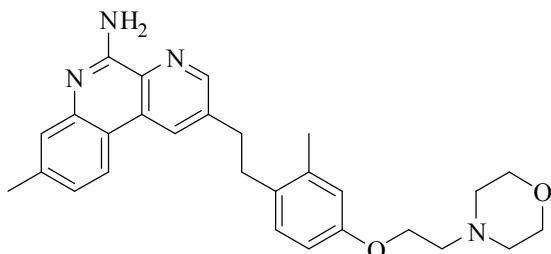
2-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)fenoxi)-N,N-dimetilacetamida



- 20 Se preparó 2-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)fenoxi)-N,N-dimetilacetamida a partir de 4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)fenol (de Ejemplo 170) y siguiendo el procedimiento descrito para el Ejemplo 139, pero usando 2-bromo-N,N-dimetilacetamida. RMN ^1H (Acetona- d_6): δ 8,75 (s, 1H), 8,70 (s, 1H), 8,28 (d, 1H), 7,40 (s, 1H), 7,18 (t, 3H), 6,87 (d, 2H), 6,56 (a, 2H), 4,72 (s, 2H), 3,20 (t, 2H), 3,07 (s, 3H), 3,05 (t, 2H), 2,87 (s, 3H), 2,45 (s, 3H). LRMS [M+H] = 415,2

Ejemplo 147

8-metil-2-(2-metil-4-(2-morfolinoetoxi)fenetil)benzo[f]-[1,7]naftiridin-5-amina

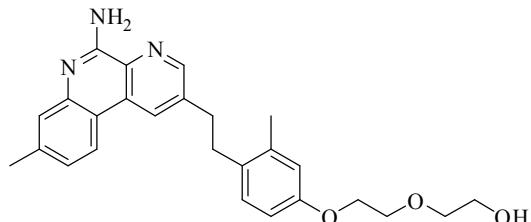


- 30 Se preparó 8-Metil-2-(2-metil-4-(2-morfolinoetoxi)fenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-5-amina siguiendo un procedimiento análogo a la preparación descrita para el Ejemplo 139, pero usando 4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenol (de Ejemplo 50) y 4-(2-bromoetil)morfolina. RMN ^1H (Acetona- d_6): δ 8,73 (d, 2H), 8,26 (d, 1H), 7,44 (s, 1H), 7,17 (d, 1H), 7,05 (d, 1H), 6,76 (s, 1H), 6,67 (d, 1), 4,04-4,08 (m, 3H), 3,60-3,62 (m, 4H), 3,30 (s, 1H),

3,16 (t, 2H), 3,04 (t, 2H), 2,71 (t, 2H), 2,50-2,52 (m, 2H), 2,47 (s, 3H), 2,28 (s, 3H). LRMS [M+H] = 457,3

Ejemplo 148

2-(2-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)ethyl)-3-metilfenoxi)etoxi)etanol



5 Paso 1: 2-(4-(2-(2-(terc-butildimetsilsiloxi)etoxi)etoxi)-2-metilfenetil)-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina

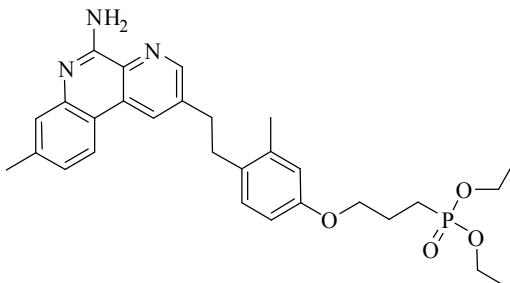
Se preparó 2-(4-(2-(2-(Ter-butildimetsilsiloxi)etoxi)etoxi)-2-metilfenetil)-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina siguiendo un procedimiento análogo a la preparación descrita para el Ejemplo 145 / Paso 1, pero usando 4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)ethyl)-3-metilfenol (de Ejemplo 50) con *terc*-butil(2-(2-cloroetoxi)dimetilsilano).

10 Paso 2: 2-(2-(4-(2-(5-Amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)ethyl)-3-metilfenoxi)etoxi)etanol

Se preparó 2-(2-(4-(2-(5-Amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)ethyl)-3-metilfenoxi)etoxi)etanol a partir de 2-(4-(2-(2-(terc-butildimetsilsiloxi)etoxi)etoxi)-2-metilfenetil)-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina (del paso previo) siguiendo los procedimientos descritos para el Ejemplo 145 / Paso 2. RMN ¹H (Acetona-d₆): δ 8,74 (s, 1H), 8,69 (s, 1H), 8,27 (d, 1H), 7,41 (s, 1H), 7,14 (d, 1H), 7,06 (d, 1H), 6,75 (s, 1H), 6,69 (d, 1), 6,54 (a, 2H), 4,07 (t, 2H), 3,79 (t, 2H), 3,64 (t, 2H), 3,59 (t, 2H), 3,16 (t, 2H), 3,03 (t, 2H), 2,45 (s, 3H), 2,29 (s, 3H). LRMS [M+H] = 432,2

Ejemplo 149

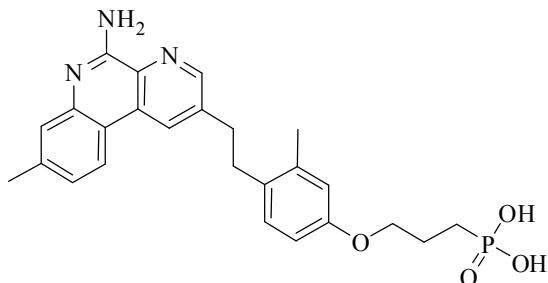
3-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)ethyl)-3-metilfenoxi)propilfosfonato de dietilo



20 Se preparó 3-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)ethyl)-3-metilfenoxi)propilfosfonato de dietilo siguiendo un procedimiento análogo a la preparación descrita para el Ejemplo 139, pero usando 4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)ethyl)-3-metilfenol (de Ejemplo 50) con 3-bromopropilfosfonato de dietilo. RMN ¹H (Acetona-d₆): δ 9,52 (s, 1H), 9,47 (s, 1H), 9,03 (d, 1H), 8,21 (s, 1H), 7,93 (d, 1H), 7,84 (d, 1H), 7,60 (a, 2H), 7,53 (s, 1), 7,45 (d, 1H), 4,76-4,91 (m, 6H), 3,93 (t, 2H), 3,81 (t, 2H), 3,24 (s, 3H), 3,06 (s, 3H), 2,76-2,86 (m, 2H), 2,61-2,72 (m, 2H), 2,07 (t, 6H). LRMS [M+H] = 522,2

25 **Ejemplo 150**

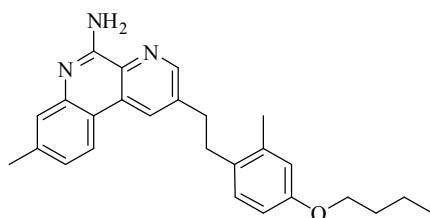
Ácido 3-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)ethyl)-3-metilfenoxi)propilfosfónico



Una solución 12 N de ácido clorhídrico (0,10 M) se añadió a 3-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)propilfosfonato de dietilo (de Ejemplo 149) y la mezcla resultante se dejó agitar a 100 °C durante 18 horas. En este punto, se retiró el ácido clorhídrico bajo presión reducida y el residuo resultante se purificó por RP-HPLC usando un MeCN al 10-50 % en gradiente de agua. La sal de trifluoroacetato resultante después se convirtió a la forma de base libre por la adición de una solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio, seguido por lavado tres veces con acetato de etilo. Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro, y los volátiles se retiraron al vacío para dar ácido 3-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)propilfosfónico como un sólido. RMN ¹H (Dimetilsulfóxido-d₆): δ 9,72 (a, 1H), 9,01 (s, 1H), 8,96 (a, 1H), 8,85 (s, 1H), 8,54 (d, 1H), 7,54 (s, 1H), 7,42 (d, 1H), 7,08 (d, 1), 6,74 (s, 1H), 6,66 (d, 1H), 3,95 (t, 2H), 3,14 (t, 2H), 2,97 (t, 2H), 2,50 (s, 3H), 2,27 (s, 3H), 1,81-1,91 (m, 2H), 1,56-1,67 (m, 2H). LRMS [M+H]⁺ = 466,2

Ejemplo 151

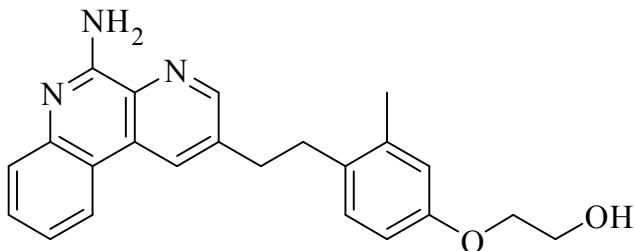
2-(4-butoxi-2-metilfenetil)-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina



Se preparó 2-(4-Butoxi-2-metilfenetil)-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina siguiendo un procedimiento análogo a la preparación descrita para el Ejemplo 139, pero usando 4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenol (de Ejemplo 50) con 1-bromobutano. RMN ¹H (Acetona-d₆): δ 8,75 (s, 1H), 8,71 (s, 1H), 8,28 (d, 1H), 7,43 (s, 1H), 7,15 (d, 1H), 7,07 (d, 1H), 6,75 (s, 1H), 6,69 (d, 1H), 6,54 (a, 2H), 3,95 (t, 2H), 3,16 (t, 2H), 3,04 (t, 2H), 2,47 (s, 3H), 2,30 (s, 3H), 1,69-1,77 (m, 2H), 1,43-1,54 (m, 2H), 0,97 (t, 3H). LRMS [M+H]⁺ = 400,2

Ejemplo 152

2-(4-(2-(5-aminobenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)etanol

Paso 1: 4-(2-(5-aminobenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenol

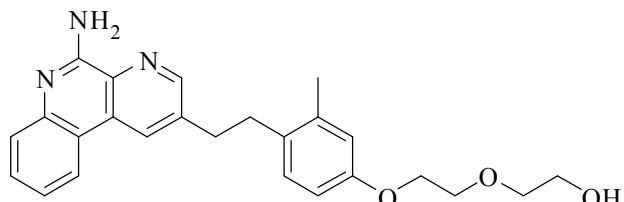
Se preparó 4-(2-(5-Aminobenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenol siguiendo un procedimiento análogo a la preparación descrita para el Ejemplo 145, pero usando 2-(4-Metoxi-2-metilfenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-5-amina (de Ejemplo 119).

Paso 2: 2-(4-(2-(5-Aminobenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)etanol

Se preparó 2-(4-(2-(5-Aminobenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)etanol a partir de 4-(2-(5-aminobenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenol (del paso previo) siguiendo los procedimientos descritos para Ejemplo 145 / Pasos 1 a 2. LRMS [M+H]⁺ = 374,2

Ejemplo 153

2-(4-(2-(5-aminobenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)etanol



Paso 1: 4-(2-(5-aminobenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenol

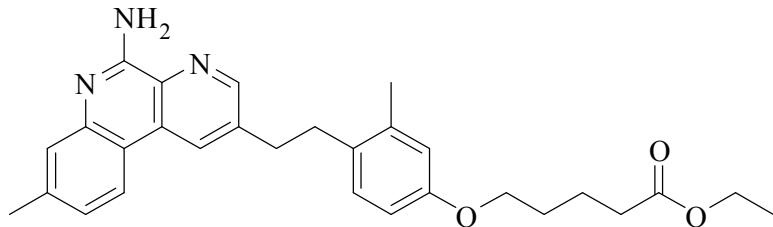
Se preparó 4-(2-(5-Aminobenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenol siguiendo un procedimiento análogo a la preparación descrita para el Ejemplo 50, pero usando 2-(4-Metoxi-2-metilfenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-5-amina (de Ejemplo 119).

5 Paso 2: 2-(4-(2-(5-aminobenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)etanol

Se preparó 2-(4-(2-(5-aminobenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)etanol siguiendo los procedimientos descritos para el Ejemplo 148 / Pasos 1 a 2. LRMS [M+H] = 418,2

Ejemplo 154

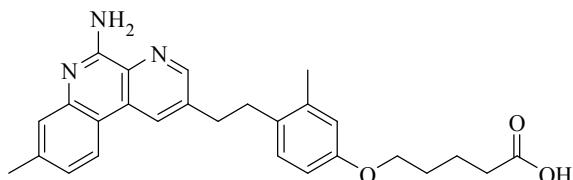
5-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)pentanoato de etilo



- 10 Se preparó 5-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)pentanoato de etilo a partir de 4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenol (de Ejemplo 50) siguiendo el procedimiento descrito para el Ejemplo 139, pero usando 5-bromopentanoato de etilo. RMN ¹H (CDCl₃): δ 8,64 (s, 1H), 8,27 (s, 1H), 8,02 (d, 1H), 7,66 (s, 1H), 7,32 (d, 1H), 6,91 (d, 1H), 6,66 (s, 1H), 6,63 (d, 1H), 4,13 (q, 2H), 3,93 (t, 2H), 3,14 (t, 2H), 2,99 (t, 2H), 2,54 (s, 3H), 2,38 (t, 2H), 2,25 (s, 3H), 1,79-1,83 (m, 4H), 1,26 (t, 3H). LRMS [M+H] = 472,3

Ejemplo 155

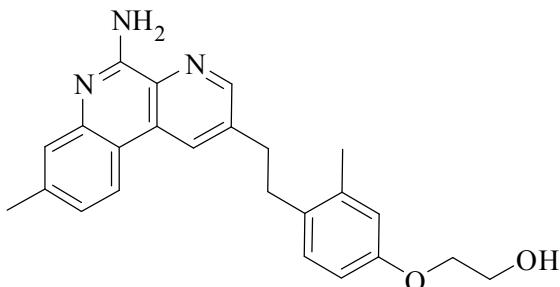
Ácido 5-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)pentanoico



- 20 Se preparó ácido 5-(4-(2-(5-Amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)pentanoico a partir de 5-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)pentanoato de etilo (del paso previo) siguiendo el procedimiento descrito para el Ejemplo 144. RMN ¹H (CDCl₃): δ 8,52 (s, 1H), 8,27 (s, 1H), 8,02 (d, 1H), 7,65 (s, 1H), 7,32 (d, 1H), 6,86 (d, 1H), 6,72 (s, 1H), 6,63 (d, 1H), 3,95 (t, 2H), 3,15 (t, 2H), 2,99 (t, 2H), 2,54 (s, 3H), 2,45 (t, 2H), 2,23 (s, 3H), 1,79-1,83 (m, 4H). LRMS [M+H] = 444,2

Ejemplo 156

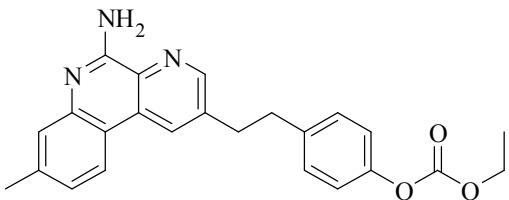
- 25 2-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)etanol



- 30 Se preparó 2-(4-(2-(5-Amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)etanol siguiendo los procedimientos descritos para el Ejemplo 145 / Pasos 1 a 2, pero usando 4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenol (de Ejemplo 50). RMN ¹H (Acetona-d₆): δ 8,76 (s, 1H), 8,69 (s, 1H), 8,28 (d, 1H), 7,40 (s, 1H), 7,15 (d, 1H), 7,09 (d, 1H), 6,75 (s, 1H), 6,68 (d, 1H), 6,57 (a, 2H), 4,00 (t, 2H), 3,79-3,88 (m, 2H), 3,17 (t, 2H), 3,04 (t, 2H), 2,46 (s, 2H), 2,29 (s, 2H). LRMS [M+H] = 388,5.

Ejemplo 157

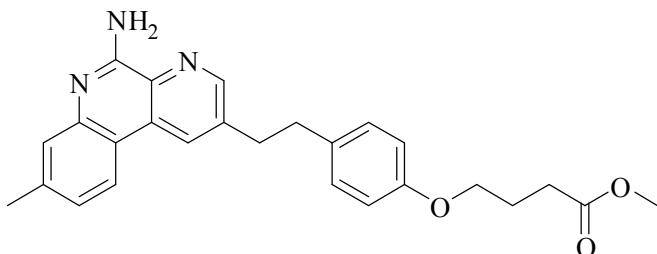
Carbonato de 4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)fenil-etilo



- 5 Se preparó carbonato de 4-(2-(5-Amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)fenil-etilo a partir de 4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)fenol (de Ejemplo 170) siguiendo el procedimiento descrito para el Ejemplo 138, pero usando carbonocloridato de etilo. LRMS [M+H] = 402,2

Ejemplo 158

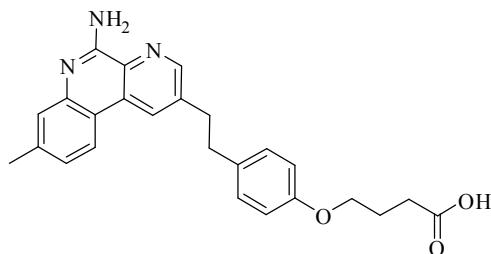
4-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)fenoxi)butanoato de metilo



- 10 Se preparó 4-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)fenoxi)butanoato de metilo a partir de 4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)fenol (de Ejemplo 170) siguiendo el procedimiento descrito para la preparación de Ejemplo 139, pero usando 4-bromobutanoato de metilo. RMN ¹H (Acetona-d₆): δ 8,74 (s, 1H), 8,67 (s, 1H), 8,24 (d, 1H), 7,39 (s, 1H), 7,09-7,19 (m, 3H), 6,82 (d, 2H), 6,53 (a, 2H), 3,97 (t, 2H), 3,60 (s, 3H), 3,19 (t, 2H), 3,04 (t, 2H), 2,48 (t, 2H), 2,44 (s, 3H), 0,84-0,91 (m, 2H). LRMS [M+H] = 430,2.

Ejemplo 159

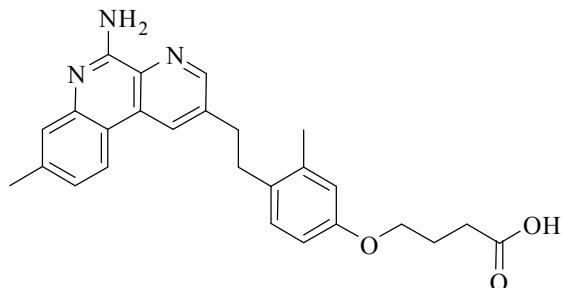
Ácido 4-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)fenoxi)butanoico



- 20 Se preparó ácido 4-(4-(2-(5-Amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)fenoxi)butanoico a partir de 4-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)fenoxi)butanoato de metilo (del paso previo) siguiendo el procedimiento descrito para el Ejemplo 144. RMN ¹H (Acetona-d₆): δ 7,47 (s, 1H), 7,41 (s, 1H), 7,09 (d, 1H), 6,21 (s, 1H), 6,18 (d, 1H), 5,82 (d, 2H), 5,52 (d, 2H), 2,66 (t, 2H), 1,99 (t, 2H), 1,77 (t, 2H), 1,28 (s, 3H), 1,17 (t, 2H), 0,70-0,79 (m, 2H). LRMS [M+H] = 416,2.

Ejemplo 160

Ácido 4-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)butanoico



Paso 1: 4-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)butanoato de metilo

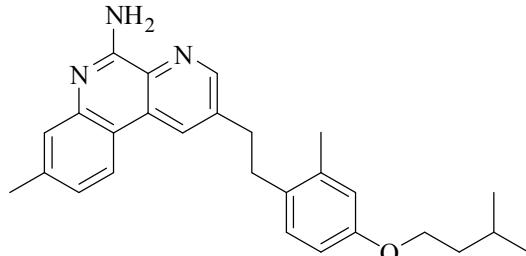
- 5 Se preparó 4-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)butanoato de metilo siguiendo el mismo procedimiento descrito para la preparación de Ejemplo 158, pero usando 4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenol (de Ejemplo 50).

Paso 2: ácido 4-(4-(2-(5-Amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)butanoico

- 10 Se preparó ácido 4-(4-(2-(5-Amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)butanoico a partir de 4-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)butanoato de metilo (del paso previo) siguiendo el procedimiento descrito para el Ejemplo 144. RMN ¹H (Acetona-d₆): δ 8,38 (s, 1H), 8,24 (s, 1H), 7,90 (d, 1H), 6,90 (s, 1H), 6,68 (d, 1H), 6,54-6,63 (m, 2H), 6,27 (d, 1H), 6,20 (d, 1H), 3,40 (t, 2H), 2,62 (t, 2H), 2,47 (t, 2H), 1,99 (s, 3H), 1,80 (s, 2H), 1,45 (t, 2H), 1,27-1,39 (m, 2H). LRMS [M+H] = 430,2.

Ejemplo 161

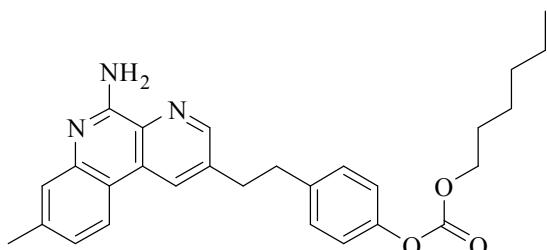
- 15 2-(4-(isopentiloxi)-2-metilfenetil)-8-metilbenzo[f][1,7]-naftiridin-5-amina



- 20 Se preparó 2-(4-(Isopentiloxi)-2-metilfenetil)-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina a partir de 4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenol (de Ejemplo 50) siguiendo el procedimiento descrito para el Ejemplo 136, pero usando 1-bromo-3-metilbutano. RMN ¹H (Acetona-d₆): δ 8,75 (s, 1H), 8,72 (s, 1H), 8,29 (d, 1H), 7,43 (s, 1H), 7,17 (D, 1H), 7,10 (d, 1H), 6,76 (d, 1H), 6,68 (d, 1H), 6,56 (a, 2H), 4,00 (t, 2H), 3,17 (t, 2H), 3,07 (t, 2H), 2,48 (s, 3H), 1,76-1,91 (m, 1H), 1,60-1,71 (m, 2H), 0,96 (s, 6H). LRMS [M+H] = 414,2.

Ejemplo 162

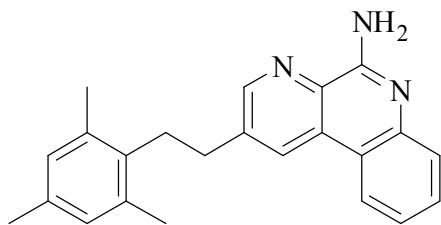
Carbonato de 4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)fenil-hexilo



- 25 Se preparó carbonato de 4-(2-(5-Amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)fenil-hexilo a partir de 4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)fenol (de Ejemplo 170) siguiendo los procedimientos descritos para el Ejemplo 138, pero usando carbonochloridato de hexilo. LRMS [M+H] = 458,2.

Ejemplo 163

2-(2,4,6-trimetilfenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-5-amina

Paso 1: 2-(mesitiletinil)benzo[f][1,7]naftiridin-5-amina

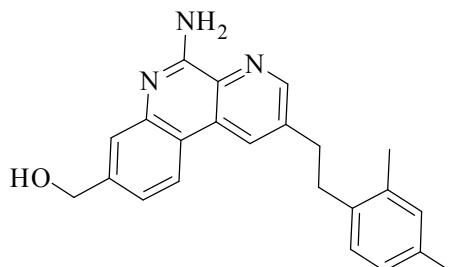
- 5 Se preparó 2-(Mesitiletinil)benzo[f][1,7]naftiridin-5-amina a partir de 3-cloro-5-(mesitiletinil)picolinonitrilo (Ejemplo 77 / Paso 1) y 2-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenilcarbamato e *terc*-butilo (comercialmente disponible) siguiendo los procedimientos descritos para el Ejemplo 45 / Paso 1.

Paso 2: 2-(2,4,6-Trimetilfenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-5-amina

- 10 Se preparó 2-(2,4,6-trimetilfenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-5-amina a partir de 2-(mesitiletinil)benzo[f][1,7]naftiridin-5-amina (del paso previo) siguiendo los procedimientos descritos para el Ejemplo 45 / Paso 2 a 3. RMN ¹H (Acetona-d₆): δ 8,80 (s, 2H), 8,38 (d, 1H), 7,60 (d, 2H), 7,54 (d, 2H), 7,31 (t, 1H), 6,84 (s, 2H), 6,61 (a, 2H), 3,08 (s, 2H), 2,30 (s, 6H), 2,23 (s, 3H). LRMS [M+H] = 342,2.

Ejemplo 164

(5-amino-2-(2,4-dimetilfenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-8-il)metanol



15

Paso 1: 5-amino-2-((2,4-dimetilfenil)etinil)benzo-f[1,7]naftiridina-8-carboxilato de metilo

- 20 Se preparó 5-amino-2-((2,4-dimetilfenil)etinil)benzo[f][1,7]naftiridina-8-carboxilato de metilo a partir de 3-cloro-5-((2,4-dimetilfenil)etinil)picolinonitrilo (de Ejemplo 47 / Paso 3) y ácido 2-(*terc*-butoxicarbonilamino)-4-(metoxicarbonil)fenilborónico (de Ejemplo 85 / Paso 1) siguiendo los procedimientos descritos en Ejemplo 95 / paso 1.

Paso 2: 5-amino-2-(2,4-dimetilfenetil)benzo[f][1,7]naftiridina-8-carboxilato de metilo

Se preparó 5-amino-2-(2,4-dimetilfenetil)benzo[f][1,7]naftiridina-8-carboxilato de emtilo a partir de 5-amino-2-((2,4-dimetilfenil)etinil) benzo[f][1,7]naftiridina-8-carboxilato de metilo (del paso previo) siguiendo los procedimientos descritos en Ejemplo 44 / Paso 5.

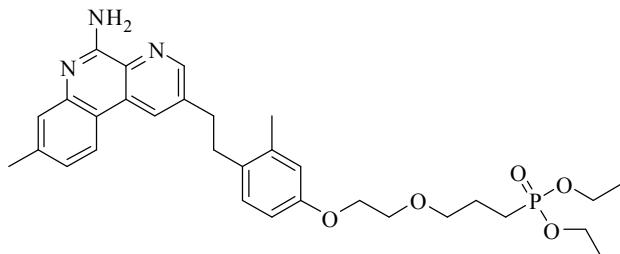
25

Paso 3: (5-amino-2-(2,4-dimetilfenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-8-il)metanol

- 30 Se preparó (5-amino-2-(2,4-dimetilfenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-8-il)metanol a partir de 5-amino-2-(2,4-dimetilfenetil)benzo[f][1,7]-naftiridina-8-carboxilato de metilo (del paso previo) siguiendo los procedimientos descritos en Ejemplo 95 / Paso 2. RMN ¹H (Acetona-d₆): δ 8,79 (s, 1H), 8,73 (s, 1H), 8,35 (d, 1H), 7,61 (s, 1H), 7,34 (d, 1H), 7,08 (d, 1H), 6,97 (s, 1H), 6,91 (d, 1H), 6,51 (a, 2H), 4,77 (s, 2H), 3,16-3,20 (m, 2H), 3,04-3,10 (m, 2H), 2,28 (s, 3H), 2,25 (s, 3H). LRMS [M+H] = 358,2.

Ejemplo 165

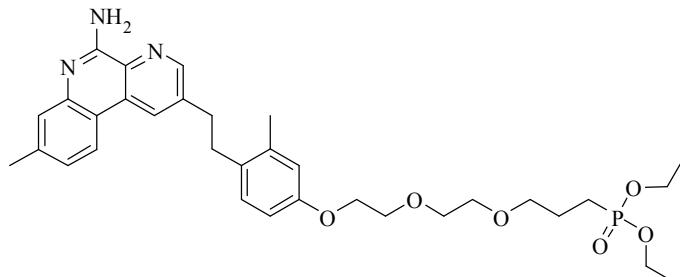
3-(2-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)etoxi)propilfosfonato de dietilo



- 5 Se preparó 3-(2-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)etoxi)propilfosfonato de dietilo siguiendo el procedimiento descrito para el Ejemplo 139, pero usando 4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenol (de Ejemplo 156) y 3-(2-bromoetoxi)propilfosfonato de dietilo. LRMS [M+H] = 566,3.

Ejemplo 166

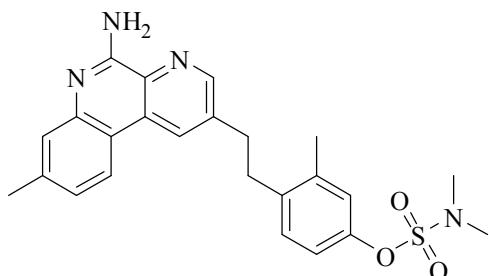
3-(2-(2-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)etoxi)etoxi)propilfosfonato de dietilo



- 10 Se preparó 3-(2-(2-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)etoxi)etoxi)propilfosfonato de dietilo siguiendo el procedimiento descrito para el Ejemplo 139, pero usando 4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenol (de Ejemplo 148) y 3-(2-(2-bromoetoxi)etoxi)propilfosfonato de dietilo. RMN ¹H (Acetona-d₆): δ 8,75 (s, 1H), 8,70 (s, 1H), 8,26 (d, 1H), 7,42 (s, 1H), 7,16 (d, 1H), 7,09 (d, 1H), 6,77 (s, 1H), 6,71 (d, 1H), 6,58 (a, 2H), 3,95-4,11 (m, 6H), 3,76-3,80 (m, 2H), 3,63-3,67 (m, 2H), 3,55-3,58 (m, 2H), 3,57-3,51 (m, 2H), 3,14-3,18 (m, 2H), 3,04-3,05 (m, 2H), 2,46 (s, 3H), 2,29 (s, 3H), 1,71-1,87 (m, 4H), 1,22-1,29 (m, 8H). LRMS [M+H] = 610,3.
- 15

Ejemplo 167

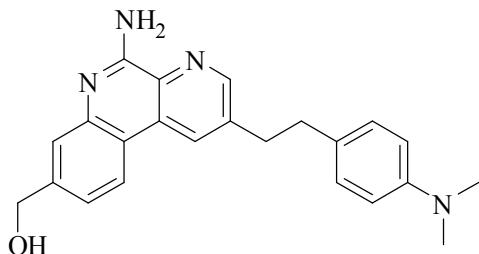
dimetilsulfamato de 4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]-naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenilo



- 20 Se preparó dimetilsulfamato de 4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenilo a partir de 4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenol (de Ejemplo 50) siguiendo el procedimiento descrito para el Ejemplo 138, pero usando cloruro de dimetilsulfamoilo. RMN ¹H (Acetona-d₆): δ 8,79 (s, 1H), 8,72 (s, 1H), 8,28 (d, 1H), 7,42 (s, 1H), 7,27 (d, 1H), 7,17 (s, 1H), 7,14 (t, 1H), 7,05-7,10 (d, 1H), 3,19-3,25 (m, 2H), 3,11-3,17 (m, 2H), 2,92 (s, 6H), 2,46 (s, 3H), 2,37 (s, 3H). LRMS [M+H] = 451,2.

Ejemplo 168

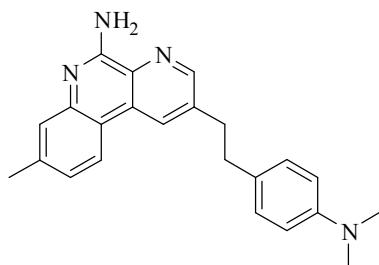
(5-amino-2-(4-(dimetilamino)fenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-8-il)metanol



5 Se preparó (5-Amino-2-(4-(dimetilamino)fenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-8-il)metanol a partir de 5-((terc-butildimetsiloxi)metil)-2-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenilcarbamato de *terc*-butilo (de Ejemplo 99 / paso 1) y 4-etinil-N,N-dimetilanilina (comercialmente disponible) siguiendo los procedimientos descritos en Ejemplo 45 / Paso 1 a 4 seguido por desprotección de grupo TBS como en Ejemplo 99 / Paso 3. RMN ^1H (Acetona- d_6): δ 8,78 (s, 1H), 8,73 (s, 1H), 8,35 (d, 1H), 7,61 (s, 1H), 7,31-7,35 (d, 1H), 7,08 (d, 1H), 6,68 (d, 2H), 6,50 (a, 2H), 4,78 (s, 2H), 4,34 (s, 1H), 3,16-3,20 (m, 2H), 3,03-3,10 (m, 2H), 2,83 (s, 3H), 2,80 (s, 3H). LRMS [M+H] = 373,2.

Ejemplo 169

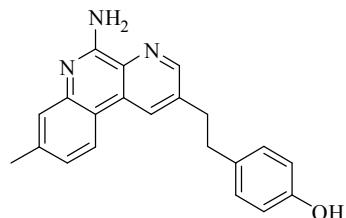
2-(4-(dimetilamino)fenetil)-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina



10 Se preparó 2-(4-(Dimetilamino)fenetil)-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina siguiendo los procedimientos descritos para el Ejemplo 45 / Pasos 1 a 3, pero usando 4-etinil-N,N-dimetilanilina en Paso 1. RMN ^1H (Acetona- d_6) Base libre: δ 8,60 (s, 1H), 8,55 (s, 1H), 8,15 (d, 1H), 7,28 (s, 1H), 7,03 (d, 1H), 6,96 (d, 2H), 6,56 (d, 2H), 6,55 (a s, 2H), 3,05 (t, 2H), 2,88 (t, 2H), 2,75 (s, 6H), 2,33 (s, 3H). LRMS [M+H] = 357,2

Ejemplo 170

4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)fenol

**Paso 1: 2-(4-metoxifenetil)-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina**

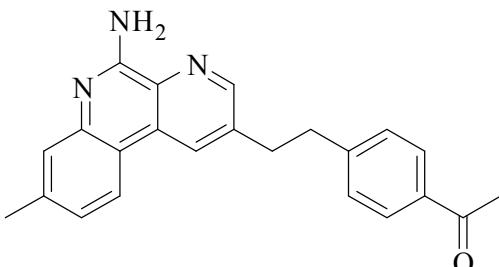
20 Se preparó 2-(4-metoxifenetil)-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina siguiendo los procedimientos descritos para el Ejemplo 79 / Pasos 1 a 3, pero usando 1-etinil-4-metoxibenceno en Paso 1.

Paso 2: 4-(2-(5-Amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)fenol

25 Se preparó 4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)fenol a partir de 2-(4-metoxifenetil)-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina (del paso previo) siguiendo el procedimiento descrito para el Ejemplo 50. RMN ^1H (Metanol- d_4): δ 8,59

Ejemplo 171

1-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)fenil)etanona

Paso 1: 5-((4-acetilfenil)etinil)-3-cloropicolinonitrilo

- 5 A una solución de 1-(4-etinilfenil)etanona (comercialmente disponible) (1 equiv.) 3,5-dicloropicolinonitrilo (1 equiv), diclorobis(trifenilfosfina)-paladio (II) (20 % en mol), yoduro de cobre (10 % en mol) y DMF: Se agitó trietilamina (10:1) (0,13 M) a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla de reacción después se diluyó con acetato de etilo y solución de bi-carbonato de sodio. Las dos fases se separaron, y la fase acuosa se extrajo dos veces con acetato de etilo. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre sulfato de sodio, y se concentraron al vacío. El material en bruto se purificó por cromatografía instantánea en un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando acetato de etilo al 0-100 % en hexano y se aisló 5-((4-acetilfenil)etinil)-3-cloropicolinonitrilo como un sólido de color amarillo.

Paso 2: 5-(4-acetilfenil)-3-cloropicolinonitrilo

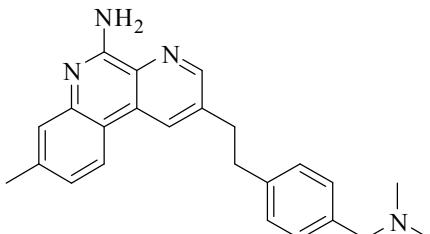
- 15 A una solución de 5-((4-acetilfenil)etinil)-3-cloropicolinonitrilo (del paso previo) (1 equiv) en etanol (0,1 M) se le añadió de Platino (30 % en mol). Mediante un globo se introdujo gas hidrógeno, y la reacción se agitó durante 0,5 horas. La mezcla se filtró a través de una lecho de celite, lavando con diclorometano. El filtrado se concentró al vacío y purificó cromatografía instantánea en un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando acetato de etilo al 0-100 % en hexano para dar 5-(4-acetilfenil)-3-cloropicolinonitrilo como un sólido blanquecino.

Paso 3: 1-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)fenil)etanona

- 20 A una solución de 5-(4-acetilfenetil)-3-cloropicolinonitrilo (del paso previo) (1 equiv) y 5-metil-2-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenilcarbamato de *terc*-butilo (1,0 equiv.), *tetraquis*(trifenil-fosfina)paladio (10 % en mol), y solución acuosa de carbonato de sodio 2 N (2,0 equiv.) en tolueno/etanol (1:1, 0,09 M) se calentó bajo condición de microondas usando un BIOTAGE INITIATOR 2.0 a 150 °C durante 20 minutos. Después del enfriamiento a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se diluyó con etanol/agua. Los sólidos insolubles se retiraron por filtración y el filtrado se concentró al vacío para obtener un residuo en bruto. El material en bruto se purificó por cromatografía instantánea en un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando acetato de etilo al 0-80 % en hexano para dar 1-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)fenil)etanona como un sólido de color amarillo. RMN ¹H (Metanol-d₄) sal de TFA: δ 8,69 (d, 2H), 8,30 (d, 1H), 7,80 (d, 2H), 7,38 (s, 1H), 7,36 (d, 1H), 7,28 (d, 2H), 3,25 (t, 2H), 3,13 (t, 2H), 2,47 (s, 3H), 2,45 (s, 3H). LRMS [M+H] = 356,2

Ejemplo 172

2-(4-((dimetilamino)metil)fenetil)-8-metilbenzo[f][1,7]-naftiridin-5-amina

Paso 1: 4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)benzaldehído

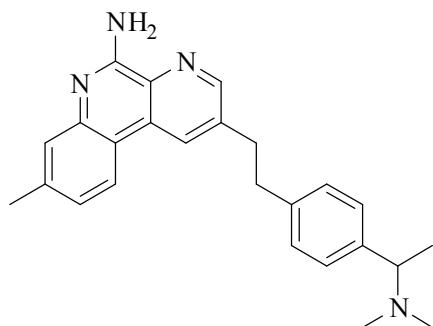
- 35 Se preparó 4-(2-(5-Amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)benzaldehído a partir de 4-etinilbenzaldehído (comercialmente disponible) siguiendo los procedimientos descritos para el Ejemplo 171 / Pasos 1 a 3.

Paso 2:2-(4-(dimetilamino)metil)fenetil)-8-metilbenzo[f][1,7]-naftiridin-5-amina

Una solución de 4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)benzaldehído (del paso previo) (1 equiv), acetato de sodio (3,5 equiv) y clorhidrato de N,N'-dimetilamina (3,5 equiv) disuelta en 1,2, dicloroetano (0,04 M) se calentó a 80 °C durante 2 horas en un frasco sellado. Después del enfriamiento a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se enfrió adicionalmente a 0 °C y se añadió por hidruro de tri-acetoxi sódico (1,25 equiv). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante una hora. La mezcla se diluyó con acetato de etilo y agua. Las dos fases se separaron, y la capa acuosa se extrajo dos veces con acetato de etilo. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO₄ anhídrico, y se concentraron al vacío. El material en bruto se purificó por HPLC preparativa usando acetónitrilo al 10-90 %/agua como el gradiente y se aisló 2-(4-((dimetilamino)metil)fenetil)-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina como un polvo de color blanquecino como una sal de TFA. RMN ¹H (Metanol-d₄) Sal de TFA: δ 8,83 (s, 1H), 8,81 (s, 1H), 8,41 (d, 1H), 7,52 (s, 1H), 7,45 (d, 1H), 7,43 (s, 1H), 7,40 (m, 3H), 4,29 (s, 2H), 3,30-3,24 (m, 4H), 2,79 (s, 6H), 2,60 (s, 3H). LRMS [M+H] = 371,2

Ejemplo 173

2-(4-(1-(dimetilamino)etil)fenetil)-8-metilbenzo[f][1,7]-naftiridin-5-amina

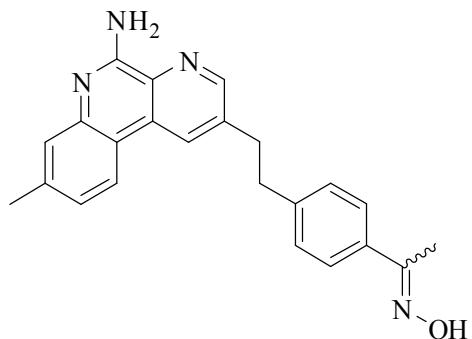


15

Se preparó 2-(4-(1-(dimetilamino)etil)fenetil)-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina a partir de 1-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)fenil)etanona (de Ejemplo 171) siguiendo los procedimientos descritos para Ejemplo 172/Paso 2. RMN ¹H (Metanol-d₄) sal de TFA: δ 8,84 (s, 1H), 8,79 (s, 1H), 8,40 (d, 1H), 7,52 (s, 1H), 7,44 - 7,46 (m, 2H), 7,38-7,42 (m, 3H), 4,45 (m, 1H), 3,31 (t, 2H), 3,19 (t, 2H), 2,83 (s, 3H), 2,66 (s, 3H), 2,56 (s, 3H), 1,70 (d, 3H). LRMS [M+H] = 385,2

Ejemplo 174

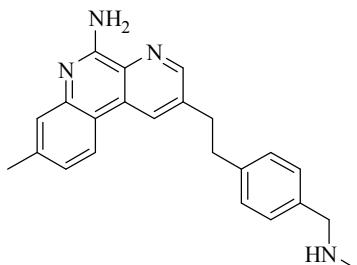
1-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-fenil)etanona-oxima



Una solución de 1-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)fenil)etanona (de Ejemplo 171) (1 equiv.), clorhidrato de hidroxilamina (2 equiv.) y 1 gota de HOAc, disuelto en etanol absoluto (0,028 M) se agitó a temperatura ambiente durante 1,5 horas. La mezcla se diluyó con acetato de etilo y agua. Las dos fases se separaron, y la capa acuosa se extrajo dos veces con acetato de etilo. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO₄ anhídrico, y se concentraron al vacío. El material en bruto se purificó por cromatografía instantánea en un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando acetato de etilo al 10-80 % en hexano para dar 1-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)fenil)etanona-oxima como un sólido de color blanco. RMN ¹H (Metanol-d₄) δ 8,56 (s, 1H), 8,52 (s, 1H), 8,12 (d, 1H), 7,45 (d, 2H), 7,31 (s, 1H), 7,12 (m, 3H), 4,51 (s, OH), 3,15 (t, 2H), 3,01 (t, 2H), 2,39 (s, 3H), 2,09 (s, 3H). LRMS [M+H] = 371,2

Ejemplo 175

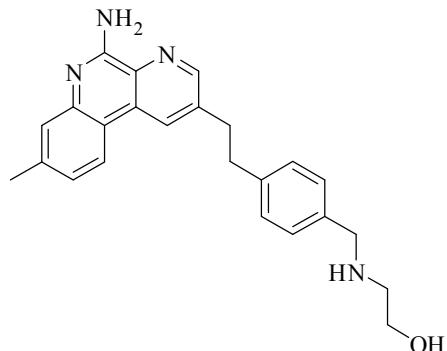
8-metil-2-(4-((metilamino)metil)fenetil)benzo[f][1,7]-naftiridin-5-amina



- 5 Se preparó 8-metil-2-(4-((metilamino)metil)fenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-5-amina a partir de 4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)benzaldehído (de Ejemplo 172/Paso 1) y metilamina siguiendo los procedimientos descritos para Ejemplo 172, paso 2. RMN ^1H (Acetona-d₆) sal de TFA: δ 8,95 (s, 1H), 8,88 (s, 1H), 8,43 (d, 1H), 7,58 (s, 1H), 7,54 (d, 2H), 7,42 (d, 1H), 7,37 (d, 2H), 4,30 (s, 2H), 3,32-3,37 (m, 4H), 2,75 (s, 3H), 2,55 (s, 3H). LRMS [M+H]⁺ = 357,2

Ejemplo 176

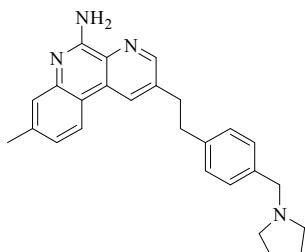
10 (4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-bencilamino)etanol



- 15 Una solución de 4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)benzaldehído (de Ejemplo 172/Paso 1) (1equiv.), etanol amina (8 equiv.) y 1 gota de HOAc, disuelto en etanol absoluto (0,018 M) se agitó a 80 °C durante 2 horas. La mezcla se enfrió a 0 °C y se añadió NaBH₄ (3,5 equiv) y la mezcla de reacción se agitó durante otra hora a temperatura ambiente. La mezcla se diluyó con acetato de etilo y agua. Las dos fases se separaron, y la capa acuosa se extrajo dos veces con acetato de etilo. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO₄ anhidro, y se concentraron al vacío. El material en bruto se purificó por HPLC Preparativa en un sistema 19x50 mm ATLANTIS® 10 micrones C18 (Waters Corp.) usando Acetonitrilo al 10-90 % (TFA al 0,035 %) en Agua (TFA al 0,05 %) para dar un sólido de color amarillo claro como una sal de TFA. RMN ^1H (Acetona-d₆) sal de TFA: δ 8,82 (s, 1H), 8,75 (s, 1H), 8,30 (d, 1H), 7,44 (m, 3H), 7,28 (d, 1H), 7,21 (d, 2H), 4,22 (s, 2H), 3,72 (t, 2H), 3,22 (t, 2H), 3,09 (m, 2H), 3,07 (t, 2H), 3,01 (s a, OH), 2,41 (s, 3H), LRMS [M+H]⁺ = 387,2

Ejemplo 177

8-metil-2-(4-(pirrolidin-1-ilmetil)fenetil)benzo[f][1,7]-naftiridin-5-amina

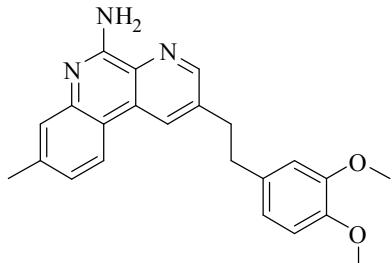


- 25 Se preparó 8-metil-2-(4-(pirrolidin-1-ilmetil)fenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-5-amina a partir de 4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)benzaldehído (de Ejemplo 172/Paso 1) y pirrolidina siguiendo los procedimientos descritos para Ejemplo 172, paso 2. RMN ^1H (Acetona-d₆) sal de TFA: δ 8,88 (s, 1H), 8,82 (s, 1H), 8,82 (s, 1H), 8,43 (d, 1H), 8,38 (d, 1H), 7,58 (s, 1H), 7,51 (m, 1H), 7,33 (d, 2H), 4,16 (s, 2H), 3,32-3,38 (m, 4H), 2,55 (s, 3H), 2,20-2,32

(m, 4H), 1,90-1,99 (m, 4H). LRMS [M+H] = 397,2

Ejemplo 178

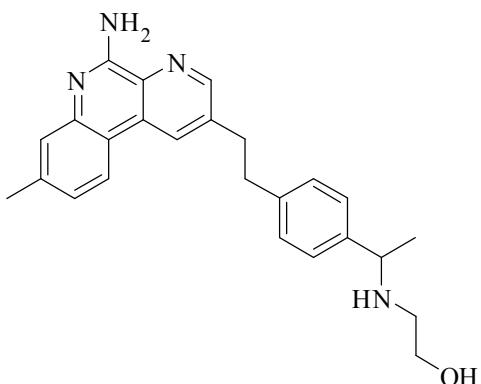
2-(3,4-dimetoxifenetil)-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina



- 5 Se preparó 2-(3,4-dimetoxifenetil)-8-metilbenzo-[f][1,7]naftiridin-5-amina a partir de 4-etinil-1,2-dimetoxibenceno (comercialmente disponible) siguiendo los procedimientos descritos para Ejemplo 45/Pasos 1 a 3. RMN ^1H (Acetona- d_6) δ 8,64 (s, 1H), 8,56 (s, 1H), 8,14 (d, 1H), 7,29 (s, 1H), 7,03 (d, 1H), 6,77 (s, 1H), 6,71 (s, 1H), 6,62 (d, 1H), 6,45 (s a, 2H), 3,62 (s, 6H), 3,12 (t, 2H), 2,94 (t, 2H), 2,33 (s, 3H). LRMS [M+H] = 374,2

Ejemplo 179

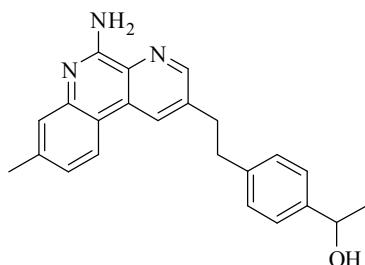
10 2-(1-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)fenil)etilamino)etanol



- 15 Se preparó 2-(1-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f]-[1,7]naftiridin-2-il)etil)fenil)etilamino)etanol (de Ejemplo 171) a partir de 1-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f]-[1,7]naftiridin-2-il)etil)fenil)etanona y etanol-amina (comercialmente disponible) siguiendo los procedimientos descritos para Ejemplo 176. RMN ^1H (Acetona- d_6) sal de TFA: δ 8,78 (d, 1H), 8,29 (d, 1H), 7,83 (s, 1H), 7,45 (m, 3H), 7,28 (m, 3H), 4,22 (m, 1H), 3,52 (m, 2H), 3,23 (t, 2H), 3,09 (t, 2H), 2,85 (m, 1H), 2,65 (m, 1H), 2,41 (s, 3H), 1,61 (d, 3H). LRMS [M+H] = 401,2

Ejemplo 180

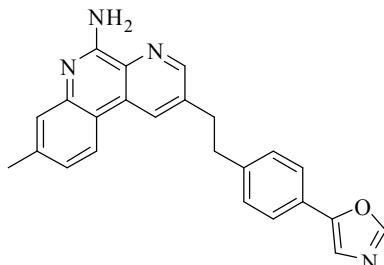
1-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-fenil)etanol



- 20 Se aisló 1-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]-naftiridin-2-il)etil)fenil)etanol (de Ejemplo 171) como un producto secundario durante la aminación reductiva como se muestra en el Ejemplo 173. RMN ^1H (Acetona- d_6) sal de TFA: δ 8,90 (s, 1H), 8,88 (s, 1H), 8,42 (d, 1H), 7,57 (s, 1H), 7,43 (d, 1H), 7,33 (d, 2H), 7,26 (d, 2H), 4,82 (q, 1H), 3,32 (t, 2H), 3,17 (t, 2H), 3,01 2,55 (s, 3H), 1,41 (s, 3H). LRMS [M+H] = 358,2

Ejemplo 181

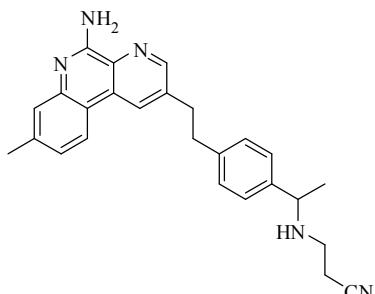
8-metil-2-(4-(oxazol-5-il)fenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-5-amina



- 5 Se preparó 8-metil-2-(4-(oxazol-5-il)fenetil)-benzo[f][1,7]naftiridin-5-amina a partir de 5-(4-etinilfenil)oxazol (comercialmente disponible) siguiendo los procedimientos descritos para Ejemplo 45/Pasos 1 a 3. RMN ^1H (Acetona-d₆) sal de TFA: 8,69 (s, 1H), 8,59 (s, 1H), 8,16 (d, 1H), 8,04 (s, 1H), 7,55 (m, 2H), 7,38 (s, 1H), 7,28 (m, 2H), 7,01 (m, 2H), 3,16 (t, 2H), 3,07 (t, 2H), 2,33 (s, 3H). LRMS [M+H] = 381,2

Ejemplo 182

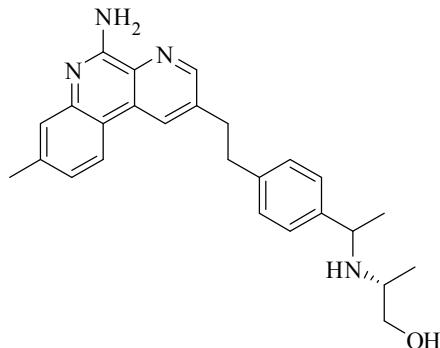
3-(1-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)fenil)etilamino)propanenitrilo



- 10 Una solución de 1-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo-[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)fenil)etanona (de Ejemplo 171) (1 equiv), 3-aminopropano nitrilo (comercialmente disponible) (2,5 equiv) disuelto en etanol absoluto (0,014 M) se agitó a 80 °C durante 2 horas. La mezcla se enfrió a 0 °C y se añadió NaCNBH₃ (2 equiv) y la mezcla de reacción se agitó durante otra hora a temperatura ambiente. La mezcla se diluyó con acetato de etilo y cloruro de amonio. Las dos fases se separaron, y la capa acuosa se extrajo dos veces con acetato de etilo. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO₄ anhídrico, y se concentraron al vacío. El material en bruto se purificó por HPLC Preparativa en un sistema 19x50 mm ATLANTIS® 10 micrones C18 (Waters Corp.) usando Acetonitrilo al 10-90 % (TFA al 0,035 %) en Agua (TFA al 0,05 %) para dar 3-(1-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)fenil)etilamino)propanenitrilo como un sólido de color amarillo claro como una sal de TFA. RMN ^1H (Acetona-d₆) δ 8,60 (s, 1H), 8,59 (s, 1H), 8,11 (d, 1H), 7,29 (s, 1H), 7,16 (d, 2H), 7,09 (d, 2H), 7,03 (d, 1H), 6,43 (s a, 2H), 3,65 (m, 1H), 3,12 (t, 2H), 2,99 (t, 2H), 2,56 (m, 2H), 2,35 (m, 2H), 2,32 (s, 3H), 1,16 (d, 3H). LRMS [M+H] = 410,2

Ejemplo 183

(2R)-2-(1-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)fenil)etilamino)propan-1-ol

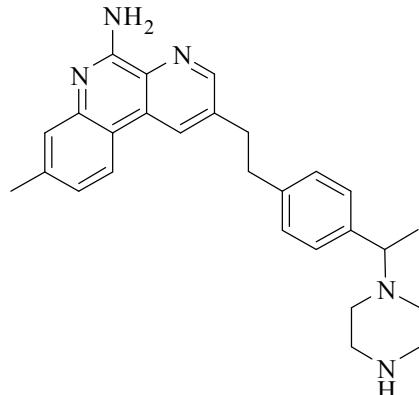


- 25 Se preparó (2R)-2-(1-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo-[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)fenil)etilamino)propan-1-ol a partir de 1-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)fenil)etanona (de Ejemplo 171) y (R)-2-aminopropan-1-ol (comercialmente disponible) siguiendo los procedimientos descritos para Ejemplo 182. RMN ^1H (Acetona-d₆) δ 8,94

(m, 2H), 8,45 (m, 1H), 7,64 (d, 2H), 7,59 (s, 1H), 7,55 (a s, 2H), 7,41 (m, 3H), 4,65 (m, 1H), 3,81 (m, 1H), 3,35 (t, 2H), 3,25 (t, 2H), 2,56 (s, 3H), 1,73 (m, 3H), 1,29 (d, 3H), 1,23 (d, 3H). LRMS [M+H] = 415,2

Ejemplo 184

8-metil-2-(4-(1-(piperazin-1-il)etil)fenetil)benzo[f][1,7]-naftiridin-5-amina



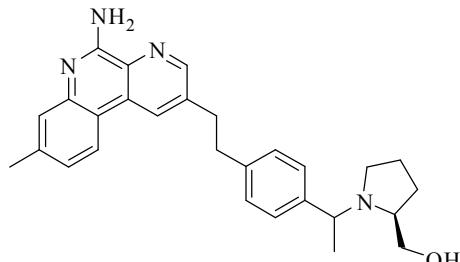
5

Se preparó 8-metil-2-(4-(1-(piperazin-1-il)etil)fenetil)benzo[f][1,7]-naftiridin-5-amina a partir de 1-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]-naftiridin-2-il)etil)fenil)-etanona (de Ejemplo 171) y piperazina (comercialmente disponible) siguiendo los procedimientos descritos para Ejemplo 182. RMN ¹H (Metanol-d₄) sal de TFA: δ 8,83 (s, 1H), 8,75 (s, 1H), 8,39 (d, 1H), 7,51 (s, 1H), 7,46 (d, 1H), 7,26 (m, 4H), 3,62 (m, 1H), 3,25 (t, 2H), 3,12 (t, 2H), 2,80 (m, 4H), 2,69 (m, 4H), 2,56 (s, 3H), 1,42 (d, 3H). LRMS [M+H] = 426,2

10

Ejemplo 185

((2S)-1-(1-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]-naftiridin-2-il)etil)fenil)etil)pirrolidin-2-il)metanol



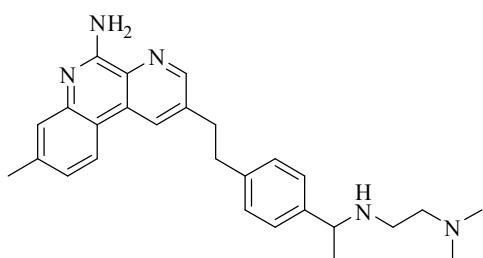
15

Se preparó ((2S)-1-(1-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]-naftiridin-2-il)etil)fenil)etil)pirrolidin-2-il)-metanol a partir de 1-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]-naftiridin-2-il)etil)fenil)-etanona (de Ejemplo 171) y (S)-pirrolidin-2-ilmetanol (comercialmente disponible) siguiendo los procedimientos descritos para Ejemplo 182. RMN ¹H (Acetona-d₆) sal de TFA: δ 8,83 (s, 1H), 8,80 (s, 1H), 8,43 (d, 1H), 7,36-7,53 (m, 6H), 4,68 (m, 1H), 3,69 (m, 2H), 3,19-3,21 (m, 4H), 2,55 (m, 4H), 1,75-1,78 (m, 6H), 1,74 (d, 3H). LRMS [M+H] = 441,2

Ejemplo 186

20

N¹-(1-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]-naftiridin-2-il)etil)fenil)etil)-N²,N²-dimetiletano-1,2-diamina

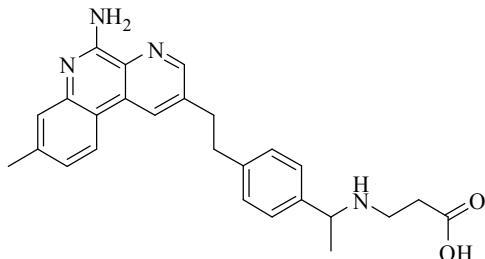


25

Se preparó N¹-(1-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]-naftiridin-2-il)etil)fenil)etil)-N²,N²-dimetiletano-1,2-diamina a partir de 1-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]-naftiridin-2-il)etil)fenil)-etanona (de Ejemplo 171) y N¹,N¹-dimetiletano-1,2-diamina (comercialmente disponible) siguiendo los procedimientos descritos para Ejemplo 182. RMN ¹H (Acetona-d₆) sal de TFA: δ 8,85 (m, 2H), 8,43 (d, 1H), 7,52 (s, 1H), 7,48 (m, 2H), 7,40 (m, 2H), 6,69 (m, 1H), 4,39 (m, 1H), 3,42 (m, 2H), 3,18-3,25 (m, 6H), 2,87 (s, 6H), 2,56 (s, 3H), 1,69 (d, 3H). LRMS [M+H] = 428,2

Ejemplo 187

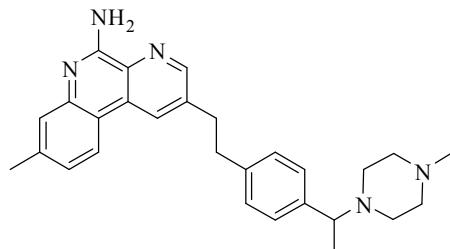
ácido 3-(1-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)fenil)etilamino)propanoico



Una solución de 1-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo-[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)fenil)etanona (de Ejemplo 171) (1 equiv),
 5 ácido 3-aminopropanoico (comercialmente disponible) (5 equiv), trietilamina (3 equiv) disuelto en etanol absoluto
 (0,042 M) se agitó a 50 °C durante 3 horas. La mezcla se enfrió a 0 °C y se añadió NaCNBH₃ (1 equiv) y la mezcla
 10 de reacción se agitó durante otras seis horas a temperatura ambiente. Entonces, se añadió otro equivalente de
 NaCNBH₃ y la mezcla de reacción se agitó a 50 °C durante otra hora. Después del enfriamiento a temperatura
 15 ambiente, la mezcla de reacción se diluyó con acetato de etilo y cloruro de amonio saturado. Las dos fases se
 separaron, y la capa acuosa se extrajo dos veces con acetato de etilo. Las capas orgánicas combinadas se lavaron
 con salmuera, se secaron sobre MgSO₄ anhidro, y se concentraron al vacío. El material en bruto se purificó por
 HPLC Preparativa en un sistema 19x50 mm ATLANTIS® 10 micrones C18 (Waters Corp.) usando Acetonitrilo al 10-
 90 % (TFA al 0,035 %) en Agua (TFA al 0,05 %) para dar ácido 3-(1-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f]-[1,7]naftiridin-2-
 il)etil)fenil)etilamino)propanoico como un sólido de color blanco como una sal de TFA. RMN ¹H (Metanol-d₄) sal de
 TFA: δ 88,74 (s, 1H), 8,42 (d, 1H), 7,66 (m, 2H), 7,50 (m, 1H), 7,31 (d, 2H), 7,23 (m, 2H), 4,24 (m, 1H), 3,21 (t, 2H),
 3,14 (t, 2H), 2,75-3,10 (m, 2H), 2,51 (t, 2H), 2,10 (s, 3H), 1,55 (d, 3H). LRMS [M+H] = 429,2

Ejemplo 188

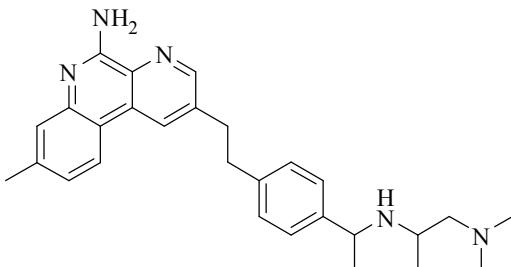
8-metil-2-(4-(1-(4-metilpiperazin-1-il)etil)fenetil)benzo-[f][1,7]naftiridin-5-amina



20 Se preparó 8-metil-2-(4-(1-(4-metilpiperazin-1-il)etil)fenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-5-amina a partir de 1-(4-(2-(5-amino-
 8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)fenil)etanona (de Ejemplo 171) y 1-metilpiperazina (comercialmente disponible)
 siguiendo los procedimientos descritos para Ejemplo 182. RMN ¹H (Acetona-d₆) sal de TFA: δ 8,84 (s, 1H), 8,80 (s,
 1H), 8,41 (d, 1H), 7,52 (s, 1H), 7,42-7,46 (m, 3H), 7,36-7,38 (m, 2H), 3,53 (m, 1H), 3,18 (m, 2H), 3,12 (m, 2H), 2,92
 (s, 2H), 2,66 (s, 2H), 2,56 (s, 2H), 2,16 (s, 3H), 1,99 (m, 2H), 1,69 (d, 3H), 1,30 (s, 3H). LRMS [M+H] = 440,2

Ejemplo 189

N²-(1-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)-etil)fenil)etil)-N¹,N¹-dimetilpropano-1,2-diamina

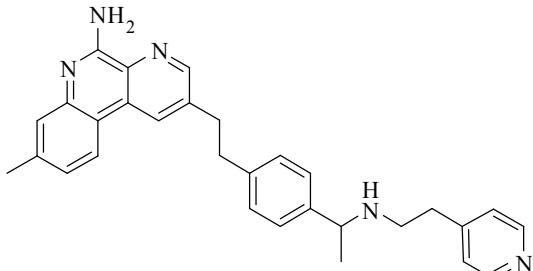


30 Se preparó N²-(1-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f]-[1,7]naftiridin-2-il)etil)fenil)etil)-N¹,N¹-dimetilpropano-1,2-diamina a
 partir de 1-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f]-[1,7]naftiridin-2-il)etil)fenil)etanona (de Ejemplo 171) y N¹,N¹-
 dimetilpropano-1,2-diamina (comercialmente disponible) siguiendo los procedimientos descritos para Ejemplo 182.
 RMN ¹H (Acetona-d₆) sal de TFA: δ 8,83 (m, 2H), 8,40 (d, 1H), 7,46-7,51 (m, 3H), 7,43 (m, 1H), 7,37 (d, 2H), 4,54

(m, 1H), 3,74 (m, 1H), 3,19 (m, 4H), 2,90 (s, 3H), 2,77 (s, 3H), 2,55 (s, 3H), 2,41 (d, 2H), 1,66 (d, 3H), 1,39 (d, 3H).
LRMS [M+H] = 442,2

Ejemplo 190

8-metil-2-(4-(1-(2-(piridin-4-il)etilamino)etil)fenetil)-benzo[f][1,7]naftiridin-5-amina



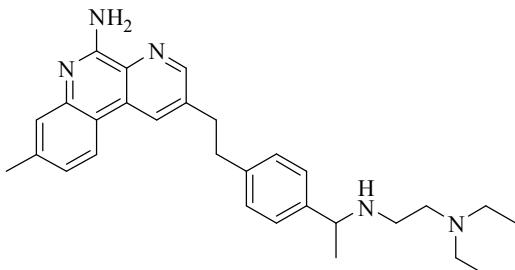
5

Se preparó 8-metil-2-(4-(1-(2-(piridin-4-il)etilamino)etil)fenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-5-amina a partir de 1-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)-etil)fenil)etanona (de Ejemplo 171) y 2-(piridin-4-il)etanamina (comercialmente disponible) siguiendo los procedimientos descritos para Ejemplo 182. RMN ¹H (Acetona-d₆) sal de TFA: δ 8,94 (m, 2H), 8,92 (d, 2H), 8,73 (s, 1H), 8,43 (d, 1H), 7,60 (m, 2H), 7,40 (m, 2H), 7,16-7,26 (m, 3H), 4,55 (m, 1H), 3,55 (m, 4H), 2,56 (m, 4H), 2,12 (s, 3H), 1,73 (d, 3H) LRMS [M+H] = 462,2

10

Ejemplo 191

N¹-(1-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)-etil)fenil)etil)-N²,N²-dietylano-1,2-diamina



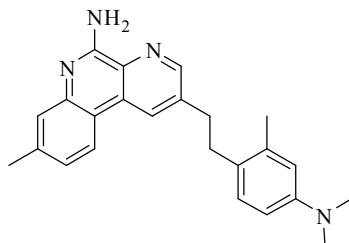
15

Se preparó N¹-(1-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)-etil)fenil)etil)-N²,N²-dietylano-1,2-diamina a partir de 1-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)-etil)fenil)etanona (de Ejemplo 171) y N¹,N¹-dietylano-1,2-diamina (comercialmente disponible) siguiendo los procedimientos descritos para Ejemplo 182. RMN ¹H (Acetona-d₆) sal de TFA: δ 8,81 (s, 1H), 8,75 (s, 1H), 8,23 (d, 1H), 7,60 (d, 2H), 7,39 (d, 2H), 7,28 (m, 2H), 4,51 (m, 1H), 3,82 (m, 1H), 3,62 (m, 1H), 3,34 (m, 4H), 3,20 (t, 2H), 2,46 (s, 3H), 2,10 (m, 4H), 1,74 (d, 3H), 1,34 (t, 6H). LRMS [M+H] = 456,2

20

Ejemplo 192

2-(4-(dimetilamino)-2-metilfenetil)-8-metilbenzo[f][1,7]-naftiridin-5-amina



Paso 1: 4-yodo-N,N,3-trimetilanilina

25

Una solución de 4-yodo-3-metilanilina (comercialmente disponible) (1 equiv), NaHCO₃ (2,5 equiv), y yodometano (2,5 equiv), en DMF ((0,2 M) se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla de reacción después se diluyó con acetato de etilo y agua. Las dos fases se separaron, y la fase acuosa se extrajo dos veces con acetato de etilo. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre sulfato de sodio, y se concentraron al vacío. El material en bruto se purificó por cromatografía instantánea en un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando acetato de etilo al 0-80 % en hexano y 4-yodo-N,N,3-trimetilanilina se aisló como un sólido de color

amarillo.

Paso 2: Síntesis de: N,N,3-trimetil-4-((trimetilsilil)-etinil)anilina

Una solución de 4-yodo-N,N,3-trimetilanilina (del paso previo) (1 equiv), etiniltrimetsilano (1,5 equiv), diclorobis(trifenilfosfina)-paladio (II) (20 % en mol), yoduro de cobre (20 % en mol) y trietilamina (0,4 M) se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla de reacción después se diluyó con acetato de etilo y solución de cloruro de amonio. Las dos fases se separaron, y la fase acuosa se extrajo dos veces con acetato de etilo. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre sulfato de sodio, y se concentraron al vacío. El material en bruto se purificó por cromatografía instantánea en un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando acetato de etilo al 0-100 % en hexano y N,N,3-trimetil-4-((trimetilsilil)etinil)-anilina se aisló como un sólido de color amarillo.

Paso 3: 4-etinil-N,N,3-trimetilanilina

Una solución de N,N-3-trimetil-4-((trimetilsilil)etinil)anilina (del paso previo) (1 equiv), K₂CO₃ (2,5 equiv), en MeOH (0,15 M) se agitó a temperatura ambiente durante seis horas. Los sólidos se filtraron completamente, y el líquido se concentró al vacío. El material en bruto se purificó por cromatografía instantánea en un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando acetato de etilo al 0-80 % en hexano y se aisló 4-etinil-N,N-3-trimetilanilina como un sólido de color amarillo.

Paso 4: 3-cloro-5-((4-(dimetilamino)-2-metilfenil)etinil)-picolinonitrilo

Una solución de 4-etinil-N,N-3-trimetilanilina (del paso previo) (1 equiv) 3,5-dicloropicolinonitrilo (1,2 equiv), diclorobis(trifenilfosfina)-paladio (II) (10 % en mol), yoduro de cobre (10 % en mol) y DMF:etrielamina (0,28 M) se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla de reacción después se diluyó con acetato de etilo y solución de cloruro de amonio. Las dos fases se separaron, y la fase acuosa se extrajo dos veces con acetato de etilo. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre sulfato de sodio, y se concentraron al vacío. El material en bruto se purificó por cromatografía instantánea en un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando acetato de etilo al 0-100 % en hexano y se aisló 3-cloro-5-((4-(dimetilamino)-2-metilfenil)etinil)picolinonitrilo como un sólido blanquecino.

Paso 5: 2-((4-(dimetilamino)-2-metilfenil)etinil)-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina

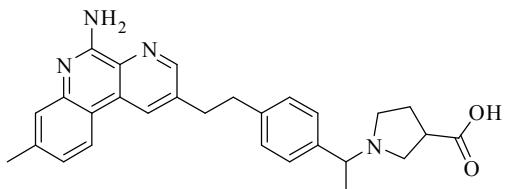
Una solución de 5-metil-2-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenilcarbamato de *terc*-butilo (1,3 equiv.) y 3-cloro-5-((4-(dimetilamino)-2-metilfenil)etinil)-picolinonitrilo (del paso previo) (1,0 equiv.), *tetraquis*(trifenilfosfina)paladio (10 % en mol), y solución acuosa de carbonato de sodio 2 N (2,0 equiv.) en tolueno/etanol (2:1, 0,17 M) se agitó a 100 °C durante la noche. Después del enfriamiento a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se diluyó con metanol. Los sólidos insolubles se retiraron por filtración, y el filtrado se concentró al vacío para obtener un residuo en bruto. El material en bruto se purificó por cromatografía instantánea en un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando acetato de etilo al 0-80 % en hexano para dar 2-((4-(dimetilamino)-2-metilfenil)etinil)-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina como un sólido de color amarillo.

Paso 6: 2-(4-(dimetilamino)-2-metilfenetil)-8-metilbenzo[f]-[1,7]naftiridin-5-amina

A una solución de 2-((4-(dimetilamino)-2-metilfenil)etinil)-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina (1 equiv), (del paso previo) en acetato de etilo/etanol (1:5, 0,035 M) se adicionó paladio al 10 % en carbono (0,2 equiv.). Mediante un globo se introdujo gas hidrógeno, y la reacción se agitó durante 3,5 horas. La mezcla se filtró a través de una lecho de celite, lavando con diclorometano. El filtrado se concentró al vacío y se purificó por HPLC preparativa en un sistema 19x50 mm ATLANTIS® 10 micrones C18 (Waters Corp.) usando Acetonitrilo al 10-90 % (TFA al 0,035 %) en Agua (TFA al 0,05 %) para dar 2-(4-(dimetilamino)-2-metilfenetil)-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina como un sólido de color blanco como una sal de TFA. RMN ¹H (Acetona-d₆) sal de TFA: δ 8,81 (s, 1H), 8,74 (s, 1H), 8,34 (d, 1H), 7,89 (s, 1H), 7,47 (m, 2H), 7,38 (m, 2H), 3,34 (s, 6H), 3,32 (t, 2H), 3,28 (t, 2H), 2,57 (s, 3H), 2,34 (s, 3H). LRMS [M+H]⁺ = 371,2

45 Ejemplo 193

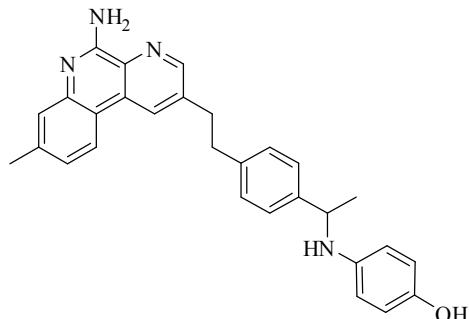
ácido 1-(1-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)fenil)etil)pirrolidina-3-carboxílico



- Se preparó ácido 1-(1-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo-[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)fenil)etil)pirrolidina-3-carboxílico a partir de 1-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f]-[1,7]naftiridin-2-il)etil)fenil)etanona (de Ejemplo 171) y ácido pirrolidina-3-carboxílico (comercialmente disponible) siguiendo los procedimientos descritos para Ejemplo 187, excepto que en este caso, se uso ácido acético en lugar de trietilamina (30 %). RMN ^1H (Acetona-d₆) sal de TFA: δ 8,81 (s, 1H), 8,75 (s, 1H), 8,70 (s, 1H), 8,28 (d, 1H), 7,59 (d, 2H), 7,37 (m, 3H), 4,46 (m, 1H), 4,21 (m 1H), 3,45 (m, 2H), 3,32 (m, 2H), 3,21 (m, 2H), 3,17 (m, 2H), 2,27 (m, 2H), 2,07 (s, 3H), 1,77 (d, 3H). LRMS [M+H] = 455,2

Ejemplo 194

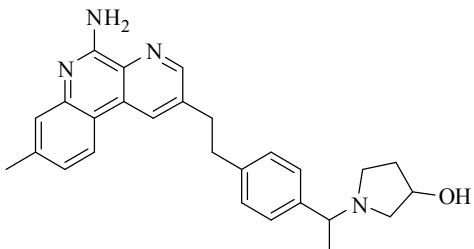
4-(1-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)-etil)fenil)etilamino)fenol



- 10 Se preparó 4-(1-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f]-[1,7]naftiridin-2-il)etil)fenil)etilamino)fenol a partir de 1-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)fenil)etanona (de Ejemplo 171) y 4-aminofenol siguiendo los procedimientos descritos para Ejemplo 187, excepto que en este caso, se uso ácido acético en lugar de trietilamina (28 %). RMN ^1H (Acetona-d₆) sal de TFA: δ 8,83 (s, 1H), 8,73 (s, 1H), 8,33 (d, 1H), 7,44 (s, 1H), 7,40 (d, 2H), 7,36 (d, 1H), 7,24 (d, 2H), 7,10 (d, 2H), 6,76 (d, 2H), 4,72 (m, 1H), 3,27 (t, 2H), 3,12 (t, 2H), 2,50 (s, 3H), 2,06 (d, 3H). LRMS [M+H] = 449,2

Ejemplo 195

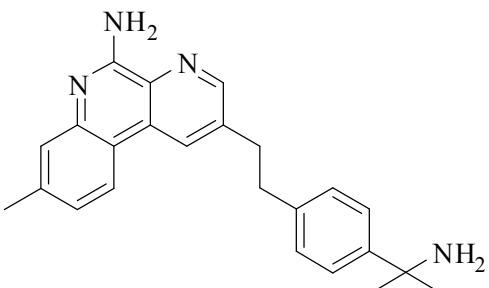
1-(1-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)-etil)fenil)etil)pirrolidin-3-ol



- 20 Se preparó 1-(1-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f]-[1,7]naftiridin-2-il)etil)fenil)etil)pirrolidin-3-ol a partir de 1-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)fenil)etanona (de Ejemplo 171) y pirrolidin-3-ol siguiendo los procedimientos descritos para Ejemplo 187, excepto que en este caso, se uso ácido acético en lugar de trietilamina (20 %). RMN ^1H (Acetona-d₆) sal de TFA: δ 8,83 (s, 1H), 8,76 (s, 1H), 8,72 (s, 1H), 8,29 (d, 1H), 7,57 (s, 1H), 7,42 (s, 1H), 7,33-7,38 (m, 3H), 4,41 (m, 2H), 3,77 (m, 2H), 3,33 (t, 2H), 3,21 (t, 2H), 3,19 (m, 2H), 3,10 (m, 2H), 2,10 (s, 3H), 1,75 (d, 3H). LRMS [M+H] = 427,2

Ejemplo 196

25 2-(4-(2-aminopropan-2-il)fenetil)-8-metilbenzo[f][1,7]-naftiridin-5-amina

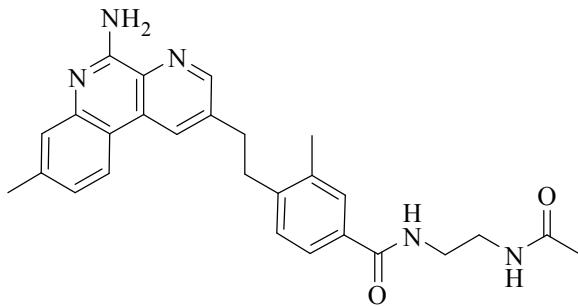


A una solución de 4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f]-[1,7]naftiridin-2-il)etil)benzonitrilo (de Ejemplo 64, paso 1) (1 equiv), disuelto en THF seco (0,029 M) se añadió muy lentamente bromuro de metil-magnesio (6 equiv) y la mezcla de

reacción se agitó a temperatura ambiente durante media hora. Entonces se añadió al matraz de reacción tetraisopropóxido de titanio (3 equiv) durante diez minutos. La mezcla de reacción se sometió a refluo durante 16 horas. Después del enfriamiento a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se diluyó con acetato de etilo y cloruro de amonio saturado. Las dos fases se separaron, y la capa acuosa se extrajo dos veces con acetato de etilo. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre $MgSO_4$ anhidro, y se concentraron al vacío. El material en bruto se purificó por HPLC Preparativa en un sistema 19x50 mm ATLANTIS® 10 micrones C18 (Waters Corp.) usando Acetonitrilo al 10-90 % (TFA al 0,035 %) en Agua (TFA al 0,05 %) para dar 2-(4-(2-aminopropan-2-il)fenetil)-8-metil-benzo[f][1,7]naftiridin-5-amina como un sólido de color blanco de sal de TFA. RMN 1H (Metanol-d₄) sal de TFA: δ : 9,01 (s, 2H), 8,92 (s, 1H), 8,42 (s, 1H), 7,65 (d, 2H), 7,56 (s, 1H), 7,39 (m, 2H), 3,19 (m, 4H), 2,54 (s, 3H), 1,82 (6H). LRMS [M+H] = 371,2.

Ejemplo 197

N-(2-acetamidoetil)-4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]-naftiridin-2-il)etil)-3-metilbenzamida



A una solución de cloruro de 4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilbenzoilo (Ejemplo 116/Paso 2) y trietilamina (2,5 equiv.) en éter (0,05 M) se añadió N-(2-aminoetil)acetamida (5,0 equiv.). La mezcla de reacción se agitó durante la noche. Entonces la mezcla de reacción se diluyó con acetato de etilo y agua. Las dos fases se separaron, y la capa acuosa se extrajo dos veces con acetato de etilo. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre $MgSO_4$ anhidro, y se concentraron al vacío. El material en bruto se purificó por cromatografía instantánea en un sistema COMBIFLASH® (ISCO) usando acetato de etilo al 0-80 % en hexano para dar N-(2-acetamidoetil)-4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilbenzamida como un sólido de color blanco. RMN 1H ($CDCl_3$): δ 8,61 (s, 1H), 8,38 (s, 1H), 8,07 (d, 1H), 7,65 (s, 1H), 7,51-7,56 (m, 2H), 7,10-7,16 (m, 2H), 6,25 (a, 2H), 3,50-3,59 (m, 4H), 3,08-3,16 (m, 4H), 2,62 (s, 3H), 2,52 (s, 3H), 2,35 (s, 3H). LRMS [M+H] = 455,2.

Otros compuestos para llevar a cabo la presente invención incluyen: 2-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina; 2-propilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina; 2-(3-metoxifenetil)benzo[f][1,7]-naftiridin-5-amina; 8-metil-2-fenetilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina; 5-aminobenzo[f][1,7]naftiridina-3-carboxilato de metilo; (5-aminobenzo[f][1,7]naftiridin-3-il)metanol; 2-(2-metilfenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-5-amina; 2-(3-metilfenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-5-amina; 2-(4-metilfenetil)-benzo[f][1,7]naftiridin-5-amina, 8-metil-2-(2-naftalen-1-il)-etil)benzo[f][1,7]naftiridin-5-amina; 8-metil-2-(2-naftalen-2-il)etil)benzo[f][1,7]naftiridin-5-amina; ácido 4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-benzoico; ácido 3-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)benzoico; 2-(3-clorofenetil)-8-metilbenzo-[f][1,7]naftiridin-5-amina; 2-(2-clorofenetil)-8-metilbenzo-[f][1,7]naftiridin-5-amina; (3-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)fenil)metanol; 2-(4-clorofenetil)-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina; 2-(4-butilfenetil)-benzo[f][1,7]naftiridin-5-amina; 2-(4-butilfenetil)-8-metil-benzo[f][1,7]naftiridin-5-amina; 2-(4-propilfenetil)benzo-[f][1,7]naftiridin-5-amina; 2-(4-(trifluorometil)fenetil)-benzo[f][1,7]naftiridin-5-amina; 2-(2,5-dimetilfenetil)-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina; 8-metil-2-(4-propil-fenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-5-amina; 8-metil-2-(2,4,5-trimetilfenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-5-amina; 2-(2,5-dimetilfenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-5-amina; 2-(4-isopropilfenetil)-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina; 2-(4-heptilfenetil)-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina; 2-(4-isobutoxifenetil)-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina; 2-(4((2-metoxietoxi)metoxi)fenetil)-8-metilbenzo[f][1,7]-naftiridin-5-amina; 8-metil-2-(4-(2-phenoxietoxi)fenetil)-benzo[f][1,7]naftiridin-5-amina; 8-metil-2-(4-fenilbutoxi)fenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-5-amina; 2-(4-(ali-loxi)fenetil)-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina; 8-metil-2-(4-(3-fenilpropoxi)fenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-5-amina; 2-(4-(heptan-4-iloxy)fenetil)-8-metilbenzo[f][1,7]-naftiridin-5-amina; 8-metil-2-(4-(4-metilpent-3-eniloxi)fenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-5-amina; 2-(4-(2-ciclohexil-etoxi)fenetil)-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina; 2-(4-isopropoxifenetil)-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina; 2-(4-(2-dimetilbutoxi)fenetil)-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina; 8-(2-ciclopipiletil)-2-(4-(dimetilamino)fenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-5-amina; 8-(2-ciclopipiletil)-2-(2,4-dimetilfenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-5-amina; N-(4-(2-(5-aminobenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)fenil)-acetamida; N-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)fenil)-4-metilbencenosulfonamida; 3-metil-9-p-tolil-9,10-dihidrobenzo[f]furo[2,3-b][1,7]naftiridin-6-amina; 4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)-etil)-3-metilbenzonitrilo; 4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-N-(2-aminoetil)-3-metilbenzamida; 8-metil-2-(2-metil-4-(1H-tetrazol-5-il)fenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-5-amina; 2-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilbenzamido)-4-metilpenta-noato de metilo; 2-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilbenzamido)acetato de metilo; ácido 2-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilbenzamido)-4-metilpentanoico; ácido 2-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metil-benzamido)acético; 6-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)hexan-1-

ol; ácido 7-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)heptanoico; 11-(5-amino-8-metilbenzo-[f][1,7]naftiridin-2-il)undecan-1-ol; 2-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)-acetato de etilo; ácido 2-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)acético; ácido 3-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)propanoico; ácido 6-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo-[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)hexanoico; 8-metil-2-(2-metil-4-metiltio)fenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-5-amina; 8-metil-2-(4-(metilsulfonil)fenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-5-amina; 2-(4-(hexiloxi)fenetil)-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina; 8-metil-2-(4-fenetoxyfenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-5-amina; 8-metil-2-(4-(pentiloxi)fene-til)benzo[f][1,7]naftiridin-5-amina; 8-metil-2-(4-(4-metil-pentiloxi)fenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-5-amina; 2-(2-fluorofenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-5-amina; 2-(3-fluoro-fenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-5-amina; 2-(4-fluorofene-til)benzo[f][1,7]naftiridin-5-amina; 2-(2-(tiofen-3-il)etil)benzo[f][1,7]naftiridin-5-amina; (5-aminobenzo[f][1,7]-naftiridin-2-il)metanol; 2-(3,4-dimetilfenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-5-amina; 2-(3,4-dimetilfenetil)-8-metil-benzo[f][1,7]naftiridin-5-amina; 2-(3,5-dimetilfenetil)-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina; 2-(2-(benzofuran-5-il)etil)-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina; 8-metil-2-(2-nitroetil)benzo[f][1,7]naftiridin-5-amina; 2-(amino-metil)-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina; N²,8-dimetilbenzo[f][1,7]naftiridine-2,5-diamina; 2-(5-amino-8-metil-benzo[f][1,7]naftiridin-2-il)-1-feniletanol; 2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)-1-(4-metoxifenil)etanol; 2-(bifenil-2-il)-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina; 2-(2-(2,6-dimetilpiridin-3-il)etil)-8-metilbenzo[f][1,7]naft-iridin-5-amina; 2-(2-(5-metoxipiridin-2-il)etil)-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina; ácido 3-(4-(2-(5-amino-8-metil-benzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)fenil)propanoico; 5-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-4-metilpiridin-2(1H)-ona; 6-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)piridin-3-ol; 8-metil-2-(4-(trifluoro-metoxi)fenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-5-amina; 2-(2-(2,3-dihidro-1H-inden-5-il)etil)-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina; 2-(2-(2,3-dihidro-1H-inden-5-il)etil)-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina; (E)-3-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo-[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenil)acrílico; (E)-8-(2-ciclopropilvinil)-2-fenetilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina; 8-pentilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina; (E)-8-(2-ciclopropilvinil)benzo[f][1,7]naftiridin-5-amina; 8-(2-ciclopropiletil)-2-fenetilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina; 3-(2-(5-aminobenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)fenol; 2-(2-metoxifenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-5-amina; 2-(4-etyl-fenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-5-amina; 2-(4-etylfenetil)-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina; 2-(4-(dimetilamino)-fenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-5-amina; 2-(4-(piperidin-1-il)fenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-5-amina; 2-(4-terc-butil-fenetil)-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina; 8-metil-2-(4-(piperidin-1-il)fenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-5-amina; 2-(4-metoxifenetil)-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina; 8-metil-2-(2-(trifluorometil)fenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-5-amina; 4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)benzonitrilo; 8-metil-2-(4-(1-morfolinoetil)fenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-5-amina; 2-(4-aminofenetil)-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina; 1-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)fenil)guanidina; 8-metil-2-(4-(1-fenetilamino)-etil)fenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-5-amina; 2-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)fenil)aceto-nitrilo; 2-(4-(piperidin-1-ilmetil)fenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-5-amina; 1-(4-(2-(5-aminobenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)benzil)piperidin-4-ol; 2-(4-(aminometil)fenetil)-benzo[f][1,7]naftiridin-5-amina; 2-(4-(ethylamino)metil)fenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-5-amina; 2-(4-(2-aminopro-pan-2-il)fenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-5-amina; ácido 1-(1-(4-(2-(5-aminobenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)fenil)-etyl)-pirrolidina-3-carboxílico y 8-metil-2-(4-(1-fenil-amino)etil)fenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-5-amina.

Ejemplo (II): Desarrollo de una suspensión homogénea del ejemplo 47

40 Se evaluaron formulaciones de inmune potenciadores de molécula pequeña (SMIP, por sus siglas en inglés) para estabilidad y actividad como adyuvantes de vacuna o agentes immunomoduladores contra infecciones bacterianas y virales.

45 El **Ejemplo 47** es una sustancia de fármaco altamente cristalina con muy buena estabilidad química. Debido a su solubilidad acuosa extremamente baja a través del intervalo completo de pH (< 0,5 µg/ml) y su estructura de núcleo altamente hidrófoba, es desafiante la formulación con Alumbre (el único adyuvante de vacuna autorizado en los Estados Unidos de América). Sin embargo, las vacunas basadas en agonista de TLR7-Alumbre proporcionan ventajas, por ejemplo, inducción de respuesta polarizada de Th1, y actividad Bactericida sérica mejorada (SBA, por sus siglas en inglés) y alcance de cobertura (por ejemplo, MenB).

50 Este ejemplo describe el desarrollo de una suspensión homogénea estable y reproducible del ejemplo 47 como un vehículo para distribuir la molécula *in vivo*, con tamaños de partícula en el intervalo de micrones.

Evaluación de agentes tensioactivos, agentes de suspensión y procedimientos de homogenización

Se evaluaron varios procedimientos de homogenización, incluyendo procedimiento de vórtice, de ultrasonido y de mortero y pistilo.

55 Para el vórtice, el **Ejemplo 47** se suspendió a 2,5 mg/ml en Tween 80 al 0,1 % y carboximeticelcelulosa (CMC) al 0,5 %, seguido por el vórtice. El tamaño promedio de partícula fue ~100 µm.

Para el tratamiento con ultrasonido, el **Ejemplo 47** se suspendió a 2,5 mg/ml en Tween 80 al 0,1 % y CMC al 0,5 % seguido por el vórtice. La mezcla después se sometió a ultrasonido durante 5 minutos (con hielo a 3 W, potencia máxima en base al tamaño del frasco). Finalmente, la mezcla se homogenizó por un homogeneizador portátil durante unos pocos minutos. El tamaño promedio de partícula fue ~80 µm.

En el procedimiento de mortero y pistilo, se molieron 10 mg del **Ejemplo 47** durante 5 minutos usando el mortero y pistilo, después se suspendió en Tween 80 al 0,5 %. Se observaron dos picos de tamaño de partícula con tamaños de partícula de 0,1 µm y ~8 µm. El intervalo de tamaños para el pico más grande fue 1-100 µm.

- 5 También se evaluaron varios agentes tensioactivos y agentes de suspensión. La matriz de agentes tensioactivos y agentes de suspensión, y las correspondientes distribuciones de tamaños de las partículas de suspensión se muestran en la Tabla 1 a continuación (D50, D90 (µm)).

Tabla 1

	Tween 80 al 0,1 %	Tween 80 al 0,5 %	Pluronic F-68 al 0,5 %	Lauril-sulfato de sodio al 0,5 %
CMC al 0,5 %	76,2, 144,7	75,8, 149,1	49,1, 104,4	28,0, 53,3
HPMC al 0,5 %	25,8, 53,5	27,5, 49,7	19,4, 33,5	26,8, 59,3
HPC al 0,5 %	43,6, 68,0	35,4, 53,5	35,8, 54,9	38,9, 53,1

- 10 En cada experimento, se mezclaron 10 mg del **Ejemplo 47** con 2 ml de agente tensioactivo y 2 ml de agente de suspensión. Las mezclas se sometieron a vórtice durante 5 minutos, y se trataron con ultrasonido a 3 W y se homogeneizaron durante 2-4 minutos. Las distribuciones de tamaño de las muestras se midieron usando Mastersizer.

- 15 Se observó que todas las muestras se asientan rápidamente durante el transcurso del ultrasonido. No se observó reducción visual del tamaño después del tratamiento con ultrasonido. Se percibió visualmente alguna reducción de tamaño después de la homogenización.

Homogenización a alta presión

- 20 La evaluación de varios agentes tensioactivos y agentes de suspensión identificó una suspensión homogénea estable después de la homogenización a alta presión del **Ejemplo 47** con el agente tensioactivo Tween-80 y el agente de suspensión carboximetilcelulosa (CMC). La homogenización se llevó a cabo a alta presión en hielo durante hasta 30 minutos.

- 25 Una solución de reserva de CMC al 1 % (carboximetilcelulosa, sal sódica; sigma 419273, M5013) en agua milliQ, y solución de Tween 80 al 1 % en agua MilliQ se prepararon. El Ejemplo 47 (80 mg) cristalino se mezcló con volúmenes iguales (10 ml cada uno) de CMC al 1 % y Tween 80 al 1 % a una concentración final de compuesto de 4 mg/ml (en CMC al 0,5 % y Tween 80 al 0,5 %). La mezcla se sometió primero a vórtice completamente y se homogeneizó durante 1 minuto a 24000 rpm usando el homogeneizador IKA T-25, después se procesó a través de un homogeneizador de alta presión (Avestin Emulsifex - C3) a alta presión (103,42 MPa-137,90 Mpa (15.000-20.000 psi)) en hielo durante 20-30 minutos. Se midieron las distribuciones de tamaño de las muestras. El procedimiento de homogenización se consideró completo una vez que la distribución del tamaño de al menos aproximadamente 50 % de las partículas de suspensión tiene un diámetro (D50) de aproximadamente 2 micrómetros o menos, y al menos aproximadamente 90 % de las partículas de suspensión tiene un diámetro (D90) de aproximadamente 10 micrómetros o menos de manera preferente de aproximadamente 5 micrómetros o menos. La suspensión homogeneizada se almacenó a 4 °C.

- 30 35 40 Las suspensiones homogéneas del **Ejemplo 47** se reprodujeron independientemente en dos ubicaciones separadas ("Suspensión S" y "Suspensión C") usando los mismos protocolos. Las suspensiones homogéneas del **Ejemplo 47** (creadas bajo alta presión) tienen tamaños de partícula en el intervalo de µm, como se mide por un clasificador de tamaño Horiba. Las distribuciones del tamaño de partícula de las dos suspensiones son muy similares. Adicionalmente, las suspensiones mostraron buena estabilidad con el paso del tiempo, distribución de tamaño de las partículas, como se representa por D50 y D90, no ha cambiado significativamente después de 30 días y 56 días. La Tabla 2 muestra que la Suspensión S fue estable durante 4 semanas a 4 °C (medido por clasificador de tamaño de partículas Beckman coulter).

Tabla 2: Suspensión de Ejemplo 47 fue estable durante 4 semanas a 4 °C

Tiempo después de preparación	D50 (µm)	D90 (µm)
Día 1	1,25	3,37
Día 30	1,46	5,92
Día 56	1,45	7,3

La Tabla 3 muestra que la suspensión homogénea del **Ejemplo 47** fue estable durante 12 meses a 4° C, como se mide por la distribución de tamaño.

Tabla 3: Suspensión de **Ejemplo 47** fue estable durante 12 meses a 4 °C

Tiempo después de preparación	D50 (μm)	D90 (μm)	Media (μm)
0	0,5 (0,5243)	0,9 (0,9236)	0,6 (0,5828)
1	0,6 (0,5860)	1,1 (1,1114)	0,7 (0,6676)
6	0,7 (0,6830)	1,4 (1,3556)	0,8 (0,7882)
9	0,6 (0,6493)	1,3 (1,2869)	0,8 (0,7540)
12	0,7 (0,6566)	1,4 (1,3736)	0,8 (0,7821)

5 **Ejemplo (III): Formulación de suspensión homogénea de ejemplo 47 con vacunas basadas en alumbre: efecto de adsorción de antígeno**

Meningococo B

Giuliani y col. (*Proc. Natl. Acad. Sci. EUA* 103:10834-10839 (2006)) desvelan una vacuna para el meningococo del cero grupo B ("MenB") producida de tres polipéptidos separados ("5CVMB"). Estos polipéptidos pueden adsorber hidróxido de aluminio ("Al-H"), y se usa SDS-PAGE para verificar si se presenta esta adsorción.

En este estudio, se evaluaron los efectos de formular diferentes dosis de suspensión de **Ejemplo 47** con antígenos de MenB ("5CVMB") más Al-H (3 mg/ml) ("Alumbre/3MenB"). Como se muestra en las Figuras 1A y 1B, cuando no se añadió suspensión (0 $\mu\text{g}/\text{dosis}$), los tres antígenos probados se adsorbieron completamente sobre Al-H. Conforme se incrementó la dosis de la suspensión, se desadsorbió una cantidad pequeña de antígenos del Al-H de una manera dependiente del tiempo. La Figura 1B es una tabla que muestra el porcentaje de adsorción de antígeno sobre hidróxido de aluminio. Aunque se observó alguna desorción dependiente de la dosis de los antígenos de MenB después de la formulación con la suspensión del **Ejemplo 47**, cada uno de los tres antígenos permaneció >60 % adsorbido después de 2 horas a 4 °C.

***E. coli* patógeno extraintestinal ("ExPEC")**

20 En este estudio, se evaluaron los efectos de formular diferentes dosis del **Ejemplo 47** con el antígeno ExPEC pK1-3526 más Al-H. Las suspensiones del **Ejemplo 47** se almacenaron a 4 °C durante 16 horas, y después se añadieron a varias formulaciones de pK1-3526. Como se muestra en la Figura 2, el antígeno pK1-3526 permaneció adsorbido con alta eficiencia (más de 90 %) y no fueron detectables cambios en la integridad del antígeno en la desorción.

25 También se llevaron a cabo estos estudios con antígenos del virus sincitial respiratorio (RSV) con resultados similares.

30 Los estudios con MenB, ExPEC y RSV mostraron que la combinación de la suspensión del **Ejemplo 47** con formulaciones de antígeno/Al-H no tiene impacto en la adsorción de los antígenos de MenB, ExPEC y RSV. Se observó alguna desorción de los antígenos de MenB del Al-H con altas dosis de suspensión del **Ejemplo 47**, pero este efecto fue dependiente del tiempo y se redujo cuando se mezcló la suspensión con la vacuna justo antes de la inmunización.

Ejemplo (IV): Parámetros farmacocinéticos y farmacodinámicos de la suspensión homogénea del ejemplo 47

En este estudio, se estudiaron los parámetros farmacocinéticos (PK, por sus siglas en inglés) y farmacodinámicos (PD, por sus siglas en inglés) de la suspensión homogénea del **Ejemplo 47** más Alumbre/3MenB, y se encontraron que son similares al **Ejemplo 47** preparado como una suspensión no homogénea en DMSO/solución salina (Figuras 3A, 3B y 4). Se identificó (Figura 3A) un incremento ligero en los niveles sistémicos detectables del **Ejemplo 47** formulado en la suspensión homogénea. Los estudios de PK demuestran exposición local del **Ejemplo 47** tanto en las suspensiones de DMSO (no homogéneas) como homogéneas, per baja exposición sistémica. La suspensión homogénea redujo la variabilidad en la exposición local en músculo y mejora la exposición en el nódulo linfático de drenaje local (Figuras 3B y 3C).

40 La Figura 4 muestra la comparación farmacodinámica de la suspensión no homogénea/DMSO y la suspensión homogénea del **Ejemplo 47** más Alumbre/3MenB. Los perfiles de liberación de citocinas de la suspensión no homogénea/DMSO y la suspensión homogénea del **Ejemplo 47** fueron similares. Las liberaciones de citocinas fueron mínimas en comparación a la liberación de citocinas inducida por el adyuvante R848 después de la exposición de las suspensiones homogéneas o el **Ejemplo 47** formulado en DMSO.

Ejemplo (V): Eficiencia de suspensión homogénea de ejemplo 47 en modelo de menb *in vivo***1. Suspensión homogénea del Ejemplo 47 mejoró respuestas inmunitarias a *Neisseria meningitis***

En este estudio, se evaluó la eficiencia *in vivo* del **Ejemplo 47**, distribuido como suspensión homogénea a dosis que varían entre 2 y 100 µg/ratón, con un modelo de ratón de MenB. La evaluación se llevó a cabo con los tres polipéptidos de MenB ("5CVMB") ya sea adsorbidos sobre Al-H ("Alumbre/3MenB") o distribuidos con MF59 ("MF59/3MenB"). Los antígenos de MenB se probaron para potencia inmunogénica *in vivo* usando un ensayo de anticuerpos bactericidas en suero (SBA). La Figura 5A muestra los títulos bactericidas contra la NZ98 de sueros obtenidos después de la inmunización con 5CVMB combinado con (a) Al-H solo, (b) Al-H + 2 µg del **Ejemplo 47**, (c) Al-H + 10 µg del **Ejemplo 47**, (d) Al-H + 25 µg del **Ejemplo 47**, (e) Al-H + 100 µg del **Ejemplo 47** o (f) Al-H y vesículas de membrana exterior de MenB. La Figura 5B muestra títulos bactericidas contra la cepa NZ98 de sueros obtenidos después de la inmunización con 5CVMB combinado con (a) MF59 solo, (b) MF59 + 2 µg del **Ejemplo 47**, (c) MF59 + 10 µg del **Ejemplo 47**, (d) MF59 + 25 µg del **Ejemplo 47**, (e) MF59 + 100 µg del **Ejemplo 47** o (f) MF59 y 25 µg de CpG1826.

Las formulaciones de Alumbre/3MenB (Figura 5A) se prepararon a 75 % de volumen, y la suspensión homogénea del Ejemplo 47 (4 mg/ml) se añadió a dosis de 0, 2, 10, 25 y 100 µg, respectivamente, en el espacio de 2 horas antes de la inmunización. Se inmunizaron intramuscularmente ratones CD1 en los días 0 y 14 con 100 µl de volumen de inmunización (50 µl/Pata) que contiene 10 µg de cada antígeno de MenB y las dosis específicas de suspensión homogénea de Ejemplo 47. Se sangraron de retro-orbital los ratones en el día 28 y se midieron los títulos de SBA usando ensayo de Azul de Alamar. Se usó Alumbre/3MenB/OMV como una marca comparativa.

Las formulaciones de MF59/3MenB (Figura 5B) se prepararon al adicionar los antígenos de MenB (5CVMB) (100 µg/ml cada uno) y MF59 a la suspensión homogénea de **Ejemplo 47** (4 mg/ml) a concentraciones de 0, 20, 100, 250 y 1,000 µg/ml, respectivamente. Se inmunizaron de manera intramuscular ratones CD1 en los días 0 y 14 con 100 µl de volumen de inmunización (50 µl/Pata) que contiene 10 µg de cada antígeno de MenB y las dosis específicas de la suspensión homogénea de **Ejemplo 47**. Los ratones se sangraron de manera retro-orbital en el día 28 y se midieron los títulos de SBA usando ensayo de Azul de Alamar. Como una marca comparativa se usó MF59/3MenB + 25 µg CpG1826.

Como se muestra en la Figura 5A, Alumbre/3MenB más suspensión homogénea de **Ejemplo 47** a 10 µg, 25 µg y 100 µg da títulos que fueron significativamente mejorados con relación a los títulos de SBA vistos con Alumbre/3MenB solo, y títulos de SBA que fueron comparables a, o mejores que, títulos de SBA obtenidos usando Alumbre/3MenB/OMV. Se obtuvieron resultados similares usando formulaciones de MF59/3MenB.

2. Suspensión homogénea de Ejemplo 47 mejoró cobertura de cepa en comparación a Al-H solo

Se evaluó la cobertura de cepas de los sueros obtenidos después de la inmunización intramuscular de ratones con 5CVMB combinado con (a) Al-H solo, (b) Al-H + 100 µg del **Ejemplo 47** (DMSO), (c) Al-H + 25 µg de suspensión homogénea del **Ejemplo 47**, (d) Al-H + 100 µg de suspensión homogénea del **Ejemplo 47** y (e) Al-H y vesículas de membrana exterior de MenB, e inmunización intraperitoneal de ratones con 5CVMB combinado con (f) Al-H y vesículas de membrana exterior de MenB. Se usó Alumbre/3MenB/OMV como una marca comparativa. La lectura de la eficiencia se expresa como el % de cepas que alcanzan un umbral definido de aniquilación en el ensayo de SBA en el modelo de ratón de MenB.

La Tabla 4 muestra las diecisésis (16) cepas diferentes de *Neisseria meningitidis* que se usaron en estos estudios. Las 16 cepas se seleccionaron para representar (1) objetivo específico para solo uno de los componentes antigenicos de 5CVMB; y (2) títulos de SBA históricamente bajos o negativos con Alumbre/3MenB. Se usaron títulos de SBA >1084 como un corte para indicar cobertura contra una cepa particular.

Tabla 4:

	cpx	ST	ET	Año		Tipificación	741	961
NZ98/254	41/44	42	lin3	1998	NZ	B:4:P1,4	1,10/++	-
H44/76	32	32	ET5	1976	N	B15:P1,7,16	1,1/+++	-
M01-240 185	11	11	ET37	2001	RU	B:2a:P1,5,10	1,9/+++	-
M2937	35	Nuevo	Otro	1996	EUA	B:4,7:P1,23,14	1,7/+++	-
2996	8	540	A4	1975	RU	B:2b:P1,5,2	2,1/+	+
961-5945	8	153	A4	1996	AUS	B:2b:P1,21,16	2,1/++	+
B3937	18	Nuevo	Otro	1995	D	B:22:P1,16	2,2/+++	+

(continuación)

	cpx	ST	ET	Año		Tipificación	741	961
M2552	-	103	Otro	1996	EUA	B:NT:NT	2,10/+	-
M4407	41/44	Nuevo	lin.3	1996	EUA	B:NT:P1,15	2,4/++	-
M0579	41/44	43	lin.3	1993	EUA	B:NT:P1,5,2	2,5/+	-
M986	11	11	ET37	1963	EUA	B:2a:P1,5,2	2,7/-	+
5/99	8	1349	A4	1999	N	B:2b:P1,5,2	2,8/+	+
M4458	22	Nuevo	Otro	1998	EUA	B:NT:P1,3	2,10/+	+
NGP165	11	11	ET37	1974	N	B:NT:P1,2	3,2/+++	+
M01-0240364	11	11	ET37	2001	RU	B:2a:P1,5,2	3,4/+	+
M3369	-	1,576	Otro	1997	EUA	B:10:P1,19,15	3,4/++	-

Se inmunizaron ratones CD1 siguiendo un programa de inmunización de 1 y 14 días. En cada inmunización, se distribuyeron dosis de 0,1 ml de cada formulación mediante ruta intramuscular de 0,05 ml a cada una de las dos patas. Los ratones se sangraron a los 28 días y se analizaron los sueros usando ensayo de SBA. Se incluyó un grupo de control adicional que consiste de 0,2 ml de Alumbre/3MenB mas OMV distribuido mediante ruta intraperitoneal a 1 y 14 días. Se llevaron a cabo los estudios con programas comparables de inmunización ("Estudio 1 de MenB" y "Estudio 2 de MenB"), con ambos que dan datos comparables.

5 La Tabla 5 muestra los títulos de SBA contra la cepa NZ98/254 en dos estudios separados.

Tabla 5:

Estudio 1: MenB + Ejemplo 47			
Grupo	Antígenos	Ruta	NZ
1	Alumbre/PBS	IM	<16
2	Alumbre/3MenB	IM	128
3	Alumbre/3MenB + 100 µg Ej. 47 (DMSO)	IM	8192
4	Alumbre/ 3 MenB + 25 µg suspensión homogénea de Ejemplo 47	IM	2048
5	Alumbre/3 MenB + 100 µg suspensión homogénea de Ejemplo 47	IM	1024
6	Alumbre/3MenB + OMV	IM	128
7	Alumbre/3MenB + OMV	IP	16384
Estudio 2: MenB + Ejemplo 47			
Grupo	Antígenos	Ruta	NZ
1	Alumbre/PBS	IM	<16
2	Alumbre/3MenB	IM	128
3	Alumbre/3MenB + 100 µg Ex. 47 (DMSO)	IM	4096
4	Alumbre/3 MenB + 25 µg suspensión homogénea de Ejemplo 47	IM	4096
5	Alumbre/3 MenB + 100 µg de suspensión homogénea de Ejemplo 47	IM	2048
6	Alumbre/3MenB + OMV	IM	1024
7	Alumbre/3MenB + OMV	IP	8192

solo fue capaz de cubrir únicamente 19 %. Alumbre/3MenB/OMV fue capaz de cubrir ~50 % de las cepas cuando se formuló en Al-H y se administró o distribuyó i.m., y 80 % de las cepas cuando se distribuyó mediante ruta intraperitoneal (i.p.). No fue evidente el efecto dependiente de la dosis. De esta manera, Alumbre/3MenB más suspensión homogénea de Ejemplo 47 a 25 µg y 100 µg mejoraron la cobertura de las cepas en comparación a Alumbre/3MenB solo.

Las Figuras 7A-7C muestran las relaciones de IgG1/IgG2a en el modelo de ratón de MenB *in vivo*. Los títulos de IgG totales se calcularon por ELISA. La Figura 7A muestra los títulos de IgG1, IgG2a, IgG2b e IgG3 para GNA2132-GNA1030. La Figura 7B muestra los títulos de IgG1, IgG2a, IgG2b e IgG3 para GNA2091-GNA1870. La Figura 7C muestra los títulos de IgG1, IgG2a, IgG2b e IgG3 para NadA. La Tabla 6 resume los resultados de un ensayo de ELISA que demostró la capacidad de la suspensión del **Ejemplo 47** para inducir IgG2a cuando se añadió Alumbre/3MenB. El **Ejemplo 47** mejoró el cambio de isotipo de IgG2a (relación disminuida de IgG1/IgG2a) cuando se formuló con Alumbre/3MenB (entre menor es el número mayor son las veces de incremento de IgG2a que se indujo por la suspensión del **Ejemplo 47**). IgG2a se consideró como un sustituto de la respuesta de Th1 que es deseable producir.

15

Tabla 6:

Relaciones de IgG1/IgG2a			
	GNA2132-GNA1030	GNA2091-GNA1870	NadA
Alumbre/3MenB	923	15	308
Alumbre/3MenB + 100 µg del Ejemplo 47	1	2	7
Alumbre/3MenB + OMV	36	6	61

Este ejemplo demuestra que la suspensión homogénea del **Ejemplo 47** puede mejorar significativamente las respuestas inmunitarias a Alumbre/3MenB, con títulos de SBA comparables a, o mejores que, Alumbre/3MenB/OMV a 10 µg/dosis, 25 µg/dosis, o 100 µg/dosis de la suspensión del **Ejemplo 47**. Adicionalmente, la suspensión del **Ejemplo 47** puede incrementar el alcance de la respuesta inmunitaria, como se muestra por el incremento en el alcance de protección a varias cepas de *Neisseria meningitidis*.

De forma significativa, cuando se usó una suspensión no homogénea del **Ejemplo 47** (preparada en DMSO) en unión con las vacunas basadas en aluminio y vacunas basadas en MF59, la suspensión homogénea dio por resultado menores títulos de SBA en comparación a los efectos de la suspensión homogénea a las mismas dosis.

En un conjunto de estudios que usan el modelo de ratón de MenB, los títulos de SBA en la adición de 10 µg/dosis de la suspensión no homogénea del **Ejemplo 47** fueron comparables a aquellos de MF59/3MenB solo (Figura 8). En otro conjunto de estudios, la suspensión no homogénea del **Ejemplo 47** mostró solo un efecto de adyuvante de línea límite. Por lo tanto, las suspensiones homogéneas descritas en la invención no solo redujeron el alto grado de variabilidad entre los animales de replica e incrementaron la biodisponibilidad de las moléculas a las células inmunitarias después de la inmunización sino también proporcionan efecto inmunoestimulador a menores dosis (por ejemplo, 10 µg/dosis o menos).

Ejemplo (VI): Eficiencia de suspensión homogénea de Ejemplo 47 en modelo de RSV *in vivo*

En este ejemplo, se evaluó la eficiencia *in vivo* del **Ejemplo 47**, distribuido como suspensión homogénea, usando un modelo de RSV.

35 **A. Estudio 1**

En un estudio, el antígeno de subunidad F de RSV se adsorbió en Al-H a una concentración objetivo de 50 µg/ml o 10 µg/ml en amortiguador de Histidina 10 mM. Estas formulaciones de alumbre se prepararon a 75 % en volumen para permitir la adición de varios adyuvantes. La suspensión homogénea del **Ejemplo 47** (4 mg/ml) a dosis de 25 y 100 µg, R848 (1 mg/ml) a dosis de 25 µg y CpG1826 (10 mg/ml) a dosis de 25 µg se le añadieron a las formulaciones de alumbre o a la proteína de subunidad F en el espacio de 2 horas antes de la inmunización. Se inmunizaron intramuscularmente ratones Balb/c en los días 0 y 14 con un volumen de inmunización de 100 µl (50 µl/Pata). Los ratones se sangraron de manera retro-orbital en el día 28. Se midieron los títulos de ELISA por diluciones en serie de los sueros en la proteína de subunidad F adsorbida al substrato. Se midieron los títulos neutralizantes contra el virus RSV en base a la reducción en el número de placa cuando se incubó con varias diluciones de suero. Se usaron FIRSV, R848 y CpG como la marca comparativa en este estudio.

Como se muestra en la Figura 9A, la suspensión del **Ejemplo 47** incrementó los títulos totales de anticuerpo para todas las muestras, e incrementa los títulos neutralizantes cuando el antígeno F se adsorbe a Al-H. La Figura 9A muestra tanto los títulos de anticuerpo anti-F (ELISA-kappa) como de anticuerpo neutralizante (PRNT60). Se observaron mayores títulos neutralizantes para la dosis de 25 µg del **Ejemplo 47**. Adicionalmente, la adición de la

suspensión homogénea del **Ejemplo 47** también mejoró el cambio de isotipo de IgG2a con el antígeno F de RSV solo o formulado con Al-H.

B. Estudio 2

Se obtuvieron resultados similares de otro estudio. Como se muestra en la Figura 9B, la suspensión homogénea del **Ejemplo 47** incrementó los títulos totales de anticuerpo para todas muestras, e incrementó los títulos neutralizantes cuando el antígeno F se adsorbió a Al-H. Adicionalmente, la adición de la suspensión del **Ejemplo 47** también mejoró el cambio de isotipo de IgG2a con el antígeno F de RSV solo o formulado con Al-H.

Ejemplo (VIII): Investigación de cobertura de cepas para formulaciones de menb

Se evaluó la eficiencia *in vivo* del **Ejemplo 47**, distribuido como suspensión homogénea a una dosis de 25 µg/ratón, usando un modelo de MenB. Los estudios se realizaron en dos cepas de ratón, un estudio usó ratones CD1 y el otro usó ratones C57/BL6. La evaluación se llevó a cabo con 5CVMB modificado en el cual se reemplazó la proteína de fusión GNA2091-GNA1870 por la proteína "936-10A-10A" desvela en la Solicitud de Patente Internacional n.º PCT/IB2010/002260 (presentada el 27 de Agosto de 2010, que reivindica la prioridad de USSN 61/237,576) (SEQ ID NO: 126 en la misma; SEQ ID NO: 4 en el presente documento). El 5CVMB modificado se distribuyó con Al-H. Los antígenos de MenB se probaron para potencia inmunogénica *in vivo* usando un ensayo de SBA.

Ratones CD1 (Experimento I) o CD57/BL6 (Experimento II) se inmunicaron intramuscularmente en los días 0 y 14 con 100 µl de volumen de inmunización (50 µl/pata) que contiene 10 µg de los tres polipéptidos de MenB y 25,0 µg de suspensión homogénea del **Ejemplo 47**. Los ratones se sangraron de manera retro-orbital en el día 28 y se midieron los títulos de SBA. Se usó Alumbre/3MenB* con 25 % de la dosis clínica normal de OMV como una marca comparativa. En este ejemplo, 3MenB* se refiere a una vacuna de MenB producida de los siguientes tres polipéptidos separados: GNA2132-GNA1030, 936-10C-10C y NadA.

La Tabla 7 resume la inmunización de ratones CD1 (Experimento I)

Tabla 7

Grupos	Ratones adultos 6/grupo
1	Alumbre
2	Alumbre/3MenB*
3	Alumbre/3MenB* + suspensión homogénea del Ejemplo 47 (25,0 µg)
5	Alumbre/3MenB* + ¼ D-OMV (1,25 µg)
<i>Protocolos de Inmunización:</i>	
para inmunización i.m.: inyección de 100 µl (2 x 50 µl) por ratón	
Número de inmunizaciones: 2	
Programa para inmunización: día 0, 14	
Días de Sangrado: -1, 13, 28	

La Tabla 8 resume la inmunización de ratones C57/BL6 (Experimento II)

Tabla 8

Grupos	Ratones adultos 6/grupo
1	Alumbre
2	Alumbre/3MenB*
3	Alumbre/3MenB* + suspensión homogénea de Ejemplo 47 (25,0 µg)
5	Alumbre/3MenB* + ¼ D-OMV (1,25 µg)
<i>Protocolos de Inmunización:</i>	
para inmunización i.m.: inyección de 100 µl (2 x 50 µl) por ratón	
Número de inmunizaciones: 2	
Programa para inmunización: día 0, 14	
Días de Sangrado: -1, 13, 28	

Se prepararon formulaciones de Alumbre/3MenB* (grupos G2, G3, G5 en Tabla 9) a 75 % de volumen, y se añadió suspensión homogénea del **Ejemplo 47** al fin de alcanzar una dosis de 20 µg, en el espacio de 2 horas antes de la inmunización. La adición de la suspensión homogénea del **Ejemplo 47** a Alumbre/3MenB* no altera la calidad de las formulaciones en términos del pH y de la osmolaridad puesto que los valores fueron consistentes con un intervalo aceptable para evaluaciones preclínicas y clínicas. La suspensión homogénea de Ejemplo 47 fue compatible con los antígenos usados y el contenido de endotoxina fue menor de 5 EU/dosis. En la Tabla 9 muestra que las formulaciones normales de MenB se adsorбieron bien en Alumbre (> 95 %) tanto solo como formulado con OMV. Las formulaciones con el **Ejemplo 47** mostraron una desorción de los antígenos después de la adición de la suspensión homogénea del **Ejemplo 47**, por la adsorción permaneció >90 %.

5

10

Tabla 9: Vista General de la Caracterización de la Formulación

	G1	Alumbre	
	Adsorción promedio	Osmolaridad mOsm/ml	pH
1ª inmunización (Experimento I)	n/a	245	7,0
2ª inmunización (Experimento I)	n/a	260	7,0
1ª inmunización (Experimento II)	n/a	282	7,0
2ª inmunización (Experimento II)	n/a	265	7,0
	G2	Alumbre/3MenB*	
	Adsorción promedio	Osmolaridad mOsm/ml	pH
1ª inmunización (Experimento I)	>95 %	296	7,3
2ª inmunización (Experimento I)	>95 %	278	7,4
1ª inmunización (Experimento II)	>95 %	293	7,4
2ª inmunización (Experimento II)	>95 %	290	7,2
G3	G3	Alumbre/3MenB* Ejemplo 47	
	Adsorción promedio	Osmolaridad mOsm/ml	pH
1ª inmunización (Experimento I)	>90 %	294	7,3
2ª inmunización (Experimento I)	>90 %	280	7,4
1ª inmunización (Experimento II)	>90 %	279	7,3
2ª inmunización (Experimento II)	>90 %	285	7,3
	G5	Alumbre/3MenB*+ 1/4 D-OMV	
	Adsorción promedio	Osmolaridad mOsm/ml	pH
1ª inmunización (Experimento I)	>95 %	258	7,2
2ª inmunización (Experimento I)	>95 %	270	7,3
1ª inmunización (Experimento II)	>95 %	285	7,3
2ª inmunización (Experimento II)	>95 %	280	7,3

Las Tablas 10-13 muestran los títulos bactericidas contra cinco diferentes cepas de *Neisseria meningitidis* después de la inmunización con formulaciones que comprenden los tres polipéptidos combinados con (2) Al-H solo, (3) Al-H + 250 mcg/ml del **Ejemplo 47** o (5) Al-H y vesículas de membrana exterior de MenB.

15

Tabla 10: Análisis de anticuerpos bactericidas en suero (SBA) de Experimento I (ratones CD1)

Exp. I CD1						
Grupo	Inmunización	MC58	NZ98/254	961-5945	UK355	5-99
1	IM	<16	<16	<16	<16	<16
2	IM	<16	<16	<16	<16	<16
3	IM	<16	<16	<16	<16	<16
5	IM	<16	<16	<16	<16	<16

Tabla 11: Análisis de anticuerpos bactericidas en suero (SBA) de Experimento II (ratones C57/BL6)

Exp. II C57/BL6						
Grupo	Inmunización	MC58	NZ98/254	961-5945	UK355	5-99
1	IM	<16	<16	<16	<16	<16
2	IM	<16	<16	<16	<16	<16
3	IM	<16	<16	<16	<16	<16
5	IM	<16	<16	<16	<16	<16

5

Tabla 12: Análisis de anticuerpos bactericidas en suero (SBA) de Experimento I (ratón CD1)

Exp. I CD1; Post 2da						
Grupo	Inmunización	MC58	NZ98/254	961-5945	UK355	5-99
1	Alumbre/PBS	<16	<16	<16	<16	<16
2	Alumbre/3MenB*	2048	64	1024	<64	8192
3	Alumbre/3MenB* + Ejemplo 47 (250mcg/ml)	8192	1024	16384	2048	>32768
5	Alumbre/3 MenB* + D-OMV	4096	1024	2048	128	>32768

Tabla 13: Análisis de anticuerpos bactericidas en suero (SBA) de Experimento II (ratones C57/BL6)

Exp. II C57/BL6; Post 2da						
Grupo	Inmunización	MC58	NZ98/254	961-5945	UK355	5-99
1	Alumbre/PBS	<16	<16	<16	<16	<16
2	Alumbre/3MenB*	<64	<64	<64	<16	128
3	Alumbre/3MenB* + Ejemplo 47 (250mcg/ml)	512	128	2048	<16	32768
5	Alumbre/3 MenB* + D-OMV	128	1024	64	<16	512

10

Los títulos de SBA para formulaciones del Ejemplo 47 fueron mayores que para la línea base de Alumbre/3MenB, y fueron comparables a Alumbre/3MenB + D-OMV. Como se muestra en Tablas 10-13, la adición de suspensión homogénea del Ejemplo 47 (Grupo 3) condujo al alcance superior de cobertura de vacuna en comparación al grupo de Alumbre/3MenB (Grupo 2), y mejor o comparable cobertura en comparación al grupo formulado con OMV (Grupo 5).

Las secuencias de aminoácidos de NadA, GNA2132-GNA1030, GNA2091-GNA1870, y 936-10A-10A se presentan a continuación para una fácil comparación entre ellos:

SEQ ID NO: 1 (Secuencia de aminoácidos para NadA)

ATNDDDVKAATVAIAAAYNNQEINGFKAGETIYDIDEDGTITKKDATAADVEADDKGLGLKKVVTNLTKVNEN
KQNVDAVKAAESEIEKLTTKLADTDAALADTDAALDATTNALNKLGENITTFAEETKTNIVKIDEKLEAVADTVDK
HAEAFNDIADSLENTKADEAVKTANEAKQTAEEFKQNVDAVKAAETAAGKAEAAAGTANTAAADKAEAVAALKVD
IKADIATNKDNIAKKANSADVYTREESDSKFVRIDGLNATTEKLDTRLASAEEKSIAHDTRLNGLDKTVSDLRKETR
QGLAEQAALSGLFQPYNVG

5 SEQ ID NO: 2 (Secuencia de aminoácidos para GNA2132-GNA1030)

MASPDVKSADTLSKPAPVSEKETEAKEDAPQAGSQGQGAPSQAQGGQDMAAVSEENTGNGGAATDKPKNEDEGAQ
NDMPQNAADTDSLTPNHTPASNMPAGNMENQAPDAGESEQPANQPMANTADGMQGDDPSAGGENAGNTAAQGTNQA
ENNQTAGSQNPASSTNPSATNSGGDFGRTNVGNSVVIDGPSQNITLTHCKGDSCSGNNFLDEEVQLKSEFEKLSDAD
KISNYKKDGKNDGKNDKFVGLVADSVQMKGINQYIIFYKPKPTS FARFRSARSRRSLPAEMPLIPVNQADTLIVDG
EAVSLTGHSGNI FAPEGNRYRLTYGAEKLPGGSYALRVQGEPSKGEMLAGTAVYNGEVLFHTENGRPSRSRGFAA
KVDFGSKSVDGIIDSGDGLHMGTQKFKAIDGNGFKGWTENGGDVSGFYGPAGEEVAGKSYRPTDAEKGGFGV
FAGKKEQDGSGGGGATYKVDEYHANARFAIDHFNTSTNVGGFYGLTGSVEFDQAKRDGKIDITIPVANLQSGSQHFT
DHLKSADIFDAAQYPDIRFVSTKFNFNGKKLVSDGNLTMHGKTAPVKLKAEKFNCYQSPMAKTEVCGGDFSTTIDR
TKWGVDYLVNVGMTKSVRIDIQIEAAKQ

SEQ ID NO: 3 (Secuencia de aminoácidos para GNA2091-GNA1870)

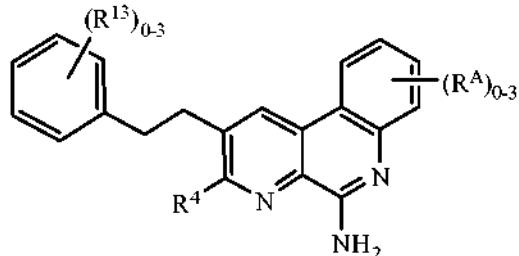
MVSAVIGSAAVGAKSAVDRRTGAQTDDNVMALRIETTARSYLRQNNQTKGYTPQISVVGYDRHLLLLGQVATEGEK
QFVGQIARSEQAAEGVYNYITVASLPRTAGDIAGDTWNTSKVRATLLGISPATRARVKIVTYGNVTVYVMGILTPEEQ
AQITQKVSTTVGVQKVITLYQNYVQRGSGGGGVAADIGAGLADALTAPLDHKDKGLQSLTLDQSVRKNEKLKLAAQG
AEKTYGNGDSLNTGKLNDKVSRFDFIRQIEVDGQLITLESGEFQVYKQSHSALTAFQTEQIQDSEHSGKMKVAKRQF
RIGDIAGEHTSFDKLPEGGRATYRGTAFGSDDAGGKLTYTIDFAAKQGNGKIEHLKSPELNVDAADIKPDGKRHA
VISGSVLYNQAEGKSYSLGIFGGKAQEVAEVKTVNGIRHIGLAAKQ

10 SEQ ID NO: 4 (Secuencia de aminoácidos para 936-10A-10A)

MVSAVIGSAAVGAKSAVDRRTGAQTDDNVMALRIETTARSYLRQNNQTKGYTPQISVVGYDRHLLLLGQVATEGEK
QFVGQIARSEQAAEGVYNYITVASLPRTAGDIAGDTWNTSKVRATLLGISPATRARVKIVTYGNVTVYVMGILTPEEQ
AQITQKVSTTVGVQKVITLYQNYVQRGSGGGGVAADIGAGLADALTAPLDHKDKGLQSLTLDQSVRKNEKLKLAAQG
AEKTYGNGDSLNTGKLNDKVSRFDFIRQIEVDGQLITLESGEFQVYKQSHSALTAFQTEQIQDSEHSGKMKVAKRQF
RIGDLGGEHTAFNQLPDGKAEYRGTAFGSDDAGGKLTYTIDFTKKQGNGKIEHLKSPELNVELASAEIKADGKSHAV
ILGDVRYGSEEKGYSLSGIFGGRAQEVAEVKTVNGIRHIGLAAKQGSGGGGVAADIGAGLADALTAPLDHKDKG
LQSLTLDQSVRKNEKLKLAQGAEKTYGNGDSLNTGKLNDKVSRFDFIRQIEVDGQLITLESGEFQVYKQSHSALT
AFQTEQIQDSEHSGKMKVAKRQF RIGDLGGEHTAFNQLPDGKAEYRGTAFGSDDAGGKLTYTIDFTKKQGNGKIEHLK
SPELNVELASAEIKADGKSHAVILGDVRYGSEEKGYSLSGIFGGRAQEVAEVKTVNGIRHIGLAAKQ

REIVINDICACIONES

1. Una composición inmunogénica que comprende un antígeno y una suspensión homogénea que comprende (a) un compuesto de Benzonafiridina de Fórmula I o Fórmula II, sal farmacéuticamente aceptable, solvato farmacéuticamente aceptable, derivado de N-óxido, isómeros individuales o mezcla de isómeros de los mismos;



5

Fórmula (I)

en la que:

- R⁴ se selecciona entre H, halógeno, -C(O)OR⁷, -C(O)R⁷, -C(O)N(R¹¹R¹²), -N(R¹¹R¹²), -N(R⁹)₂, -NHN(R⁹)₂, -SR⁷, -(CH₂)_nOR⁷, -(CH₂)_nR⁷, -LR⁸, -LR¹⁰, -OLR⁸, -OLR¹⁰, alquilo C₁-C₆, heteroalquilo C₁-C₆, haloalquilo C₁-C₆, alqueno C₂-C₈, alquino C₂-C₈, alcoxi C₁-C₆, haloalcoxi C₁-C₆, arilo, heteroarilo, cicloalquilo C₃-C₈, y heterocicloalquilo C₃-C₈, en los que los grupos C₁-C₆, heteroalquilo C₁-C₆, haloalquilo C₁-C₆, alqueno C₂-C₈, alquino C₂-C₈, alcoxi C₁-C₆, haloalcoxi C₁-C₆, arilo, heteroarilo, cicloalquilo C₃-C₈ y heterocicloalquilo C₃-C₈ de R⁴ estando cada uno opcionalmente sustituido con 1 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente entre halógeno, -CN, -NO₂, -R⁷, -OR⁸, -C(O)R⁸, -OC(O)R⁸, -C(O)OR⁸, -N(R⁹)₂, -P(O)(OR⁸)₂, -OP(O)(OR⁸)₂, -P(O)(OR¹⁰)₂, -OP(O)(OR¹⁰)₂, -C(O)N(R⁹)₂, -S(O)₂R⁸, -S(O)R⁸, -S(O)₂N(R⁹)₂, y -NR⁹S(O)₂R⁸;
- cada L se selecciona independientemente entre un enlace, -(O(CH₂)_m)_t, alquilo C₁-C₆, alquenileno C₂-C₆ y alquinileno C₂-C₆, en el que el alquilo C₁-C₆, alquenileno C₂-C₆ y alquinileno C₂-C₆ de L estando cada uno opcionalmente sustituido con 1 a 4 sustituyentes seleccionados independientemente entre halógeno, -R⁸, -OR⁸, -N(R⁹)₂, -P(O)(OR⁸)₂, -OP(O)(OR⁸)₂, -P(O)(OR¹⁰)₂ y -OP(O)(OR¹⁰)₂;
- R⁷ se selecciona entre H, alquilo C₁-C₆, arilo, heteroarilo, cicloalquilo C₃-C₈, heteroalquilo C₁-C₆, haloalquilo C₁-C₆, alqueno C₂-C₈, alquino C₂-C₈, alcoxi C₁-C₆, haloalcoxi C₁-C₆ y heterocicloalquilo C₃-C₈, en el que los grupos alquilo C₁-C₆, arilo, heteroarilo, cicloalquilo C₃-C₈, heteroalquilo C₁-C₆, haloalquilo C₁-C₆, alqueno C₂-C₈, alquino C₂-C₈, alcoxi C₁-C₆, haloalcoxi C₁-C₆, y heterocicloalquilo C₃-C₈ de R⁷ estando cada uno opcionalmente sustituido con 1 a 3 grupos R¹³; cada R⁸ se selecciona independientemente entre H, -CH(R¹⁰)₂, alquilo C₁-C₈, alqueno C₂-C₈, alquino C₂-C₈, haloalquilo C₁-C₆, alcoxi C₁-C₆, heteroalquilo C₁-C₆, cicloalquilo C₃-C₈, heterocicloalquilo C₂-C₈, hidroxialquilo C₁-C₆ y haloalcoxi C₁-C₆, en el que los grupos alquilo C₁-C₈, alqueno C₂-C₈, alquino C₂-C₈, heteroalquilo C₁-C₆, haloalquilo C₁-C₆, alcoxi C₁-C₆, cicloalquilo C₃-C₈, heterocicloalquilo C₂-C₈, hidroxialquilo C₁-C₆ y haloalcoxi C₁-C₆ de R⁸ estando cada uno opcionalmente sustituido con 1 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente entre -CN, R¹¹, -OR¹¹, -SR¹¹, -C(O)R¹¹, -OC(O)R¹¹, -C(O)N(R⁹)₂C(O)OR¹¹, -NR⁹C(O)R¹¹, -NR⁹R¹⁰, -NR¹¹R¹², -N(R⁹)₂, -OR⁹, -OR¹⁰, -C(O)NR¹¹R¹², -C(O)NR¹¹OH, -S(O)₂R¹¹, -S(O)R¹¹, -S(O)₂NR¹¹R¹², -NR¹¹S(O)₂R¹¹, -P(O)(OR¹¹)₂ y -OP(O)(OR¹¹)₂;
- cada R⁹ se selecciona independientemente entre H, -C(O)R⁸, -C(O)OR⁸, -C(O)R¹⁰, -C(O)OR¹⁰-S(O)₂R¹⁰, -alquilo C₁-C₆, heteroalquilo C₁-C₆ y cicloalquilo C₃-C₆, o cada R⁹ es independientemente un alquilo C₁-C₆ que con el N se unen para formar un heterocicloalquilo C₃-C₈, en el que el anillo heterocicloalquilo C₃-C₈ opcionalmente contiene un heteroátomo adicional seleccionado entre N, O y S y en el que los grupos alquilo C₁-C₆, heteroalquilo C₁-C₆, cicloalquilo C₃-C₆ o heterocicloalquilo C₃-C₈ de R⁹ estando cada uno opcionalmente sustituido con 1 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente entre -CN, R¹¹, -OR¹¹, -SR¹¹, -C(O)R¹¹, -OC(O)R¹¹, -C(O)OR¹¹, -NR¹¹R¹², -C(O)NR¹¹R¹², C(O)NR¹¹OH, -S(O)₂R¹¹, -S(O)R¹¹, -S(O)₂NR¹¹R¹², -NR¹¹S(O)₂R¹¹, -P(O)(OR¹¹)₂ y -OP(O)(OR¹¹)₂;
- cada R¹⁰ se selecciona independientemente entre arilo, cicloalquilo C₃-C₈, heterocicloalquilo C₃-C₈ y heteroarilo, en los que los grupos arilo, cicloalquilo C₃-C₈, heterocicloalquilo C₃-C₈ y heteroarilo estando opcionalmente sustituido con 1 a 3 sustituyentes seleccionados entre halógeno, -R⁸, -OR⁸, -LR⁹, -LOR⁹, -N(R⁹)₂, -NR⁹C(O)R⁸, -NR⁹CO₂R⁸, -CO₂R⁸, -C(O)R⁸ y -C(O)N(R⁹)₂;
- R¹¹ y R¹² se seleccionan independientemente entre H, alquilo C₁-C₆, heteroalquilo C₁-C₆, haloalquilo C₁-C₆, arilo, heteroarilo, cicloalquilo C₃-C₈ y heterocicloalquilo C₃-C₈, en el que los grupos alquilo C₁-C₆, heteroalquilo C₁-C₆, haloalquilo C₁-C₆, arilo, heteroarilo, cicloalquilo C₃-C₈, y heterocicloalquilo C₃-C₈ de R¹¹ y R¹² estando cada uno opcionalmente sustituido con 1 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente entre halógeno, -CN, R⁸, -OR⁸, -C(O)R⁸-OC(O)R⁸, -C(O)OR⁸, -N(R⁹)₂, -NR⁸C(O)R⁸, -NR⁸C(O)OR⁸, -C(O)N(R⁹)₂, heterocicloalquilo C₃-C₈, -S(O)₂R⁸, -S(O)₂N(R⁹)₂, -NR⁹S(O)₂R⁸, haloalquilo C₁-C₆ y haloalcoxi C₁-C₆;
- o R¹¹ y R¹² son cada uno independientemente alquilo C₁-C₆ y tomados conjuntamente junto con el átomo de N al cual están unidos forman un anillo heterocicloalquilo C₃-C₈ opcionalmente sustituido que contiene opcionalmente un heteroátomo adicional seleccionado entre N, O y S;

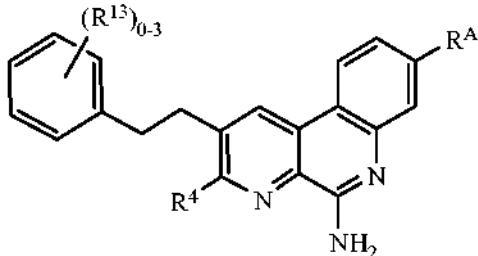
cada R¹³ se selecciona independientemente entre halógeno, -CN, -LR⁹, -LOR⁹, -OLR⁹, -LR¹⁰, -LOR¹⁰, -OLR¹⁰, -LR⁸, -LOR⁸, -OLR⁸, -LSR¹⁰, -LC(O)R⁸, -OLC(O)R⁸, -LC(O)OR⁸, -LC(O)R¹⁰, -LOC(O)OR⁸, -LC(O)NR⁹R¹¹, -LC(O)NR⁹R⁸, -LN(R⁹)₂, -LNR⁹R⁸, LNR⁹R¹⁰, -LC(O)N(R⁹)₂, -LS(O)₂R⁸, -LS(O)R⁸, -LC(O)NR⁸OH, -LNR⁹C(O)R⁸, -LNR⁹C(O)OR⁸, -LS(O)₂N(R⁹)₂, -OLS(O)₂N(R⁹)₂, -LNR⁹S(O)₂R⁸, -LC(O)NR⁹LN(R⁹)₂, -LP(O)(OR⁸)₂, -LOP(O)(OR⁸)₂, -LP(O)(OR¹⁰)₂ y -OLP(O)(OR¹⁰)₂;

5 cada R^A se selecciona independientemente entre -R⁸, -R⁷, -OR⁷, -OR⁸, -R¹⁰, -OR¹⁰, -SR⁸, -NO₂, -CN, -N(R⁹)₂, -NR⁹C(O)R⁸, -NR⁹C(S)R⁸, -NR⁹C(O)N(R⁹)₂, -NR⁹C(S)N(R⁹)₂, -NR⁹CO₂R⁸, -NR⁹NR⁹C(O)R⁸, -NR⁹NR⁹C(O)N(R⁹)₂, -NR⁹NR⁹CO₂R⁸, -C(O)C(O)R⁸, -C(O)CH₂C(O)R⁸, -CO₂R⁸, -(CH₂)_nCO₂R⁸, -C(O)R⁸, -C(S)R⁸, -C(O)N(R⁹)₂, -C(S)N(R⁹)₂, -OC(O)N(R⁹)₂, -OC(O)R⁸, -C(O)N(OR⁸)R⁸, -C(NOR⁸)R⁸, -S(O)₂R⁸-S(O)₃R⁸, -SO₂N(R⁹)₂, -S(O)R⁸, -NR⁹SO₂N(R⁹)₂, -NR⁹SO₂R⁸, -P(O)(OR⁸)₂, -OP(O)(OR⁸)₂, -P(O)(OR¹⁰)₂, -OP(O)(OR¹⁰)₂, -N(OR⁸)R⁸, -CH=CHCO₂R⁸, -C(=NH)-N(R⁹)₂ y -(CH₂)_nHNC(O)R⁸; o dos sustituyentes R^A adyacentes en el anillo al que están unidos, forman un anillo de 5-6 miembros que contiene hasta dos heteroátomos como miembros del anillo;

10 n es, independientemente cada vez que aparece, 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 u 8;

cada m se selecciona independientemente entre 1, 2, 3, 4, 5 y 6,

15 y t es 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 u 8;



Fórmula (II)

en la que:

20 R⁴ se selecciona entre H, halógeno, -C(O)OR⁷, -C(O)R⁷, -C(O)N(R¹¹R¹²), -N(R¹¹R¹²), -N(R⁹)₂, -NHN(R⁹)₂, -SR⁷, -(CH₂)_nOR⁷, -(CH₂)_nR⁷, -LR⁸, -LOR⁸, -OLR¹⁰, alquilo C₁-C₆, heteroalquilo C₁-C₆, haloalquilo C₁-C₆, alqueno C₂-C₈, alquino C₂-C₈, alcoxi C₁-C₆, haloalcoxi C₁-C₆, arilo, heteroarilo, cicloalquilo C₃-C₈ y heterocicloalquilo C₃-C₈, en el que los grupos alquilo C₁-C₆, heteroalquilo C₁-C₆, haloalquilo C₁-C₆, alqueno C₂-C₈, alquino C₂-C₈, alcoxi C₁-C₆, haloalcoxi C₁-C₆, arilo, heteroarilo, cicloalquilo C₃-C₈ y heterocicloalquilo C₃-C₈ de R⁴ estando cada uno opcionalmente sustituido con 1 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente entre halógeno, -CN, -NO₂, -R⁷, -OR⁸, -C(O)R⁸, -OC(O)R⁸, -C(O)OR⁸, -N(R⁹)₂, -P(O)(OR⁸)₂, -OP(O)(OR⁸)₂, -P(O)(OR¹⁰)₂, -OP(O)(OR¹⁰)₂, -C(O)N(R⁹)₂, -S(O)R⁸, -S(O)N(R⁹)₂ y -NR⁹S(O)₂R⁸;

25 cada L se selecciona independientemente entre un enlace, -(O(CH₂)_m)_t, alquilo C₁-C₆, alquenileno C₂-C₆ y alquinileno C₂-C₆, en el que el alquilo C₁-C₆, alquenileno C₂-C₆ y alquinileno C₂-C₆ de L estando cada uno opcionalmente sustituido con 1 a 4 sustituyentes seleccionados independientemente entre halógeno, -R⁸, -OR⁸, -N(R⁹)₂, -P(O)(OR⁸)₂, -OP(O)(OR⁸)₂, -P(O)(OR¹⁰)₂ y -OP(O)(OR¹⁰)₂;

30 R⁷ se selecciona entre H, alquilo C₁-C₆, arilo, heteroarilo, cicloalquilo C₃-C₈, heteroalquilo C₁-C₆, haloalquilo C₁-C₆, alqueno C₂-C₈, alquino C₂-C₈, alcoxi C₁-C₆, haloalcoxi C₁-C₆ y heterocicloalquilo C₃-C₈, en el que los grupos alquilo C₁-C₆, arilo, heteroarilo, cicloalquilo C₃-C₈, heteroalquilo C₁-C₆, haloalquilo C₁-C₆, alqueno C₂-C₈, alquino C₂-C₈, alcoxi C₁-C₆, haloalcoxi C₁-C₆ y heterocicloalquilo C₃-C₈ de R⁷ estando cada uno opcionalmente sustituido con 1 a 3 R¹³, cada R⁸ se selecciona independientemente entre H, -CH(R¹⁰)₂, alquilo C₁-C₈, alqueno C₂-C₈, alquino C₂-C₈, haloalquilo C₁-C₆, alcoxi C₁-C₆, heteroalquilo C₁-C₆, cicloalquilo C₃-C₈, heterocicloalquilo C₂-C₈, hidroxialquilo C₁-C₆ y haloalcoxi C₁-C₆, en el que los grupos alquilo C₁-C₈, alqueno C₂-C₈, alquino C₂-C₈, heteroalquilo C₁-C₆, haloalquilo C₁-C₆, alcoxi C₁-C₆, cicloalquilo C₃-C₈, heterocicloalquilo C₂-C₈, hidroxialquilo C₁-C₆ y haloalcoxi C₁-C₆ de R⁸ estando cada uno opcionalmente sustituido con 1 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente entre -CN, R¹¹, -OR¹¹, -SR¹¹, -C(O)R¹¹, -OC(O)R¹¹, -C(O)N(R⁹)₂, -C(O)OR¹¹VNR⁹C(O)R¹¹, -NR⁹R¹⁰, -NR¹¹R¹², -N(R⁹)₂, -OR⁹, -OR¹⁰, -C(O)NR¹¹R¹², C(O)NR¹¹OH, -S(O)₂R¹¹, -S(O)R¹¹, -S(O)₂NR¹¹R¹², -NR¹¹S(O)₂R¹¹, -P(O)(OR¹¹)₂ y -OP(O)(OR¹¹)₂;

35 cada R⁹ se selecciona independientemente entre H, -C(O)R⁸, -C(O)OR⁸, -C(O)R¹⁰, -C(O)OR¹⁰-S(O)₂R¹⁰, -C₁-C₆ alquilo, heteroalquilo C₁-C₆ y cicloalquilo C₃-C₆, o cada R⁹ es independientemente un alquilo C₁-C₆ que junto con el N al que están unidos para formar un heterocicloalquilo C₃-C₈, en el que el anillo heterocicloalquilo C₃-C₈ opcionalmente contiene un heteroátomo adicional seleccionado entre N, O y S, y en el que los grupos alquilo C₁-C₆, heteroalquilo C₁-C₆, cicloalquilo C₃-C₆ o heterocicloalquilo C₃-C₈ de R⁹ estando cada uno opcionalmente sustituido con 1 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente entre -CN, R¹¹, -OR¹¹, -SR¹¹, -C(O)R¹¹, -OC(O)R¹¹, -C(O)OR¹¹, -NR¹¹R¹², -C(O)NR¹¹R¹², C(O)NR¹¹OH, -S(O)₂R¹¹, -S(O)R¹¹, -S(O)₂NR¹¹R¹², -NR¹¹S(O)₂R¹¹, -P(O)(OR¹¹)₂ and -OP(O)(OR¹¹)₂;

40 cada R¹⁰ se selecciona independientemente entre arilo, cicloalquilo C₃-C₈, heterocicloalquilo C₃-C₈ y heteroarilo, en el que los grupos arilo, cicloalquilo C₃-C₈, heterocicloalquilo C₃-C₈ y heteroarilo estando opcionalmente

45

50

55

60

65

70

75

sustituido con 1 a 3 sustituyentes seleccionados entre halógeno, -R⁸, -OR⁸, -LR⁹, -LOR⁹, -N(R⁹)₂, -NR⁹C(O)R⁸, -NR⁹CO₂R⁸, -CO₂R⁸, -C(O)R⁸ y -C(O)N(R⁹)₂;

5 R¹¹ y R¹² se seleccionan independientemente entre H, alquilo C₁-C₆, heteroalquilo C₁-C₆, haloalquilo C₁-C₆, arilo, heteroarilo, cicloalquilo C₃-C₈, y heterocicloalquilo C₃-C₈, en el que los grupos alquilo C₁-C₆, heteroalquilo C₁-C₆, haloalquilo C₁-C₆, arilo, heteroarilo, cicloalquilo C₃-C₈ y heterocicloalquilo C₃-C₈ de R¹¹ y R¹² estando cada uno opcionalmente sustituido con 1 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente entre halógeno, -CN, R⁸, -OR⁸, -C(O)R⁸, -OC(O)R⁸, -C(O)OR⁸, -N(R⁹)₂, -NR⁸C(O)R⁸, -NR⁸C(O)OR⁸, -C(O)N(R⁹)₂, heterocicloalquilo C₃-C₈, -S(O)₂R⁸, -S(O)₂N(R⁹)₂, -NR⁹S(O)₂R⁸, haloalquilo C₁-C₆ y haloalcoxi C₁-C₆;

10 o R¹¹ y R¹² son cada uno independientemente alquilo C₁-C₆ y tomados junto con el átomo de N al que están unidos forman un anillo heterocicloalquilo C₃-C₈ opcionalmente sustituido, que contiene opcionalmente un heteroátomo adicional seleccionado entre N, O y S;

15 cada R¹³ se selecciona independientemente entre halógeno, -CN, -LR⁹, -LOR⁹, -OLR⁹, -LR¹⁰, -LOR¹⁰, -OLR¹⁰, -LR⁸, -LOR⁸, -OLR⁸, -LSR⁸, -LSR¹⁰, -LC(O)R⁸, -OLC(O)R⁸, -LC(O)OR⁸, -LC(O)R¹⁰, -LOC(O)OR⁸, -LC(O)NR⁹R¹¹, -LC(O)NR⁹R⁸, -LN(R⁹)₂, -LNR⁹R⁸, -LNR⁹R¹⁰, -LC(O)N(R⁹)₂, -LS(O)₂R⁸, -LS(O)R⁸, -LC(O)NR⁸OH, -LNR⁹C(O)R⁸, -LNR⁹C(O)OR⁸, -LS(O)₂N(R⁹)₂, -OLS(O)₂N(R⁹)₂, -LNR⁹S(O)₂R⁸, -LC(O)NR⁹LN(R⁹)₂, -LP(O)(OR⁸)₂, -LOP(O)(OR⁸)₂, -LP(O)(OR¹⁰)₂ and -OLP(O)(OR¹⁰)₂;

20 R^A se selecciona entre -R⁸, -R⁷, -OR⁷, -OR⁸, -R¹⁰, -OR¹⁰, -SR⁸, -NO₂, -CN, -N(R⁹)₂, -NR⁹C(O)R⁸, -NR⁹C(S)R⁸, -NR⁹C(O)N(R⁹)₂, -NR⁹C(S)N(R⁹)₂, -NR⁹CO₂R⁸, -NR⁹NR⁹C(O)R⁸, -NR⁹NR⁹C(O)N(R⁹)₂, -NR⁹NR⁹CO₂R⁸, -C(O)C(O)R⁸-C(O)CH₂C(O)R⁸, -CO₂R⁸, -(CH₂)_nCO₂R⁸, -C(O)R⁸, -C(S)R⁸, -C(O)N(R⁹)₂, -C(S)N(R⁹)₂, -OC(O)N(R⁹)₂, -C(O)N(R⁹)OR⁸, -C(NOR⁸)R⁸, -S(O)₂R⁸, -S(O)₃R⁸, -SO₂N(R⁹)₂, -S(O)R⁸, -NR⁹SO₂N(R⁹)₂, -NR⁹SO₂R⁸, -P(O)(OR⁸)₂, -OP(O)(OR⁸)₂, -P(O)(OR¹⁰)₂, -OP(O)(OR¹⁰)₂, -N(OR⁸)R⁸, -CH=CHCO₂R⁸, -C(=NH)-N(R⁹)₂, and -(CH₂)_nNHC(O)R⁸;

n es, independientemente cada vez que aparece, 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 u 8;

25 casa m se selecciona independientemente entre 1, 2, 3, 4, 5 y 6, y t es 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 u 8;

(b) un tensioactivo, y (c) un agente de suspensión potenciador de la viscosidad, en el que la composición inmunogénica comprende además un adyuvante que contiene aluminio.

2. La composición inmunogénica de la reivindicación 1, en la que la suspensión homogénea comprende de 0,5 mg/ml a 50 mg/ml del compuesto de Benzonafirtiridina.

30 3. La composición inmunogénica de cualquier reivindicación precedente, en la que el compuesto de Benzonafirtiridina es: 2-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilenil)propan-2-ol; 2-(4-metoxi-2-metilfenetil)-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina; 4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilbenzoato de etilo; 2-(4-(dimetilamino)fenetil)-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina; 2-(4-metoxifenetil)-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-5-amina; o 2-(2-(4-(2-(5-amino-8-metilbenzo[f][1,7]naftiridin-2-il)etil)-3-metilfenoxi)etoxi)etanol.

35 4. La composición inmunogénica de la reivindicación 1 o 2, en la que el compuesto de Benzonafirtiridina es:

2-(2,4-dimetilfenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-5-amina, sal farmacéuticamente aceptable, solvato farmacéuticamente aceptable, derivado de N-óxido, isómeros individuales o mezcla de isómeros de los mismos.

5. La composición inmunogénica de la reivindicación 1, en la que la suspensión homogénea comprende del 0,1 % al 10 % de tensioactivo.

40 6. La composición inmunogénica de la reivindicación 1 o 4, en la que la suspensión homogénea comprende del 0,1 % al 10 % del agente de suspensión potenciador de la viscosidad.

7. La composición inmunogénica de las reivindicaciones 5-6, en la que la suspensión homogénea comprende de 0,5 mg/ml a 10 mg/ml de 2-(2,4-dimetilfenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-5-amina.

45 8. La composición inmunogénica de una cualquiera de las reivindicaciones 1, 2 o 4-6, en la que el tensioactivo es Tween-80.

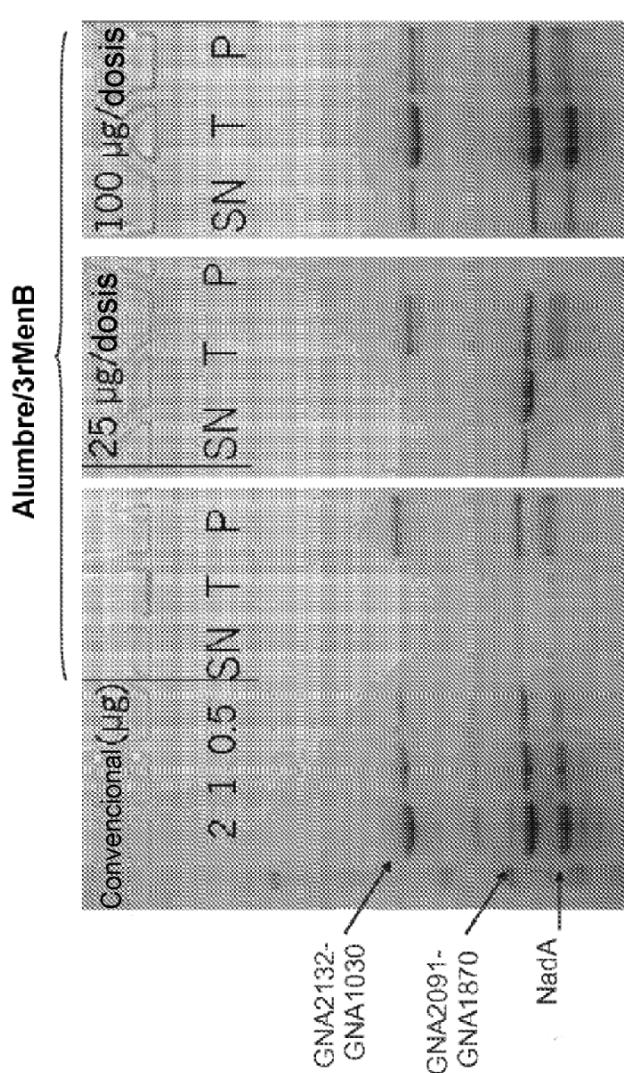
9. La composición inmunogénica de la reivindicación 8, en la que el agente potenciador de la viscosidad es carboximetil celulosa.

50 10. La composición inmunogénica de una cualquiera de las reivindicaciones 1, 2 o 4-8, en la que al menos el 50 % de las partículas en suspensión tienen un diámetro de 10 µm o menos, en la que opcionalmente al menos el 50 % de las partículas en suspensión tienen un diámetro de 2 µm o menos.

11. La composición inmunogénica de la reivindicación 1, en la que el adyuvante que contiene aluminio es hidróxido de aluminio, oxihidróxido de aluminio o hidroxifosfato de aluminio.

12. La composición inmunogénica de la reivindicación 1, en la que el antígeno es un antígeno bacteriano, opcionalmente en la que el antígeno bacteriano es un antígeno de *Neisseria meningitidis*.

13. La composición inmunogénica de la reivindicación 1, en la que el antígeno es un antígeno viral, opcionalmente en la que el antígeno viral es un antígeno del virus respiratorio sincitial (RSV) o un antígeno del virus Ébola.
 14. La composición inmunogénica de una cualquiera de las reivindicaciones 11 a 13, para su uso en un procedimiento para generar una respuesta inmune en un sujeto.
- 5 15. Un procedimiento de producción de una suspensión homogénea según la reivindicación 1, que comprende:
- (a) mezclar el compuesto de Benzoaftiridina citada en la reivindicación 1 con un tensioactivo y un agente de suspensión potenciador de la viscosidad;
 - (b) homogeneizar la mezcla de la etapa (a) en una alta presión que está entre 103,42 Mpa y 137,90 Mpa.

**FIG. 1A**

Antígeno	0 µg/dosis	25 µg/dosis	100 µg/dosis
GNA2132-GNA1030	100%	100%	76,3% ± 1,9
GNA2091-GNA1870	-100%	74,3% ± 0,4	60,4% ± 10,1
Nada	100%	100%	62,6% ± 7,9

FIG. 1B

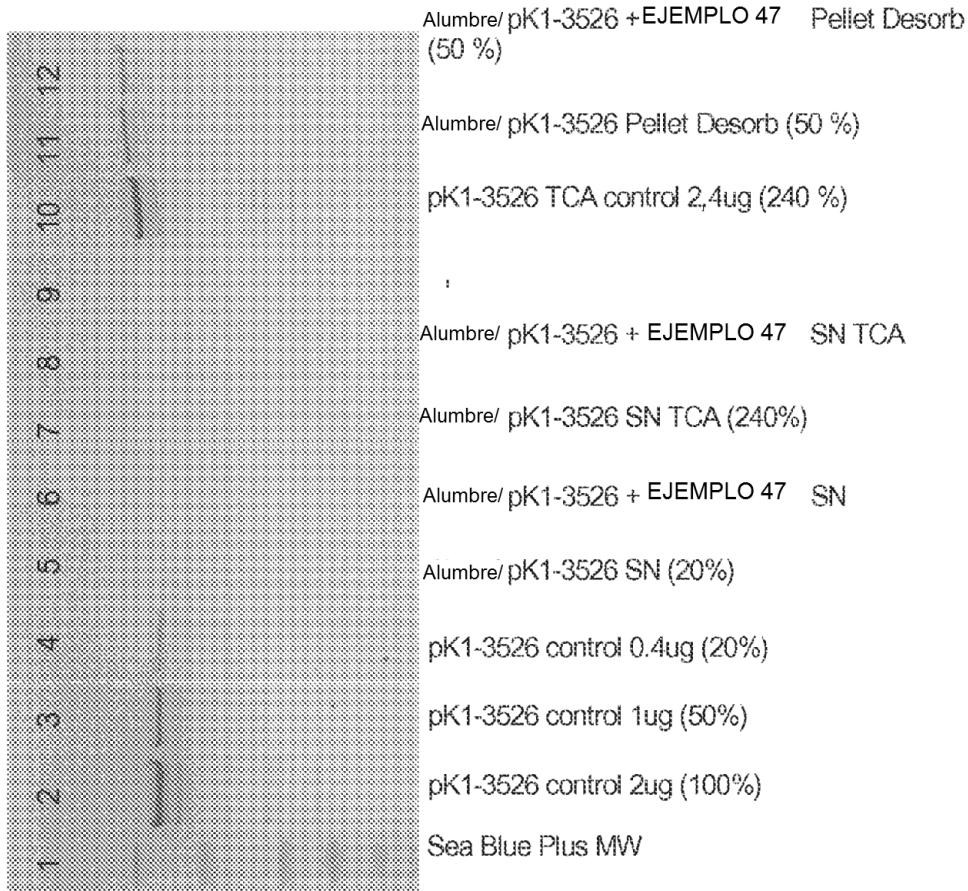
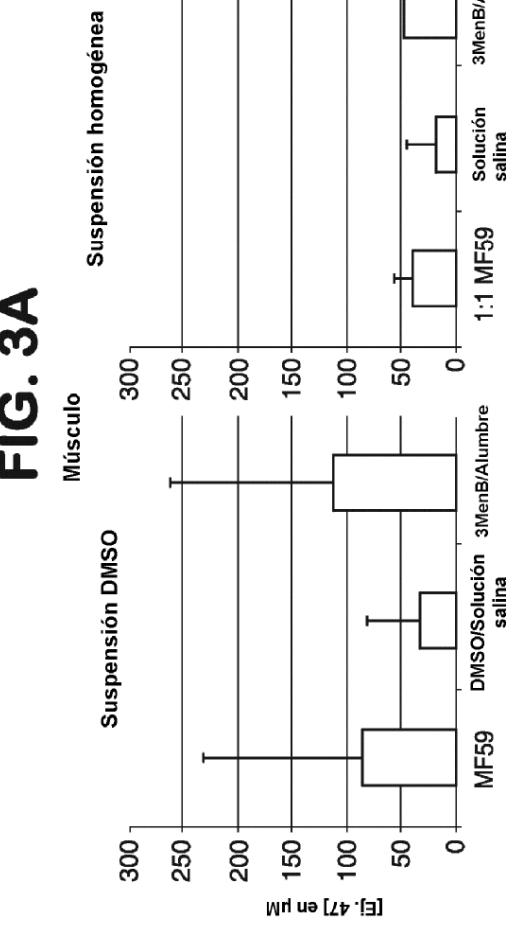
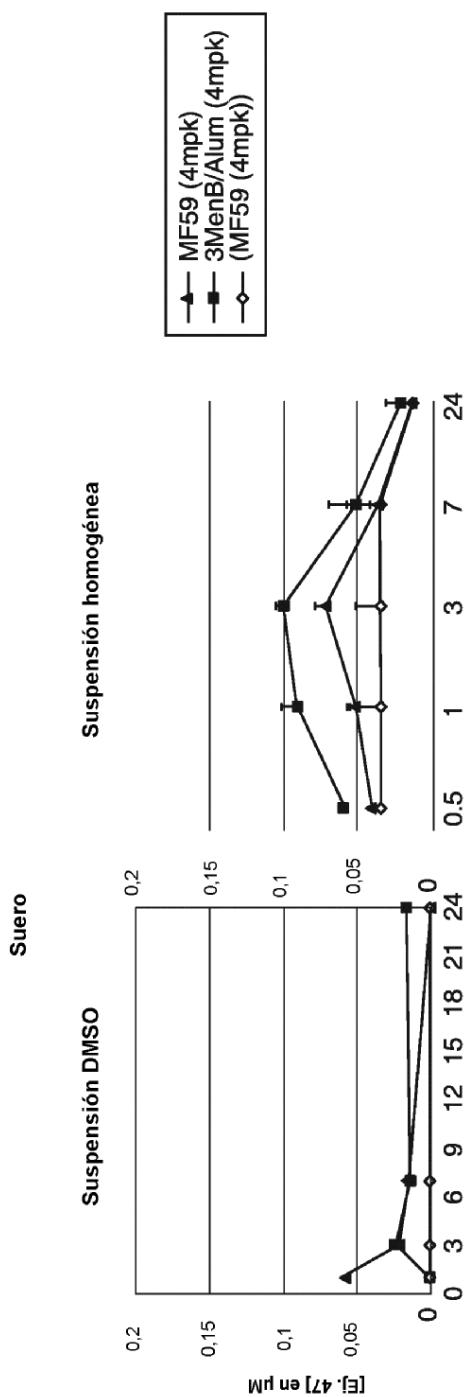


FIG. 2



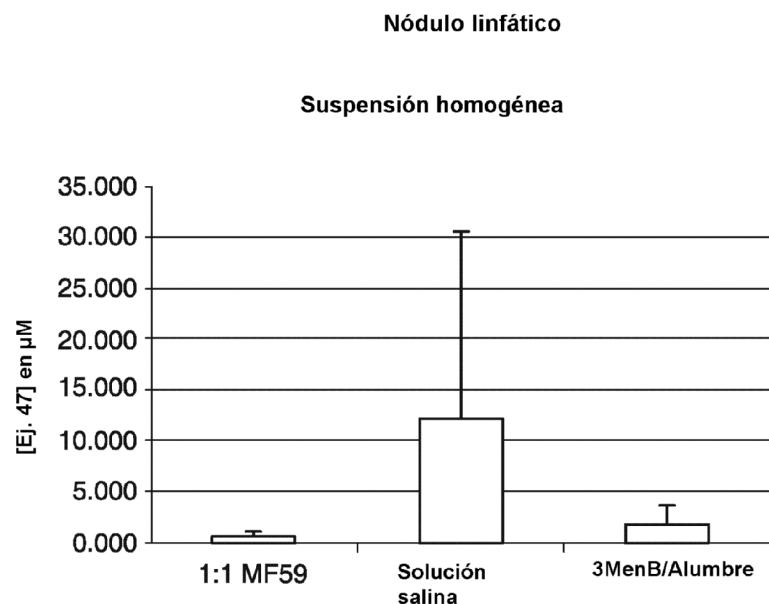
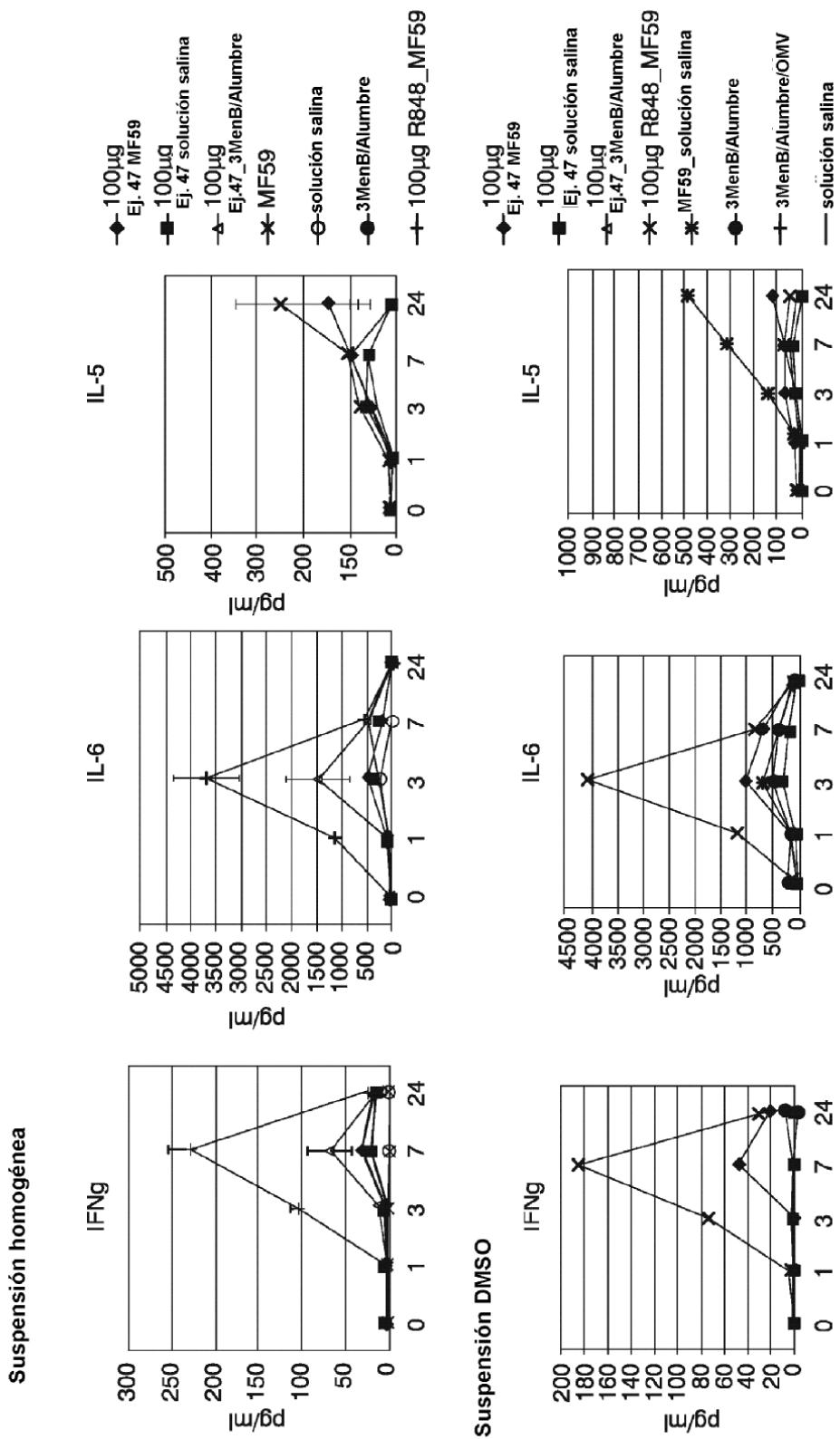
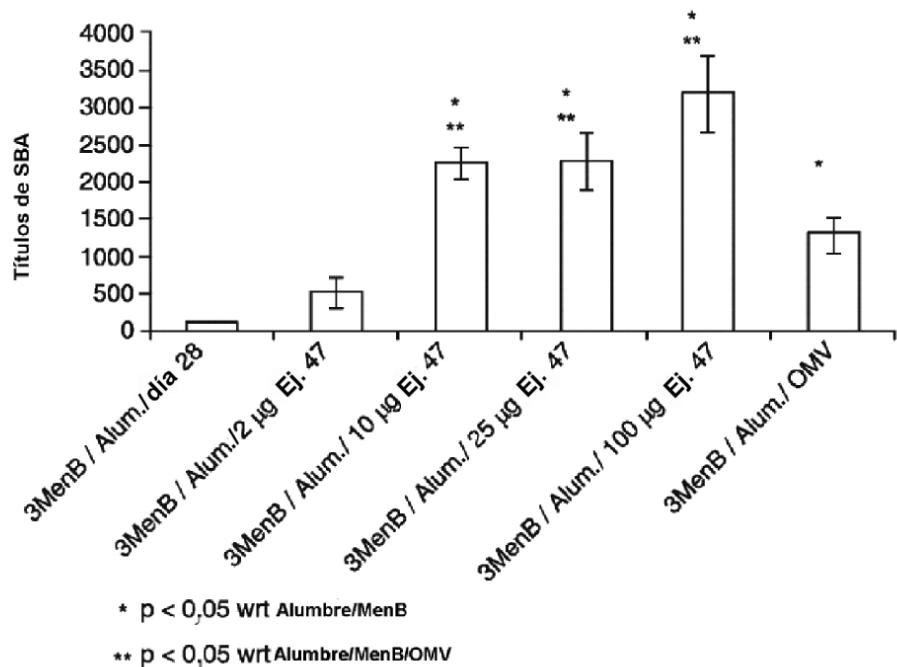
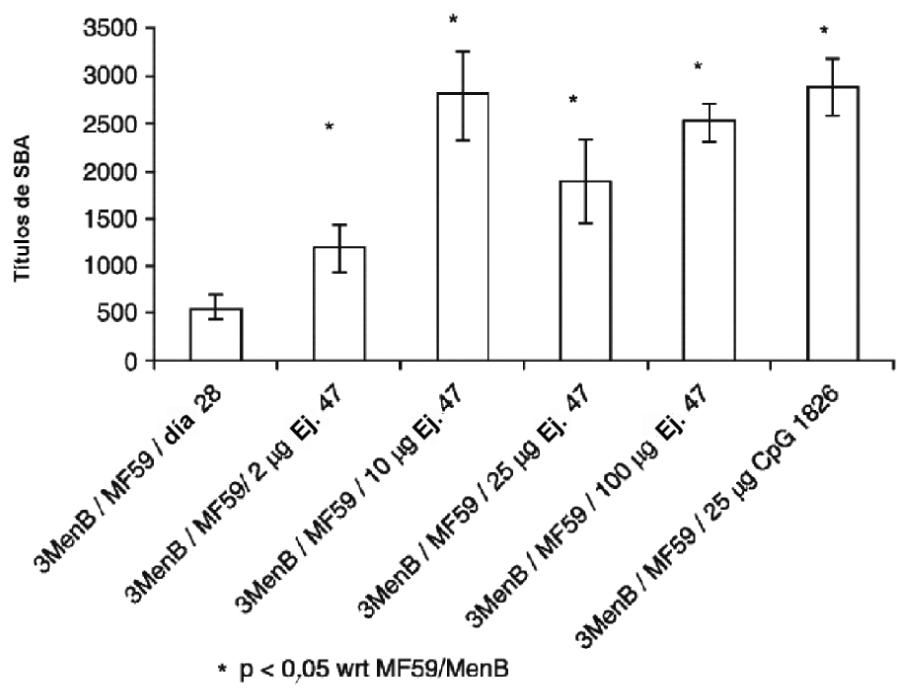
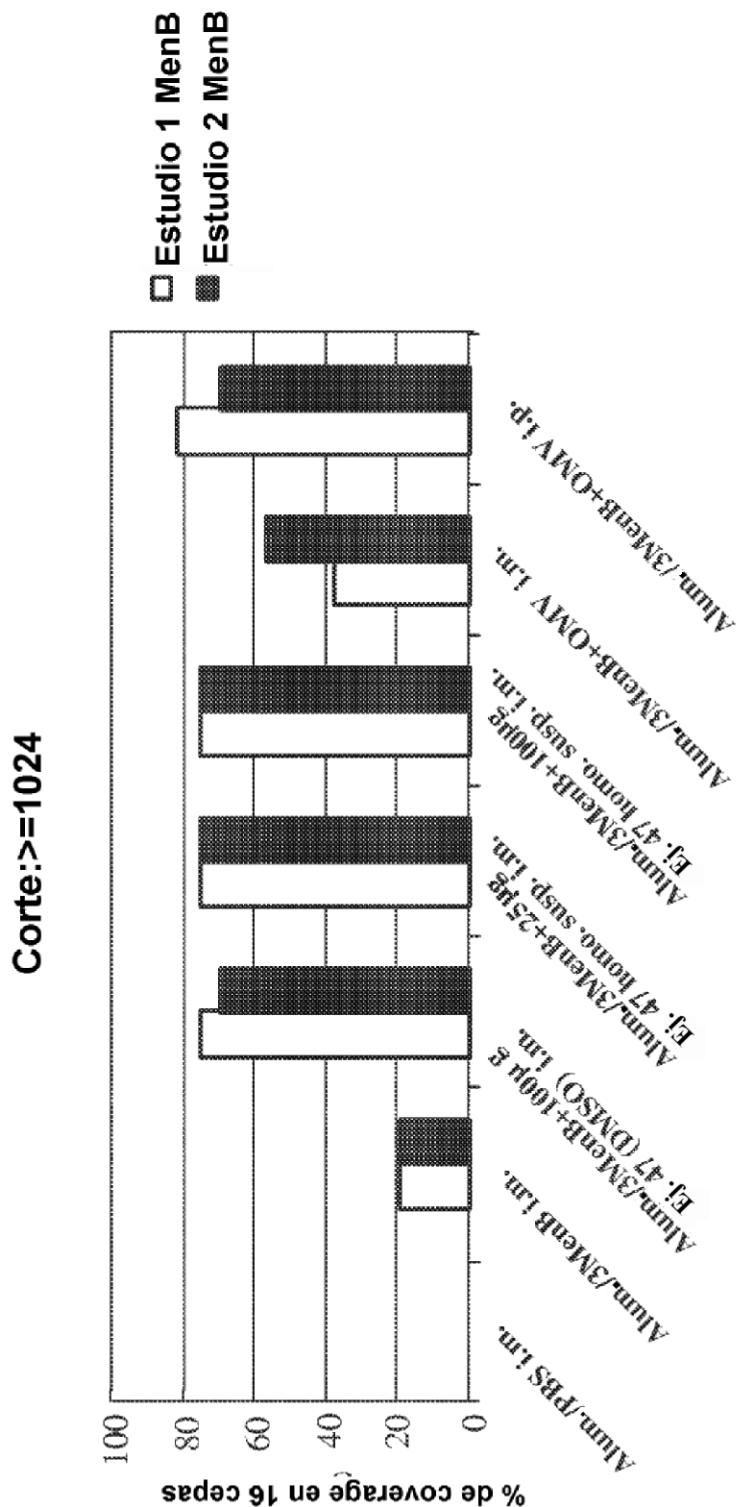


FIG. 3C

**FIG. 4**

**FIG. 5A****FIG. 5B**



6
正

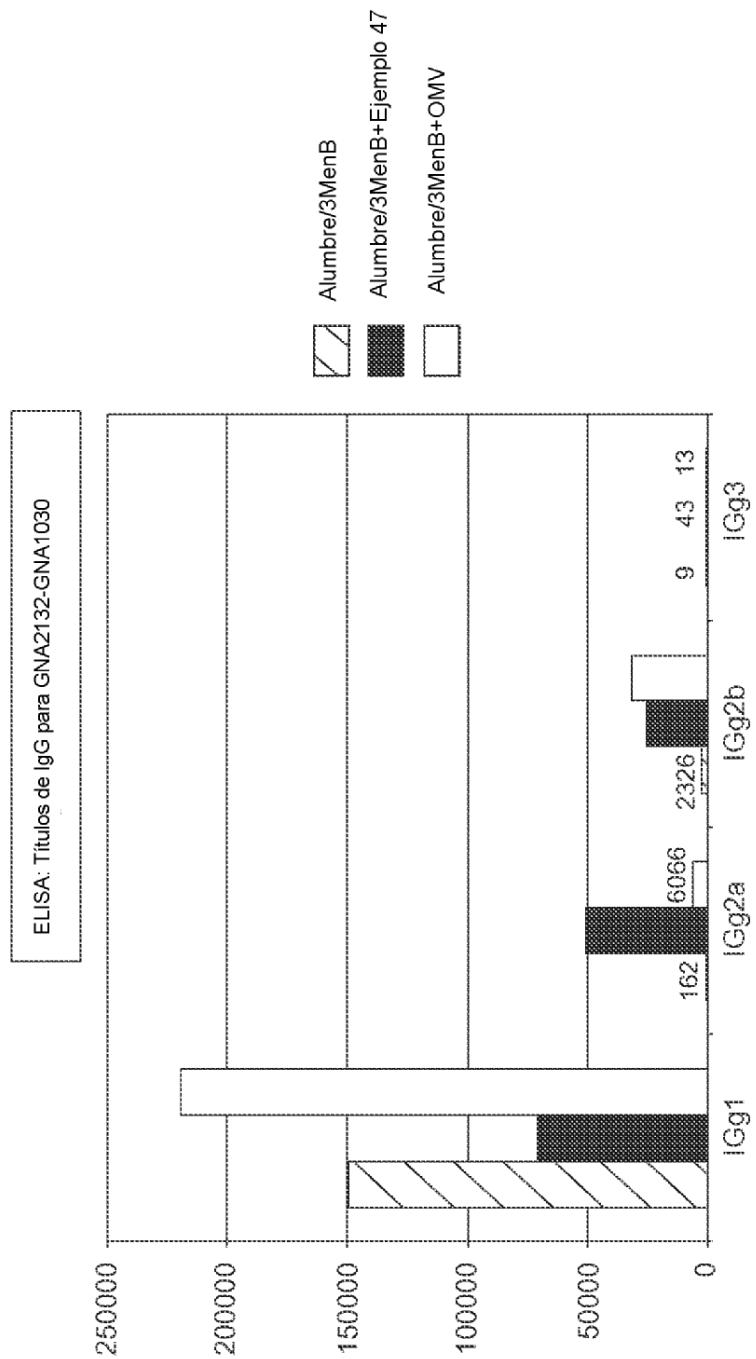


FIG. 7A

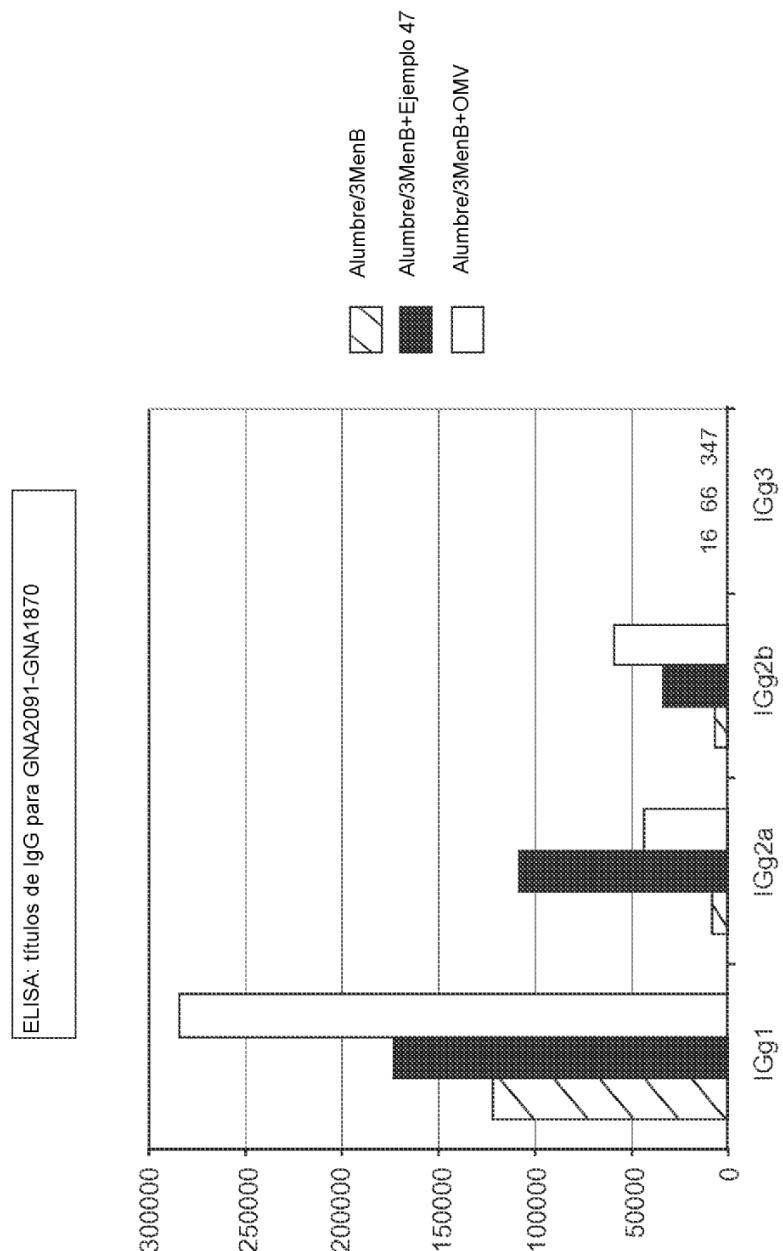


FIG. 7B

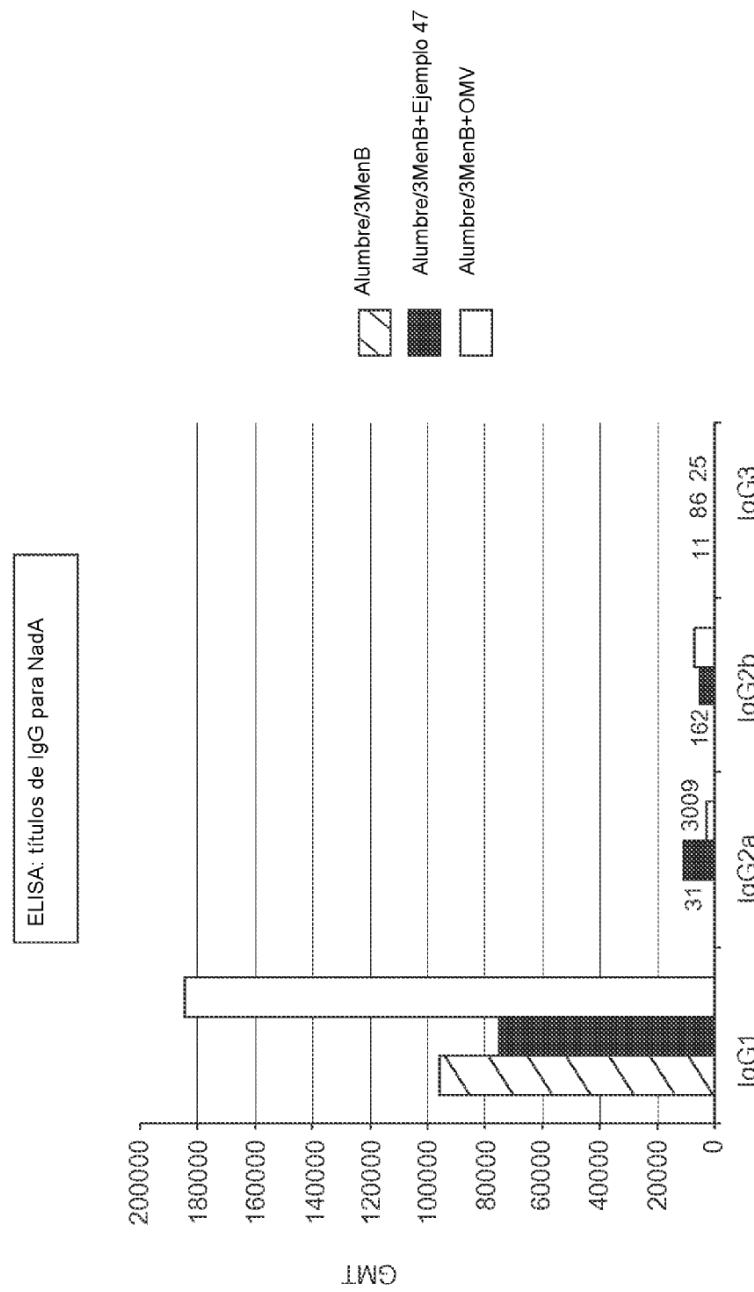


FIG. 7C

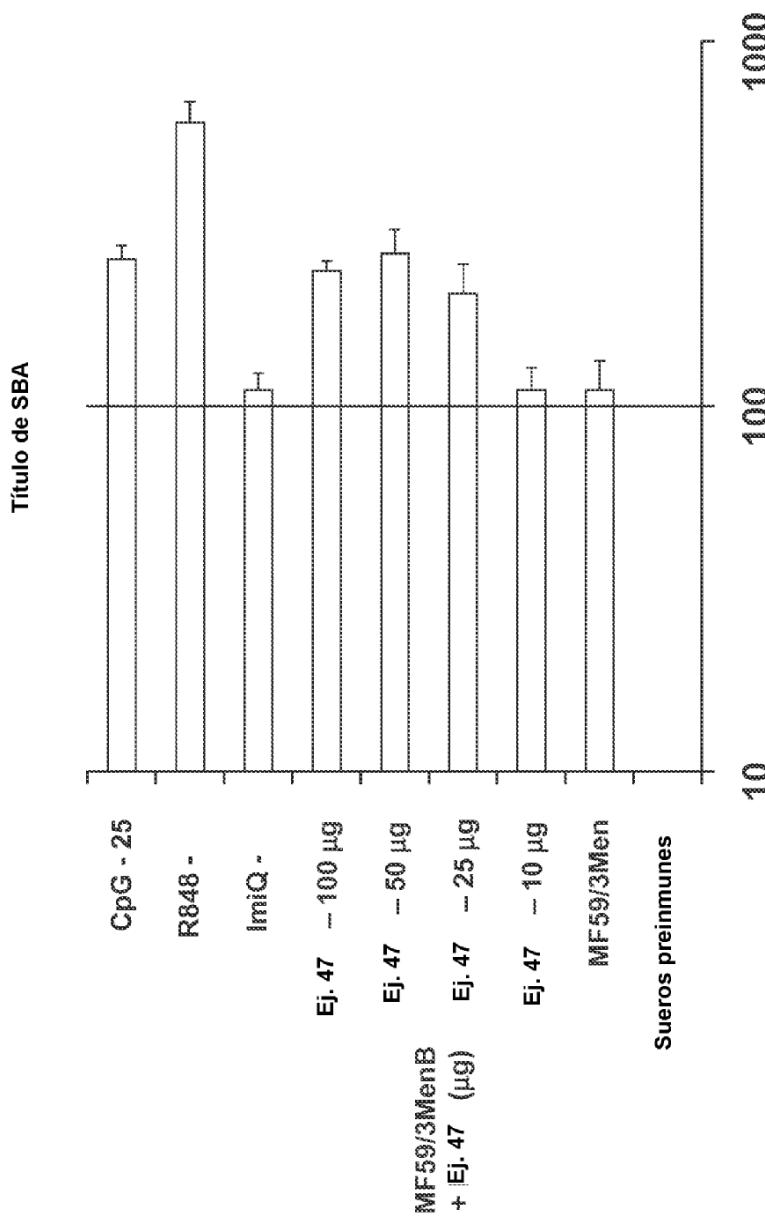
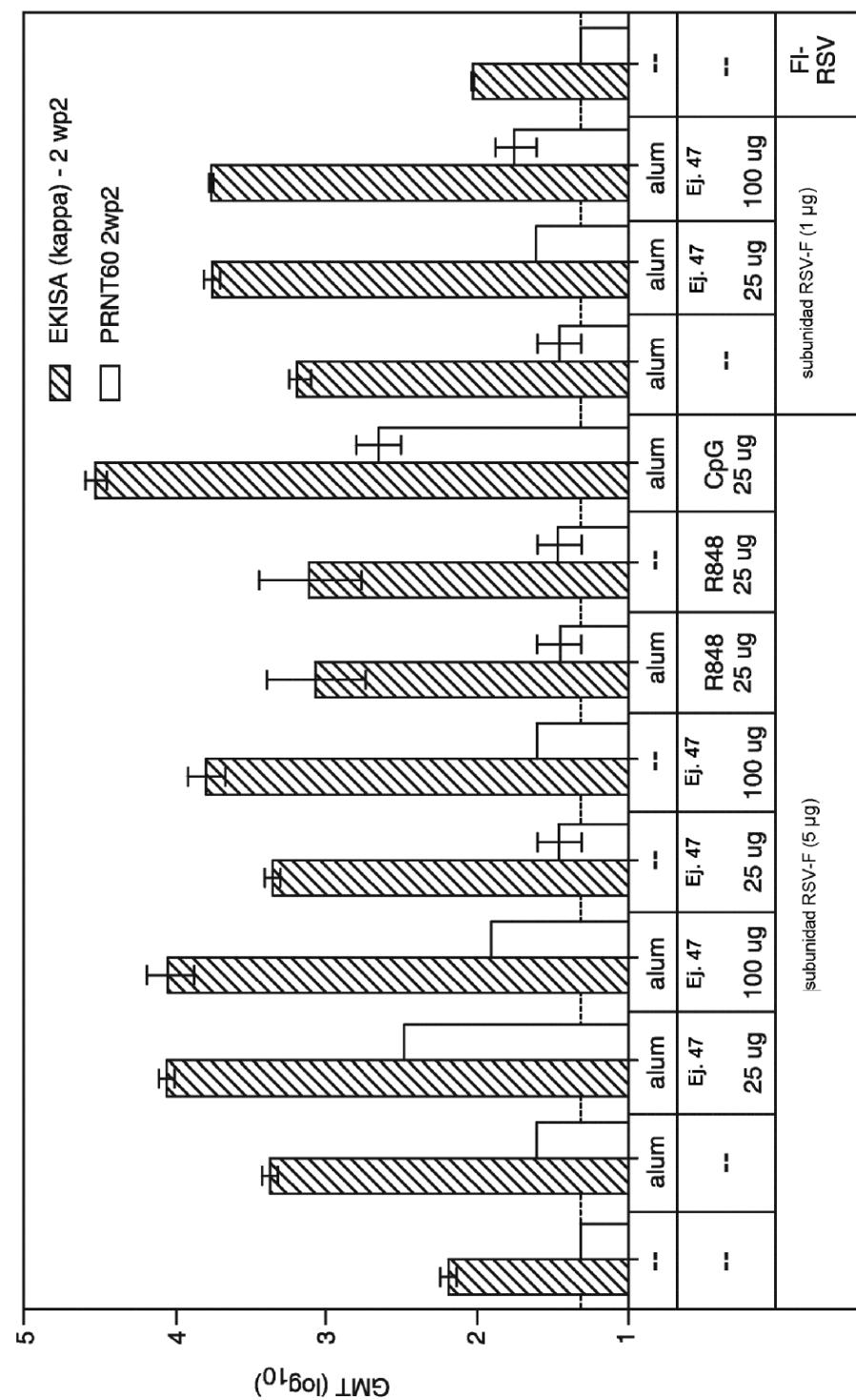
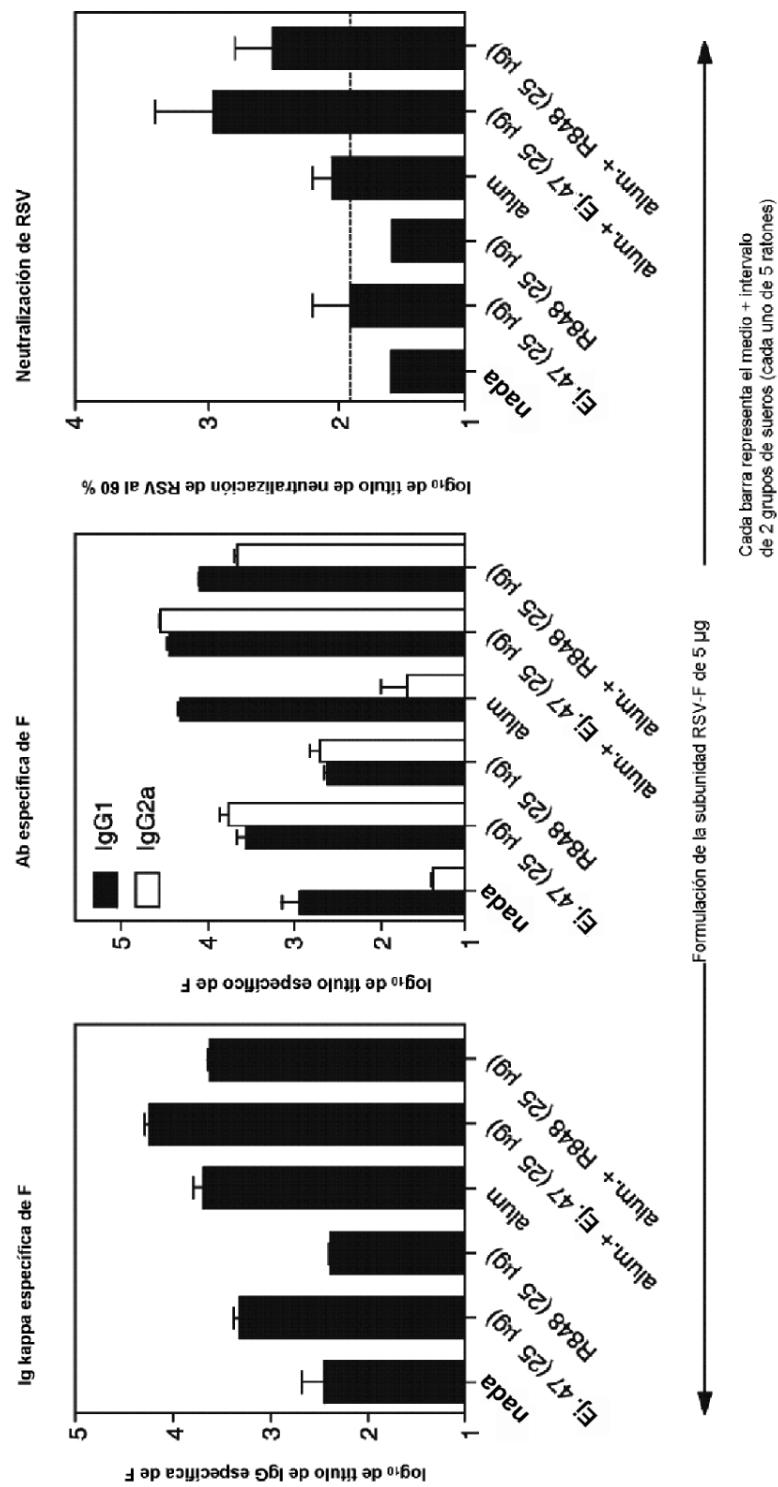


FIG. 8

**FIG. 9A**

2 semanas después de la 2^a vacunación i.m de ratones Balb/c**FIG. 9B**